

**IDENTIFIKASI *SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM*
PADA GEN-GEN SENGON (*Falcataria falcata*)
TAHAN KARAT PURU HASIL *LONG-READ-SEQUENCING***

SATRIA ADAM



**DEPARTEMEN SILVIKULTUR
FAKULTAS KEHUTANAN DAN LINGKUNGAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

Perpustakaan 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 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 SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Identifikasi *Single Nucleotide Polymorphism* pada Gen-Gen Sengon (*Falcataria falcata*) Tahan Karat Puru Hasil *Long-Read-Sequencing*” 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.

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

Bogor, Agustus 2024

Satria Adam
E4401201005

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

SATRIA ADAM. Identifikasi *Single Nucleotide Polymorphism* pada Gen-Gen Sengon (*Falcataria falcata*) Tahan Karat Puru Hasil *Long-Read-Sequencing*. Dibimbing oleh ULFAH J SIREGAR dan DEDED MATRA.

Sengon (*Falcataria falcata*) merupakan spesies kayu yang cepat tumbuh dan mudah dibudidayakan. Penanaman sengon secara monokultur memiliki kelemahan yaitu tanaman mudah terserang penyakit seperti karat puru. Tujuan penelitian ini yaitu mengidentifikasi situs SNPs yang terpaut pada gen-gen toleransi terhadap penyakit karat puru (*Uromycladium falcatariae*) serta validasi marka SNPs dengan daun pohon sengon yang toleran dan rentan terhadap karat puru. Sekuens referensi untuk identifikasi SNP berasal dari *DNA Data Bank of Japan* dengan nomor aksesori DRA01568. Desain primer dilakukan untuk mendapatkan primer dari gen-gen target, yaitu *Superoxide dismutase*, *Peroxidase*, *Ethylene*, *MLP-like protein*, dan *Chitinase* yang terkait dengan toleransi penyakit karat puru. Penjajaran 8 *reads* sekuens referensi mengidentifikasi perubahan basa 30.876 SNPs. Identifikasi SNPs menghasilkan 134 SNPs yang memiliki kemungkinan berhubungan dengan 10 gen terkait toleransi penyakit. 10 primer berhasil didesain dengan 5 primer berhasil teramplifikasi. Hasil analisis HRM yang dilakukan menunjukkan adanya asosiasi SNPs pada gen-gen terkait toleransi karat puru.

Kata kunci: karat puru, marka genetik, toleransi, sengon

ABSTRACT

SATRIA ADAM. Identification of Single Nucleotide Polymorphisms in Rust-Resistant Sengon (*Falcataria falcata*) Genes from Long-Read-Sequencing Results. Supervised by ULFAH J SIREGAR SUPERVISOR and DEDED MATRA.

Sengon (*Falcataria falcata*) is a fast-growing and easily cultivated wood species. However, monoculture cultivation of sengon has the disadvantage that the plants are easily attacked by diseases such as gall rust. The purpose of this study is to identify SNP sites associated with genes conferring tolerance to gall rust disease (*Uromycladium falcatariae*) and to validate SNP markers using leaves from sengon trees that are tolerant and susceptible to gall rust. The reference sequence for SNP identification was obtained from the DNA Data Bank of Japan with accession number DRA01568. Primer design was carried out to obtain primers from the target genes, namely *Superoxide dismutase*, *Peroxidase*, *Ethylene*, *MLP-like protein*, and *Chitinase*, which are associated with tolerance to gall rust disease. Alignment of 8 reads of the reference sequence identified 30,876 SNP base changes. SNP identification resulted in 134 SNPs that are potentially associated with 10 genes related to disease tolerance. Ten primers were successfully designed, with five primers successfully amplified. The results of the HRM analysis showed an association of SNPs with genes related to gall rust tolerance.

Keywords: gall rust, genetic markers, sengon, tolerance



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.

**IDENTIFIKASI *SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM*
PADA GEN-GEN SENGON (*Falcataria falcata*)
TAHAN KARAT PURU HASIL *LONG-READ-SEQUENCING***

SATRIA ADAM

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

**DEPARTEMEN SILVIKULTUR
FAKULTAS KEHUTANAN DAN LINGKUNGAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

- 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.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:
Prof. Dr. Ir. Ervival AM Zuhud, M.S.



Judul Skripsi : Identifikasi *Single Nucleotide Polymorphism* pada Gen-Gen Sengon (*Falcataria falcata*) Tahan Karat Puru Hasil *Long-Read-Sequencing*

Nama : Satria Adam
NIM : E4401201005

@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. Ulfah J Siregar, M.Agr.

Pembimbing 2:
Dr. Deden D Matra, S.P., M.Agr.

Diketahui oleh

Ketua Departemen Silvikultur
Dr. Ir. Omo Rusdiana, M.Sc.Forest.Trop.
NIP. 19630119 198903 1 003

Tanggal Ujian: 14 Agustus 2024

Tanggal Lulus: 12 1 AUG 2024

PRAKATA

Puji dan syukur 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 September 2023 sampai bulan Juni 2024 ini ialah *Single Nucleotide Polymorphism* (SNPs) dan Sengon (*Falcataria falcata*), dengan judul “Identifikasi *Single Nucleotide Polymorphism* pada Gen-Gen Sengon (*Falcataria falcata*) Tahan Karat Puru Hasil *Long-Read-Sequencing*”

Terima kasih penulis ucapkan kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Ulfah J Siregar, M.Agr., dan Dr. Deden D Matra, S.P., M.Agr., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan banyak arahan dan masukan kepada penulis hingga terselesaikannya karya ilmiah ini.
2. Dr. Aditya Nugroho, S.Hut., M.Si., yang telah memberikan saran dalam penelitian.
3. Member Laboratorium Genetika Hutan dan Kehutanan Molekuler yang selalu menemani dan menjadi penyemangat penulis untuk dapat menyelesaikan penelitiannya.
4. Program beasiswa KIP-Kuliah yang telah mendukung secara finansial penulis selama masa kuliah.
5. Ir. Andi Sukendro, M.Si., selaku moderator seminar, Dr. Ati Dwi Nurhayati, S.Hut., M.Si selaku ketua sidang, serta Prof. Dr. Ir. Ervival A.M. Zuhud, MS selaku dosen penguji skripsi yang telah bersedia meluangkan waktunya.
6. Teman dekat penulis (Maulana Zaki dan Rafi Zulkarnain) yang selalu ada untuk memberikan hiburan yang terkadang *offside* saat penulis merasa senang maupun susah.
7. Teman seperbimbingan penulis (Amelia Rizki dan Desti Ramada) walaupun lintas penelitian namun terus mendukung satu sama lain untuk bisa melewati tantangan penelitiannya masing-masing.
8. Seluruh teman-teman Arsa Partawana (Silvikultur 57) yang menjadi keluarga baru saat penulis masuk ke dunia perkuliahan.
9. Sri Intan Herita yang telah menemani penulis sebelum ada di dunia perkuliahan hingga karya ilmiah ini dibuat, dan sebagai orang yang terus meyakinkan penulis untuk bisa terus maju dikala penulis sudah merasa putus asa.
10. Ayah (Alm. Suprpto), ibu (Yanah Suryanah), kakak (Widia Damayanti dan Safira Aulia) yang selalu bangga pada penulis dan menjadi alasan penulis tidak mau menyerah dalam menjalankan studinya, serta seluruh keluarga yang tidak pernah berhenti memberikan dukungan moral dan meterial, doa, serta kasih sayang.

Bogor, Agustus 2024

Satria Adam



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xi
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
II METODE	4
2.1 Waktu dan Tempat	4
2.2 Alat dan Bahan	4
2.3 Prosedur Kerja	5
III HASIL DAN PEMBAHASAN	11
3.1 Evaluasi keparahan serangan sengon di lapangan	11
3.2 Identifikasi SNPs untuk ketahanan terhadap karat puru	12
3.3 Korelasi SNPs dengan sifat toleransi sengon	22
IV SIMPULAN DAN SARAN	26
4.1 Simpulan	26
4.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
RIWAYAT HIDUP	31

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.	Skoring tingkat keparahan serangan karat puru pada tanaman sengon	5
2.	Persentase keparahan serangan karat puru pada sengon	5
3.	Perintah SAMtools dan bcftools untuk melakukan SNPs calling	7
4.	Kriteria pembuatan primer SNPs	8
5.	Komposisi reaksi PCR untuk seleksi primer	9
6.	Komposisi HRM <i>master mix</i>	10
7.	Hasil uji T	11
8.	Statistik <i>reads</i> hasil <i>reassembly</i>	12
9.	Jumlah reads sebelum dan setelah proses filtering	12
10.	Jumlah SNPs putatif teridentifikasi pada transkriptom sengon	15
11.	SNPs pada gen-gen terkait toleransi	16
12.	Hasil perancangan SNPs dari beberapa gen target	17
13.	Hasil amplifikasi primer SNPs	18
14.	Hasil analisis HRM pada sampel toleran	21
15.	Hasil analisis HRM pada sampel rentan	22
16.	Uji Khi Kuadrat sifat toleransi sengon	22
17.	Ringkasan rata-rata keparahan serangan dari masing-masing genotipe	24

DAFTAR GAMBAR

1.	Lokasi pengambilan sampel	4
2.	Diagram alur validasi SNPs	6
3.	Persentase keparahan serangan pada masing-masing sampel	11
4.	Persebaran panjang bacaan (<i>read length</i>) dan kualitas bacaan (<i>quality length</i>)	14
5.	Daerah konservatif pada contig2181 yang terdeteksi sebagai gen <i>peroxidase</i> berdasarkan CDD	17
6.	Visualisasi hasil elektroforesis primer	18
7.	<i>Differential plot</i> primer	20
8.	Visualisasi manhattan plot signfikansi gen	23
9.	Visualisasi PCA sengon terhadap gen	24