



KERAGAMAN GENETIK KELAPA (*Cocos nucifera* L.) INDONESIA BERDASARKAN MARKA MOLEKULER *SIMPLE SEQUENCE* *REPEAT* BERBASIS *WHOLE GENOME*

ANDI NADIA NURUL LATHIFA HATTA



**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2021**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

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.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul Keragaman Genetik Kelapa (*Cocos nucifera* L.) Indonesia berdasarkan Marka Molekuler *Simple Sequence Repeat* berbasis *Whole Genome* adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi 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 tesis ini.

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

Bogor, 21 Juli 2021

Andi Nadia Nurul Lathifa Hatta
NIM A253180258



RINGKASAN

ANDI NADIA NURUL LATHIFA HATTA. Keragaman Genetik Kelapa (*Cocos nucifera* L.) Indonesia berdasarkan Marka Molekuler *Simple Sequence Repeat* berbasis *Whole Genome*. Dibimbing oleh SUDARSONO, DEWI SUKMA dan ISMAIL MASKROMO.

Kelapa (*Cocos nucifera* L.) merupakan tanaman yang penting di Indonesia karena memiliki banyak kegunaan. Tanaman kelapa tersebar luas di seluruh wilayah Indonesia sehingga menyebabkan keragaman kelapa di Indonesia sangat tinggi. Pemahaman tentang keragaman genetik pada tanaman kelapa akan membantu proses pemuliaan tanaman kelapa. Identifikasi keragaman genetik menggunakan marka molekuler memiliki ketepatan yang tinggi dibandingkan marka morfologi. Marka molekuler *Simple Sequence Repeat* (SSR) telah banyak digunakan dalam identifikasi keragaman genetik pada tanaman.

Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh persentase *coverage* genom kelapa Indonesia dengan kelapa kultivar Hainan Tall serta identifikasi lokus SSR genom kelapa Indonesia, memperoleh data *in-silico* dan identifikasi lokus SSR genom kelapa kultivar Hainan Tall, memperoleh pasangan primer SSR dan primer SSR tervalidasi berbasis genom kelapa kultivar Hainan Tall, serta mendapatkan data keragaman kelapa Indonesia yang diidentifikasi menggunakan marka SSR tervalidasi. Penelitian ini terdiri dari tiga percobaan yaitu analisis *in-silico* genom dan identifikasi lokus SSR kelapa, pengembangan marka SSR berdasarkan data *whole-genome* kelapa, dan identifikasi keragaman kelapa Indonesia menggunakan marka SSR *whole-genome* tervalidasi.

Percobaan pertama melaporkan hasil analisis *in-silico* pada dua data genom kelapa Indonesia, yaitu DMT (Dalam Mapanget) dan GKH (Genjah Kopyor Hijau). Terdapat sebanyak 5.797.081 dan 4.500.078 *scaffold* dengan ukuran *scaffold* terpanjang 100 dan 180kb masing-masing untuk kelapa DMT dan GKH. Hasil analisis genom DMT dan GKH dengan kelapa Hainan Tall memiliki persentase *coverage* masing-masing sebesar 94,47% dan 92,21%. Identifikasi lokus SSR pada genom kelapa Indonesia menunjukkan motif dinukleotida paling sering muncul, dengan motif yang paling sering muncul yaitu AG, disusul AT, AC dan CG.

Percobaan kedua menunjukkan 9.521.002 lokus SSR teridentifikasi dari panjang total genom kelapa Hainan Tall yaitu 2.202.455.121bp. Lokus dengan motif dinukleotida hingga heksanukleotida diidentifikasi. Motif dinukleotida yang paling sering muncul yaitu AG, AT, AC dan CG. 906 pasang primer SSR berhasil didesain dari 16 kromosom kelapa Hainan Tall. 20 pasang primer dilakukan amplifikasi pada sampel kelapa Indonesia. 18 primer dapat mengamplifikasi, sedangkan 2 pasang primer tidak dapat mengamplifikasi.

Percobaan ketiga menunjukkan keragaman genetik 25 aksesori kelapa Indonesia koleksi BALITPALMA pada 15 lokus SSR polimorfik. Pohon filogenetik yang dihasilkan dari metode *neighbour joining* membagi 25 aksesori kelapa Indonesia dalam 3 kelompok besar. Kelompok pertama didominasi aksesori tipe Hibrida, kelompok kedua didominasi aksesori tipe Genjah dan Hibrida, serta kelompok ketiga didominasi aksesori tipe Dalam.

Kata Kunci: kelapa Indonesia, data genom, SSR, keragaman genetik



SUMMARY

ANDI NADIA NURUL LATHIFA HATTA. Genetic Diversity of Indonesian Coconut (*Cocos nucifera* L.) by Whole Genome based Simple Sequence Repeat Molecular Markers. Supervised by SUDARSONO, DEWI SUKMA and ISMAIL MASKROMO.

Coconut (*Cocos nucifera* L.) is an important plant in Indonesia because it has many uses. Coconut plantation are widespread throughout Indonesia that causing high diversity of coconuts in Indonesia. Understanding of the genetic diversity in coconut plants will help coconut breeding process. Identification of genetic diversity using molecular markers has higher accuracy than morphological markers. Simple Sequence Repeat (SSR) molecular markers have been widely used in the identification of genetic diversity in plants.

The purpose of this study was to obtain the percentage coverage of the Indonesian coconut genome with the Hainan Tall coconut cultivar and to identify the SSR locus of the Indonesian coconut genome, to obtain in-silico data and to identify the SSR locus of coconut genome cultivar Hainan Tall, to obtain validated SSR primers and SSR primers based on the coconut genome cultivar Hainan Tall, and to obtaining data on the diversity of Indonesian coconuts identified using validated SSR markers. This study consisted of three experiments, namely in-silico genome analysis and identification of coconut SSR loci, development of SSR markers based on coconut whole-genome data, and identification of diversity of Indonesian coconuts using validated whole-genome SSR markers.

The first experiment reported the results of in-silico analysis on two Indonesian coconut genome data, DMT (Dalam Mapanget) and GKH (Quickly Kopyor Hijau). There are 5,797,081 and 4,500,078 scaffolds with the longest scaffold sizes of 100 and 180kb for DMT and GKH coconut, respectively. Coverage percentage of DMT and GKH to Hainan tall was 94,47% and 92,21%, respectively. The identification of SSR loci in the Indonesian coconut genome shows that dinucleotide motifs appear most frequently, with the most common motives was AG, followed by AT, AC and CG.

The second experiment showed 9,521,002 SSR loci identified from 2,202,455,121bp total length of the Hainan Tall coconut genome. Loci with dinucleotide motive until hexanucleotide was identified. The most common dinucleotide motives are AG, AT, AC and CG. 906 pairs of SSR primers were successfully designed from 16 chromosomes of Hainan Tall coconut. 20 pairs of primers were amplified on Indonesian coconut samples. 18 primers can amplify, whereas 2 pairs of primers cannot amplify.

The third experiment showed the genetic diversity of 25 Indonesian coconut accessions in the BALITPALMA collection at 15 polymorphic SSR loci. The phylogenetic trees produced by the neighboring joining method divided the 25 Indonesian coconut accessions into 3 large groups. The first group is dominated by Hybrid type accessions, the second group is dominated by Dwarf and Hybrid type accessions, and the third group is dominated by Tall accessions.

Keywords: Indonesian coconut, genome data, SSR, genetic diversity



© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2021 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



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

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



IPB University
— Bogor Indonesia —

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.



**KERAGAMAN GENETIK KELAPA (*Cocos nucifera* L.) INDONESIA
BERDASARKAN MARKA MOLEKULER *SIMPLE SEQUENCE*
REPEAT BERBASIS *WHOLE GENOME***

ANDI NADIA NURUL LATHIFA HATTA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains
pada
Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman

**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2021**

- 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 mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

- 1 Dr. Ir. Diny Dinarti, M.Si.
- 2 Dr. Ir. Yudiwanti Wahyu EK, M.S.



IPB University
— Bogor Indonesia —

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.



Judul Tesis : Keragaman Genetik Kelapa (*Cocos nucifera* L.) Indonesia berdasarkan Marka Molekuler *Simple Sequence Repeat* berbasis *Whole Genome*

Nama NIM : Andi Nadia Nurul Lathifa Hatta
: A253180258

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, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan 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.

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Sudarsono, M.Sc.



Pembimbing 2:
Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si.



Pembimbing 3:
Dr. Ir. Ismail Maskromo, M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Dr. Ir. Yudiwanti Wahyu EK, M.S.
NIP. 19631107 198811 2 001



Dekan Sekolah Pascasarjana:
Prof. Dr. Ir. Anas Miftah Fauzi, M.Eng.
NIP. 19600419 198503 1 002



Tanggal Ujian: 22 Juni 2021

Tanggal Lulus:

16 JUL 2021



PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah yang berjudul “Keragaman Genetik Kelapa (*Cocos nucifera* L.) Indonesia berdasarkan Marka Molekuler *Simple Sequence Repeat* berbasis *Whole Genome*” yang disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan S2 dan memperoleh gelar Magister Sains dari Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

Dalam menyelesaikan tesis ini, penulis banyak memperoleh bantuan baik berupa pengajaran, bimbingan dan arahan dari berbagai pihak. Oleh karena itu Penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada yang terhormat Prof. Dr. Ir. Sudarsono, M.Sc. selaku ketua komisi pembimbing, Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si. dan Dr. Ir. Ismail Maskromo, M.Si. selaku anggota komisi pembimbing dimana di tengah-tengah kesibukannya masih tetap meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, petunjuk, dan mendorong semangat penulis untuk menyelesaikan penulisan tesis ini.

Perkenankanlah juga, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian studi ini, kepada:

1. Dr. Ir. Diny Dinarti, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran sehingga penulisan tesis ini menjadi lebih baik.
2. Dr. Ir. Yudiwanti Wahyu EK, M.S. selaku Ketua Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman dan dosen penguji yang telah memberikan motivasi, masukan, arahan dan saran dalam perbaikan tesis.
3. Ayah dan Ibu tercinta, Andi Muhammad Hatta Tajang, S.P., M.M. dan Andi Nurul Uneng, S.P. yang telah membesarkan dan mendidik dengan penuh rasa kasih sayang serta adik Andi Nadhila Nurul Farzana Hatta dan Andi Muhammad Naufal Basolipu Hatta yang senantiasa memberikan doa, semangat dan dukungan kepada penulis.
4. Zulfikar Damaralam Sahid, S.P., M.Si. yang setia mendampingi dan mendukung semangat penulis selama dimulai penelitian hingga akhir menyelesaikan studi.
5. Keluarga besar Lab PMB: Ibu Maera, Mas Zikril, Kak Syamsi, Kak Freta, Kak Adis, Kak Annisa Rahmawati, Ibu Susi atas *sharing* ilmu dan informasi, serta bantuan tenaga dalam pelaksanaan penelitian.
6. Bapak Agus atas semua bantuannya selama isolasi DNA dan Mas Royan atas bantuannya memberi informasi aksesori kelapa Balitpalma.

Kritik dan saran selalu diterima oleh penulis untuk perbaikan penulisan dimasa depan. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

Bogor, 21 Juli 2021

Andi Nadia Nurul Lathifa Hatta

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----------|
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Tujuan Penelitian | 2 |
| 1.3 Hipotesis Penelitian | 2 |
| 1.4 Ruang Lingkup Penelitian | 2 |
| II TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1 Kelapa (<i>Cocos nucifera</i> L.) | 4 |
| 2.2 Jenis Kelapa Indonesia | 4 |
| 2.3 Marka Molekuler | 5 |
| 2.4 <i>Simple Sequence Repeat</i> (SSR) | 6 |
| III ANALISIS <i>IN-SILICO</i> GENOM DAN IDENTIFIKASI LOKUS SSR KELAPA (<i>Cocos nucifera</i> L.) | 7 |
| Abstak | 7 |
| <i>Abstract</i> | 7 |
| 3.1 Pendahuluan | 8 |
| 3.2 Metodologi Penelitian | 8 |
| 3.3 Hasil dan Pembahasan | 10 |
| 3.4 Simpulan | 14 |
| IV PENGEMBANGAN MARKA SSR BERDASARKAN DATA <i>WHOLE GENOME</i> KELAPA (<i>Cocos nucifera</i> L.) | 15 |
| Abstak | 15 |
| <i>Abstract</i> | 15 |
| 4.1 Pendahuluan | 16 |
| 4.2 Metodologi Penelitian | 17 |
| 4.3 Hasil dan Pembahasan | 19 |
| 4.4 Simpulan | 26 |
| V IDENTIFIKASI KERAGAMAN KELAPA INDONESIA MENGUNAKAN MARKA SSR <i>WHOLE-GENOME</i> TERVALIDASI | 27 |
| Abstak | 27 |
| <i>Abstract</i> | 27 |
| 5.1 Pendahuluan | 28 |
| 5.2 Metodologi Penelitian | 28 |
| 5.3 Hasil dan Pembahasan | 31 |
| 5.4 Simpulan | 34 |
| VI PEMBAHASAN UMUM | 35 |
| VII SIMPULAN UMUM DAN SARAN | 38 |



DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

RIWAYAT HIDUP

@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.

DAFTAR TABEL

| | | |
|---|---|----|
| 1 | Hasil <i>Next Generation Sequencing</i> (NGS) dan de novo assembly dari sekuen <i>whole-genome</i> kelapa DMT | 10 |
| 2 | Persentase <i>coverage</i> genom DMT dan GKH terhadap genom Hainan Tall | 11 |
| 3 | Distribusi dari lokus SSR kelas I pada sekuen genom kelapa DMT | 12 |
| 4 | Frekuensi motif dinukleotida dan trinukleotida dalam sekuen genom kelapa DMT | 12 |
| 5 | Daftar pasangan primer SSR dari genom kelapa DMT | 13 |
| 6 | Lokus SSR teridentifikasi pada 16 kromosom kelapa Hainan Tall | 19 |
| 7 | Pengulangan motif dinukleotida dari 16 kromosom kelapa Hainan Tall beserta pasangan primer yang terbentuk | 20 |
| 8 | 20 pasang SSR primer untuk validasi | 22 |
| 9 | 18 pasang SSR primer tervalidasi | 30 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|----|--|----|
| 1 | Diagram alur penelitian | 3 |
| 2 | Panjang <i>Scaffold</i> kelapa dalam (DMT) dan kelapa genjah (GKH) | 10 |
| 3 | Persentase tipe motif dinukleotida pada 16 kromosom kelapa Hainan Tall | 21 |
| 4 | Visualisasi produk amplifikasi menggunakan agarose 1% (A) pita tunggal, (B) pita rangkap, (C) negatif produk amplifikasi | 23 |
| 5 | <i>Linkage map</i> 876 lokus primer SSR pada 16 kromosom kelapa | 24 |
| 6 | <i>Linkage map</i> 20 lokus primer SSR pada kromosom asalnya | 25 |
| 7 | Profil marka SSR alel homozigot dan heterozigot pada lokus Chr8(2) | 32 |
| 8 | Profil marka SSR dengan 2 alel pada lokus Chr13 | 32 |
| 9 | Profil marka SSR dengan 3 alel pada lokus Chr8(1) | 32 |
| 10 | Pohon filogenetik 25 populasi kelapa Indonesia berdasarkan 17 marka mikrosatelit menggunakan analisis <i>neighbour joining</i> | 33 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|---|---|----|
| 1 | Prosedur pembuatan larutan stok | 45 |
| 2 | Prosedur <i>running plate</i> SSR | 47 |
| 3 | Daftar primer SSR pada 16 kromosom kelapa | 49 |
| 4 | Profil 17 marka SSR pada 25 aksesori kelapa Indonesia | 64 |



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

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