



KARAKTERISASI WARNA BUNGA, PROFIL METABOLIT DAN EKSPRESI GEN TERKAIT FLAVONOID PADA BUNGA MARIGOLD SUDAMALA BARAK (*Tagetes patula*)

SHANIA NUR FAJRINA



**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@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.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Karakterisasi Warna Bunga, Profil Metabolit dan Ekspresi Gen terkait Flavonoid pada Bunga Marigold Sudamala Barak (*Tagetes patula*)” 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 tesis ini.

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

Bogor, Juni 2024

Shania Nur Fajrina
A2503222016

- 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 :
 - 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.

RINGKASAN

SHANIA NUR FAJRINA. Karakterisasi Warna Bunga, Profil Metabolit dan Ekspresi Gen terkait Flavonoid pada Bunga Marigold Sudamala Barak (*Tagetes patula*). Dibimbing oleh DEWI SUKMA, SYARIFAH IIS AISYAH, dan DEDEN DERAJAT MATRA.

Marigold (*Tagetes* spp.) merupakan tanaman florikultura yang termasuk ke dalam famili *Asteraceae* dan banyak dibudidayakan di Indonesia khususnya provinsi Bali karena digunakan sebagai salah satu properti dalam upacara keagamaan. Bunga marigold memiliki variasi warna terbatas yaitu kuning, oranye dan merah, sedangkan warna bunga merupakan ciri penting yang menentukan nilai komersial tanaman florikultura. Oleh karena itu, diperlukan perakitan varietas marigold untuk meningkatkan variasi warna bunga. Teknik pemuliaan seperti hibridisasi dan mutasi memiliki kelemahan yakni bersifat acak, sehingga belum dapat diciptakan variasi warna bunga yang spesifik. Kendala tersebut dapat diatasi dengan teknik pemuliaan berbasis bioteknologi seperti rekayasa genetik yang memerlukan informasi terkait kandungan biokimia dan juga pola ekspresi gen pada jalur biosintesis pigmen yang dikehendaki.

Marigold Sudamala Barak (*T. patula*) memiliki perubahan warna merah pada bunga yang unik dari fase perkembangan awal hingga akhir, dan diduga berasal dari pigmen karotenoid, flavonoid dan antosianin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan warna bunga, identifikasi profil metabolit dan pola ekspresi gen terkait jalur biosintesis flavonoid pada empat stadia perkembangan bunga. Materi genetik yang digunakan pada penelitian ini adalah bunga marigold Sudamala Barak dengan empat stadia perkembangan bunga yakni kuncup tertutup (stadia 1), kuncup semi-terbuka (stadia 2), bunga terbuka (stadia 3), dan bunga mekar sempurna (stadia 4). Marigold Sudamala Barak diperbanyak secara klonal dengan stek dan ditanam di Kebun Percobaan Pasir Sarongge, Cianjur, Jawa Barat dengan ketinggian 1100 mdpl. Pada analisis metabolomik, sampel diekstraksi dan dimaserasi dengan metanol 70% yang mengandung HCl 0,1% dan data yang diperoleh dianalisis menggunakan perangkat lunak Metaboanalyst. Pada analisis ekspresi gen, dilakukan ekstraksi RNA dan sintesis cDNA, kemudian data yang diperoleh diolah menggunakan metode Livak dan Schmittgen.

Dari penelitian ini, bunga marigold Sudamala Barak mengalami perubahan warna dari *moderate reddish brown* pada stadia 1 hingga *strong orange* pada stadia 4. Sebanyak 58 senyawa telah diidentifikasi selama empat stadia perkembangan, dengan 32 senyawa terdapat pada semua stadia. Golongan senyawa utama meliputi asam amino, fenol, flavonoid, dan terpenoid, di mana flavonoid terutama flavonol seperti patuletin, isorhamnetin, dan lainnya, diduga berkontribusi pada pembentukan warna kuning pada bunga. Analisis ekspresi gen menunjukkan bahwa gen-gen biosintesis awal (CHS, CHI, F3H) dan gen-gen biosintesis akhir (F3'H, DFR, ANS, UFGT, OMT) berperan dalam pembentukan pigmen, dengan ekspresi tertinggi terjadi pada stadia yang berbeda telah terkonfirmasi bahwa warna merah pada bunga disebabkan oleh antosianin.

Kata kunci: analisis kuantitatif PCR, analisis LCMS tidak tertarget, ekspresi gen, flavonoid, metabolit sekunder



SUMMARY

SHANIA NUR FAJRINA. Flower Color Characterization, Metabolite Profiling and Flavonoid-Related Gene Expression in Sudamala Barak Marigold Flowers (*Tagetes patula*). Supervised by DEWI SUKMA, SYARIFAH IIS AISYAH, and DEDEN DERAJAT MATRA.

Marigold (*Tagetes* spp.) is a floricultural plant belonging to the Asteraceae family and is extensively cultivated in Indonesia, particularly in the province of Bali, where it is used as a prop in religious ceremonies. Marigold flowers exhibit limited color variations including yellow, orange, and red, with flower color being a critical characteristic that determines the commercial value of floricultural plants. Therefore, there is a need to develop marigold varieties to enhance flower color variation. Traditional breeding techniques such as hybridization and mutation have limitations due to their random nature, which hinders the creation of specific flower color variations. These challenges can be addressed through biotechnology-based breeding techniques such as genetic engineering, which require information on biochemical contents and gene expression patterns in desired pigment biosynthesis pathways.

Sudamala Barak Marigold (*T. patula*) exhibits a unique red color change in its flowers from early to late developmental stages, likely originating from carotenoid, flavonoid, and anthocyanin pigments. This research aims to investigate flower color changes, identify metabolite profiles, and analyze gene expression patterns related to the flavonoid biosynthesis pathway across four stages of flower development. The genetic material used in this study includes Sudamala Barak marigold flowers at four developmental stages: closed buds (stage 1), semi-open buds (stage 2), open flowers (stage 3), and fully open flowers (stage 4). Sudamala Barak marigolds were clonally propagated using cuttings and grown at the Pasir Sarongge Experimental Garden, Cianjur, West Java, at an altitude of 1100 meters above sea level (masl). In metabolomic analysis, samples were extracted and metabolized with 70% methanol containing 0.1% HCl, and the data obtained were analyzed using MetaboAnalyst software. For gene expression analysis, RNA extraction and cDNA synthesis were performed, and the data were processed using Livak and Schmittgen methods.

From this research, Sudamala Barak marigold flowers experienced a color change from moderate reddish brown at stage 1 to strong orange at stage 4. A total of 58 compounds have been identified during four stages of development, with 32 compounds present in all stages. The main compound groups include amino acids, phenols, flavonoids and terpenoids, where flavonoids, especially flavonols such as patuletin, isorhamnetin, and others, are thought to contribute to the formation of yellow color in flowers. Gene expression analysis shows that early biosynthesis genes (CHS, CHI, F3H) and late biosynthesis genes (F3'H, DFR, ANS, UFGT, OMT) play a role in pigment formation, with the highest expression occurring at different stages. It was confirmed that the red color of the flowers was caused by anthocyanins.

Keywords: gene expression, flavonoid, non-targeted LCMS analysis, quantitative PCR analysis, secondary metabolites



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 2024 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

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.

KARAKTERISASI WARNA BUNGA, PROFIL METABOLIT DAN EKSPRESI GEN TERKAIT FLAVONOID PADA BUNGA MARIGOLD SUDAMALA BARAK (*Tagetes patula*)

SHANIA NUR FAJRINA

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

**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

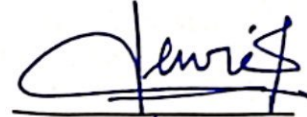
Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

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.

Judul Tesis : Karakterisasi Warna Bunga, Profil Metabolit dan Ekspresi Gen terkait Flavonoid pada Bunga Marigold Sudamala Barak (*Tagetes patula*)
Nama : Shania Nur Fajrina
NIM : A2503222016

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si.



Pembimbing 2:
Dr. Ir. Syarifah Iis Aisyah, M.Sc.Agr.

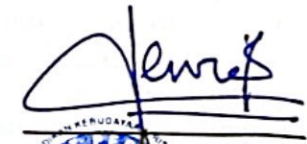


Pembimbing 3:
Dr. Deden Derajat Matra, S.P., M.Agr.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si.
NIP 197004041997022001



Dekan Fakultas Pertanian:
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr.
NIP 196902121992031003



Tanggal Ujian:
25 Juni 2024

Tanggal Lulus: 22 JUL 2024



@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.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis ucapkan 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 Februari 2023 sampai bulan Desember 2023 ini berjudul “Karakterisasi Warna Bunga, Profil Metabolit dan Ekspresi Gen terkait Flavonoid pada Bunga Marigold Sudamala Barak (*Tagetes patula*). Penelitian ini telah diselesaikan dengan baik sebagai syarat menyelesaikan pendidikan Magister Sains di Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

Terima kasih penulis ucapkan kepada komisi pembimbing, Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si., Dr. Ir. Syarifah Iis Aisyah, M.Sc.Agr. dan Dr. Deden Derajat Matra, S.P., M.Agr. yang telah banyak membimbing dan memberi saran. Di samping itu, rasa syukur dan terima kasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang memberikan hibah Penelitian Tesis Megister 2023 dengan Surat Keputusan nomor 22162/IT3.D10/PT/01.01/M/B/2023 dan Kontrak Induk nomor 102/E5/PG.02.00.PL/2023 serta Kontrak Turunan nomor 18889/IT3.D10/PT.01.02/M/T/2023 untuk mendanai sebagian besar dari penelitian.
2. Anggota tim pemuliaan marigold terutama kepada Prof. Dr. Muhamad Syukur, S.P., M.Si., Dr. I Putu Wahyu Sanjaya, S.P., M.Si, Ade Buchori, S.P., M.Si., Arya Yuda Pangestu, S.P., dan Destina Triwardani Utami, S.P.
3. Staf dan teknisi di Kebun Percobaan Pasir Sarongge Cianjur dan Kebun Percobaan Leuwikopo yakni Pak Andri dan Pak Eddyanto, serta teknisi laboratorium riset unggulan yakni Pak Bambang dan Kak Nadya, teknisi di laboratorium biorin yakni Bu Pepi, serta teknisi di laboratorium AGH yakni Bu Juju, Bu Susi dan Pak Joko.
4. Keluarga tercinta, Papa, Mama dan Abang yang telah memberikan dukungan moril dan materil, doa, serta kasih sayang yang tiada hentinya.
5. Rekan-rekan seperjuangan yang telah banyak memberikan waktu dan dukungan yakni Hani Aulia Salve Hairi, Ikhsan Rakhmat Harahap, Sachio, Kak Krismandya Ayunda, Kak Nadya Urmila.
6. Sahabat-sahabat sejak masa sekolah yang banyak memberikan dukungan moril, yakni Farradina Putri Ardanti, Witri Nur Anisa, Carenina T, Amelia Nabila, Fanny Mahmudah, Dinda Aprila, Dewi Rahmi, Farrel Alfaiz dan Uswatun Khasanah.

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

Bogor, Juni 2024

Shania Nur Fajrina



@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.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Ruang Lingkup	3
1.6 Hipotesis	4
II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Deskripsi Tanaman Marigold (<i>Tagetes spp.</i>)	5
2.2 Pemuliaan Marigold	8
2.3 Metabolomik	10
2.4 Ekspresi Gen	11
III KARAKTERISASI WARNA PETAL BUNGA	13
3.1 Abstrak	13
3.2 Pendahuluan	13
3.3 Tujuan Penelitian	14
3.4 Hipotesis	14
3.5 Metode Penelitian	15
3.6 Hasil dan Pembahasan	15
3.7 Simpulan	18
IV PROFIL METABOLIT SEKUNDER PADA EMPAT STADIA PEMBUNGAAN MARIGOLD SUDAMALA BARAK	19
4.1 Abstrak	19
4.2 Pendahuluan	20
4.3 Tujuan Penelitian	21
4.4 Hipotesis	21
4.5 Metode Penelitian	21
4.6 Hasil dan Pembahasan	22
4.7 Simpulan	29
V ANALISIS EKSPRESI DELAPAN GEN PADA JALUR BIOSINTESIS FLAVONOID DAN ANTOSIANIN	30
5.1 Abstrak	30
5.2 Pendahuluan	31
5.3 Tujuan Penelitian	32
5.4 Hipotesis	32
5.5 Metode Penelitian	33
5.6 Hasil dan Pembahasan	36
5.7 Simpulan	46
VI PEMBAHASAN UMUM	47
VII SIMPULAN DAN SARAN	50



7.1	Simpulan	50
7.2	Saran	50
	DAFTAR PUSTAKA	51
	RIWAYAT HIDUP	60

@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.

DAFTAR TABEL

1	Warna kelopak bunga marigold Sudamala Barak berdasarkan kode <i>RHS Color Chart</i>	16
2	Susunan basa hasil desain primer untuk identifikasi gen pada lintasan biosintesis flavonoid dan antosianin	36
3	Rekap suhu optimum <i>annealing</i> pada tiap primer	40
4	Kuantifikasi dan kualitas total RNA 12 sampel marigold Sudamala Barak	42

DAFTAR GAMBAR

5	Diagram alir penelitian	4
6	Keragaan tanaman (A) dan bunga marigold Sudamala Barak (<i>Tagetes patula</i>) (B)	5
7	Variasi warna bunga marigold hasil hibridisasi	8
8	Empat stadia perkembangan bunga marigold Sudamala Barak (<i>Tagetes patula</i>)	17
9	Warna petal marigold Sudamala Barak berdasarkan <i>RHS Colour Chart</i>	18
10	Jumlah senyawa yang terdeteksi pada empat stadia perkembangan bunga marigold Sudamala Barak (<i>Tagetes patula</i>)	23
11	Distribusi senyawa metabolit pada empat stadia menggunakan plot PCA	24
12	Nilai VIP senyawa metabolit pada keempat stadia perkembangan bunga marigold Sudamala Barak (<i>Tagetes patula</i>)	25
13	<i>Heatmap</i> persebaran metabolit pada empat stadia perkembangan bunga marigold Sudamala Barak	28
14	Jalur biosintesis flavonoid dan antosianin	32
15	Elektroforegram optimasi suhu <i>annealing</i> primer CHS, F3H, DFR, CHI dan UFGT pada suhu 57-59 °C	37
16	Elektroforegram optimasi suhu <i>annealing</i> primer UFGT, OMT dan 18s pada suhu 57-59 °C	38
17	Elektroforegram optimasi suhu <i>annealing</i> primer DFR, F3'H, ANS, CHI dan UFGT pada suhu 51-53 °C	38
18	Elektroforegram optimasi suhu <i>annealing</i> primer OMT dan 18s pada suhu 51-53 °C	39
19	Elektroforegram optimasi suhu <i>annealing</i> primer DFR, CHI, OMT dan 18s pada suhu 54-56 °C.	39
20	Elektroforegram optimasi suhu <i>annealing</i> primer DFR, CHI, OMT, 18s, F3'H, ANS dan UFGT pada suhu 48-51 °C.	40
21	Elektroforegram kualitas RNA sampel marigold Sudamala Barak	42
22	Analisis kuantitatif gen-gen pada jalur biosintesis flavonoid	44
23	Eksresi delapan gen pada jalur biosintesis flavonoid di empat stadia perkembangan bunga marigold Sudamala Barak	45



@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.