



KONSTRUKSI PLASMID REKOMBINAN UNTUK PENGEDITAN GEN *StDMR6-1* PADA KENTANG KULTIVAR IPB CP3 MELALUI CRISPR/CAS9

NURSYIFA AWALIYAH



DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya Nursyifa Awaliyah menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Konstruksi Plasmid Rekombinan untuk Pengeditan Gen *StDMR6-1* pada Kentang Kultivar IPB CP3 melalui CRISPR/Cas9” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2025

Nursyifa Awaliyah
G3401211088

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Penulisan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- Penulisan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

NURSYIFA AWALIYAH. Konstruksi Plasmid Rekombinan untuk Pengeditan Gen *StDMR6-1* pada Kentang Kultivar IPB CP3 melalui CRISPR/Cas9. Dibimbing oleh MIFTAHUDIN dan ARIS TJAHOJEKSONO.

Produktivitas tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) terancam oleh berbagai penyakit akibat serangan cendawan patogen. Teknologi *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein 9* (CRISPR/Cas9) dapat menjadi solusi aman dan ramah lingkungan untuk menghasilkan tanaman yang resistan terhadap cendawan patogen. Penelitian ini bertujuan mengonstruksi plasmid rekombinan untuk mengedit gen *StDMR6-1* dalam upaya meningkatkan resistansi kentang kultivar IPB CP3 terhadap cendawan patogen melalui teknik CRISPR/Cas9. DNA dari kentang IPB CP3 diisolasi untuk memverifikasi keberadaan gen *StDMR6-1* dan digunakan sebagai acuan dalam desain sgRNA. Tiga sgRNA yang telah didesain kemudian disisipkan ke plasmid pHSE401 dan ditransformasikan ke *Escherichia coli* TOP10. Keberhasilan konstruksi plasmid rekombinan diverifikasi dengan PCR koloni dan pembacaan urutan basa (*sequencing*). Hasil *sequencing* menunjukkan bahwa dua sgRNA, yaitu pHSE401_cr1 dan pHSE401_cr3 berhasil dikonstruksi dan diintroduksi ke *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 menggunakan teknik *triparental mating* sehingga dapat menjadi perantara dalam pengeditan gen *StDMR6-1* pada tanaman kentang IPB CP3.

Kata kunci: cendawan patogen, pHSE401, resistan penyakit, sgRNA, transformasi.

ABSTRACT

NURSYIFA AWALIYAH. Construction of Recombinant Plasmid for *StDMR6-1* Gene Editing in Potato cv. IPB CP3 Using CRISPR/Cas9. Supervised by MIFTAHUDIN and ARIS TJAHOJEKSONO.

The productivity of *Solanum tuberosum* L. is significantly threatened by fungal pathogens. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein 9 (CRISPR/Cas9) offers a precise and environmentally sustainable approach for developing disease-resistant cultivars. This study aimed to construct a recombinant plasmid using CRISPR/Cas9 system to target and edit the *StDMR6-1* gene, thereby enhancing fungal disease resistance in IPB CP3 potato. Genomic DNA was isolated to confirm the presence of *StDMR6-1* and to inform the design of sequence-specific sgRNAs. These sgRNAs were inserted into the pHSE401 plasmid and transformed into *Escherichia coli* TOP10. Colony PCR and sequencing confirmed successful insertion of two sgRNAs, i.e. pHSE401_cr1 and pHSE401_cr3. The recombinant plasmids were subsequently introduced into *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 via triparental mating. These constructs serve as gene-editing delivery tools targeting *StDMR6-1* in CP3 potatoes thereby intended to enhancing its fungal disease resistance.

Keywords: disease-resistant cultivar, fungal pathogens, pHSE401, sgRNA, transformation.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025¹
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

KONSTRUKSI PLASMID REKOMBINAN UNTUK PENGEDITAN GEN *StDMR6-1* PADA KENTANG KULTIVAR IPB CP3 MELALUI CRISPR/CAS9

NURSYIFA AWALIYAH

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana pada
Program Studi Biologi

DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Penguji pada Ujian Skripsi: Dr. Ir. Achmad Farajallah M.Si.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Judul Skripsi : Konstruksi Plasmid Rekombinan untuk Pengeditan Gen *StDMR6-1*
pada Kentang Kultivar IPB CP3 melalui CRISPR/Cas9

Nama : Nursyifa Awaliyah
NIM : G3401211088

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si



Pembimbing 2:
Dr. Ir. Aris Tjahjoleksono, DEA



Diketahui oleh

Ketua Departemen Biologi:
Dr. Ir. Iman Rusmana, M.Si.
NIP. 196507201991031002



Tanggal Ujian: 8 Juli 2025

Tanggal Lulus:

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta’ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan November 2024 sampai bulan Juli 2025 ini ialah pengeditan gen, dengan judul “Konstruksi Plasmid Rekombinan untuk Pengeditan Gen *StDMR6-1* pada Kentang Kultivar IPB CP3 melalui CRISPR/Cas9”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si dan Dr. Ir. Aris Tjahjoleksono, DEA yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Dr. Dra. Yohana Caecilia Sulistyaningsih M.Si selaku pembimbing akademik, Prof. Dr. Ir. Raden Roro Dyah Perwitasari M.Sc selaku moderator seminar, dan Dr. Ir. Achmad Farajallah M.Si. selaku penguji luar komisi pembimbing. Selain itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Nam Kieu Phuong dari Swedish University of Agricultural Sciences yang telah memberi data sekuen *StDMR6-1* sehingga penelitian dapat dilaksanakan. Terima kasih juga kepada Teh Nia (Tenaga Kependidikan Laboratorium Rekayasa Sel dan Jaringan Tumbuhan, Biotech Center IPB), Teh Neneng, dan Pak Asep (Tenaga Kependidikan Laboratorium Terpadu dan Fisiologi-Genetika Tumbuhan, Departemen Biologi IPB) yang telah membantu penulis selama penelitian. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah, ibu, adik, serta teman-teman Biologi 58 yang telah memberikan dukungan dan doa kepada penulis.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2025

Nursyifa Awaliyah



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
II METODE	3
2.1 Waktu dan Tempat	3
2.2 Alat dan Bahan	3
2.3 Prosedur Kerja	3
2.4 Analisis Data	6
III HASIL DAN PEMBAHASAN	7
3.1 Isolasi DNA Kentang IPB CP3	7
3.2 Amplifikasi dan <i>Alignment</i> Gen <i>StDMR6-1</i>	7
3.3 Desain dan Sintesis Dupleks Oligonukleotida sgRNA	7
3.4 Konstruksi Vektor Plasmid Rekombinan dan Transformasi ke Sel <i>Escherichia coli</i>	9
3.5 Introduksi Plasmid Rekombinan ke <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	11
IV SIMPULAN DAN SARAN	12
4.1 Simpulan	12
4.2 Saran	12
DAFTAR PUSTAKA	13
LAMPIRAN	16
RIWAYAT HIDUP	18

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Penutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR GAMBAR

1	Visualisasi hasil amplifikasi dengan elektroforesis. M=Marker 100bp, S=Sampel.	7
2	Daerah amplifikasi dan lokasi penempelan sgRNA pada gen <i>StDMR6-1</i> kentang IPB CP3.	8
3	Peta fisik plasmid pHSE401 yang telah disederhanakan. Daerah berwarna jingga merupakan lokasi penyisipan sgRNA (dimodifikasi dari Xing <i>et al.</i> 2014).	9
4	Visualisasi hasil PCR koloni <i>E. coli</i> TOP10 pembawa plasmid rekombinan. 1=pHSE401-cr1; 2=pHSE401-cr2; 3=pHSE401-cr3; M=Marker 100 bp; K-1, K-2, K-3=pHSE401 tanpa sgRNA.	10
5	Lokasi sgRNA pada plasmid pHSE401 rekombinan	10
6	Visualisasi PCR koloni <i>A. tumefaciens</i> LBA4404 pembawa pHSE401 rekombinan. M=marker 100 bp; 1=pHSE401-cr1; 3=pHSE401-cr3.	11
7	Ilustrasi sistem CRISPR/Cas9 (Akram <i>et al.</i> 2022)	11

DAFTAR LAMPIRAN

1	Hasil <i>sequencing</i> dari gen <i>StDMR6-1</i> pada tanaman kentang IPB CP3	17
2	Hasil penyejajaran sekuen <i>StDMR6-1</i> dari kentang IPB CP3 dengan sekuen referensi dari kentang King Edward (Kieu <i>et al.</i> 2021)	17