

ANALISIS KERAGAMAN GENETIK DAN PENGEMBANGAN MARKA SNAP BERBASIS GEN BIOSINTESIS ASAM JASMONAT PADA *Phalaenopsis*

SATRIYO WIBOWO



**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@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 “Analisis Keragaman Genetik dan Pengembangan Marka SNAP berbasis Gen Biosintesis Asam Jasmonat pada *Phalaenopsis*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun 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, Agustus 2026

Satriyo Wibowo
A2503231035



RINGKASAN

SATRIYO WIBOWO. Analisis Keragaman Genetik dan Pengembangan Marka SNAP berbasis Gen Biosintesis Asam Jasmonat pada *Phalaenopsis*. Dibimbing oleh DEWI SUKMA dan SUDARSONO.

Phalaenopsis merupakan salah satu genus anggrek yang paling populer di dunia dan memiliki nilai ekonomi tinggi karena keindahan karakter bunganya. Meskipun memiliki permintaan pasar yang tinggi, budidaya anggrek ini masih menghadapi berbagai kendala, terutama penyakit busuk lunak (PBL) yang disebabkan oleh bakteri *Dickeya dadantii*. Sebagian besar spesies *Phalaenopsis* diketahui rentan terhadap penyakit tersebut, namun penelitian sebelumnya berhasil mengidentifikasi lima spesies, yaitu *P. amboinensis*, *P. corningiana*, *P. modesta*, *P. speciosa*, dan *P. tetraspis*, yang menunjukkan ketahanan terhadap infeksi *D. dadantii*. Analisis transkriptom *P. amboinensis* mengungkapkan peningkatan ekspresi gen-gen yang terlibat dalam biosintesis asam jasmonat yang diduga berperan dalam resistensi terhadap serangan *D. dadantii*. Gen *allene oxide synthase 2* (AOS2) dan *allene oxide cyclase* (AOC) merupakan gen kunci yang mengkode enzim pada tahap awal biosintesis asam jasmonat. Variabilitas *single nucleotide polymorphism* (SNP) pada gen AOS2 dan AOC di antara spesies *Phalaenopsis* yang resisten dan rentan terhadap penyakit busuk lunak diduga berkaitan dengan perbedaan respons terhadap infeksi *D. dadantii*. Variabilitas tersebut berpotensi dimanfaatkan sebagai dasar pengembangan marka *single nucleotide amplified polymorphism* (SNAP) untuk seleksi ketahanan terhadap penyakit busuk lunak.

Penelitian ini bertujuan: 1) menganalisis keragaman genetik dan mengidentifikasi SNP pada gen AOS2 dan AOC sebagai dasar pengembangan marka SNAP; 2) mengevaluasi keefektifan marka SNAP berbasis AOS2 untuk analisis keragaman genetik spesies *Phalaenopsis* yang resisten atau rentan terhadap penyakit busuk lunak (PBL); 3) menganalisis substitusi residu asam amino pada protein AOS2 serta pengaruhnya terhadap struktur sekunder.

Metodologi penelitian diawali dengan isolasi DNA dari sepuluh spesies anggrek *Phalaenopsis* yang resisten atau rentan terhadap penyakit busuk lunak. Tahap berikutnya mencakup analisis sekuens gen AOS2 dan AOC, desain primer, dan amplifikasi gen, analisis SNP, desain primer SNAP dan amplifikasi PCR untuk uji SNAP pada sepuluh spesies anggrek *Phalaenopsis* yang resisten atau rentan terhadap penyakit busuk lunak. Hasil amplifikasi SNAP berupa data visual kemudian dikonversi menjadi data alel untuk analisis nilai *polymorphic information content* (PIC), *observed heterozygosity* (Ho), *expected heterozygosity* (He), dan analisis filogenetik. Selain itu, hasil sekuensing akan digunakan untuk analisis filogenetik dan protein.

Hasil penelitian ini menunjukkan analisis *full length CDS* (1530 bp) gen AOS2 berhasil diisolasi dari 10 spesies yang diuji dan ditemukan adanya 150 SNP pada gen tersebut. Sementara pada gen AOC hanya diperoleh fragmen dari gen berukuran 700 bp dan pada fragmen tersebut ditemukan sebanyak 55 SNP. Pada gen AOS2 ditemukan 14 SNP dan pada fragmen gen AOC sebanyak 7 SNP memiliki frekuensi alel tinggi. Sebanyak 6 SNP dari gen AOS2 dan 5 SNP dari gen AOC dipilih sebagai kandidat pengembangan marka SNAP. Validitas marka SNAP AOS2 ditunjukkan oleh nilai PIC, Ho, dan He yang berkisar dari rendah hingga

sedang, serta nilai H_o yang lebih rendah daripada H_e , yang mengindikasikan frekuensi heterozigositas yang rendah. Analisis filogenetik membagi 10 spesies *Phalaenopsis* menjadi dua klaster utama, tetapi pengelompokan tersebut tidak sesuai dengan tingkat resistensi terhadap *D. dadantii*. Sementara itu, marka SNAP AOC tidak diuji melalui amplifikasi PCR karena sekuens gen AOC yang tersedia hanya bersifat parsial. Sebanyak 5 SNP *non-synonymous* dengan frekuensi alel tinggi terdeteksi menyebabkan substitusi residu asam amino, namun substitusi tersebut diprediksi tidak mengubah struktur sekunder protein AOS2 pada spesies *Phalaenopsis*.

Penelitian ini menghasilkan beberapa temuan baru, yaitu karakterisasi gen AOS2 dan AOC pada 10 spesies *Phalaenopsis*, meliputi identifikasi variasi sekuens, SNP, hubungan filogenetik, serta perubahan residu asam amino yang dikodekan oleh kedua gen tersebut. Berdasarkan SNP yang berhasil diidentifikasi, dikembangkan marka SNAP berbasis gen AOS2 dan AOC yang mampu membedakan variasi genetik antarspesies *Phalaenopsis*. Marka SNAP yang dihasilkan dapat digunakan untuk mengidentifikasi materi genetik secara cepat dan akurat, mendukung pengelolaan sumber daya genetik, serta membantu pemilihan tetua berdasarkan keragaman genetik dalam perencanaan persilangan yang lebih terarah. Gen AOS2 dan AOC, yang berperan dalam jalur biosintesis asam jasmonat terkait respons pertahanan tanaman, memberikan landasan ilmiah bagi pengembangan hibrida *Phalaenopsis* yang memiliki ketahanan terhadap penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh bakteri *D. dadantii*.

Kata kunci: *Allene oxide cyclase*, *allene oxidase synthase*, marka molekuler, penyakit busuk lunak, *Phalaenopsis*.



SUMMARY

SATRIYO WIBOWO. Genetic Diversity Analysis and Development of SNAP Markers Based on Jasmonic Acid Biosynthesis Genes in *Phalaenopsis*. Supervised by DEWI SUKMA and SUDARSONO.

Phalaenopsis is one of the world's most popular orchid genera and has high economic value due to the beauty of its flowers. Despite high market demand, the cultivation of this orchid still faces various challenges, particularly soft rot disease (SRD) caused by the bacterium *Dickeya dadantii*. Most *Phalaenopsis* species are known to be susceptible to this disease; however, previous research has successfully identified five species, namely *P. amboinensis*, *P. corningiana*, *P. modesta*, *P. speciosa* and *P. tetraspis*, which exhibit resistance to infection by *D. dadantii*. Transcriptome analysis of *P. amboinensis* revealed increased expression of genes involved in jasmonic acid biosynthesis, which are thought to play a role in resistance to *D. dadantii* infection. The *allene oxide synthase 2* (AOS2) and *allene oxide cyclase* (AOC) genes are key genes encoding enzymes in the early stages of jasmonic acid biosynthesis. Single nucleotide polymorphism (SNP) variability in the AOS2 and AOC genes amongst *Phalaenopsis* species that are resistant and susceptible to soft rot disease is thought to be associated with differences in response to *D. dadantii* infection. This variability has the potential to be utilised as a basis for the development of single nucleotide amplified polymorphism (SNAP) markers for the selection of resistance to soft rot disease.

The objectives of this study are: 1) to analyse genetic diversity and identify SNPs in the AOS2 and AOC genes as a basis for the development of SNAP markers; 2) to evaluate the effectiveness of AOS2-based SNAP markers for analysing the genetic diversity of *Phalaenopsis* species that are resistant or susceptible to soft rot disease (SRD); 3) to analyse amino acid residue substitutions in the AOS2 protein and their effect on secondary structure.

The research methodology began with the isolation of DNA from ten species of *Phalaenopsis* orchids that are either resistant or susceptible to soft rot disease. The next stage involved sequence analysis of the AOS2 and AOC genes, primer design and gene amplification, SNP analysis, SNAP primer design and PCR amplification for SNAP testing on ten *Phalaenopsis* orchid species that are resistant or susceptible to soft rot disease. The SNAP amplification results, in the form of visual data, were then converted into allele data for the analysis of polymorphic information content (PIC), observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), and phylogenetic analysis. In addition, the sequencing results will be used for phylogenetic and protein analysis.

The results of this study show that the full-length CDS (1530 bp) of the AOS2 gene was successfully isolated from the 10 species tested, and 150 SNPs were identified in this gene. Meanwhile, for the AOC gene, only a 700 bp fragment was obtained, in which 55 SNPs were identified. Of these, 14 SNPs in the AOS2 gene and 7 SNPs in the AOC gene fragment exhibited high allele frequencies. A total of 6 SNPs from the AOS2 gene and 5 SNPs from the AOC gene were selected as candidates for the development of SNAP markers. The validity of the AOS2 SNAP marker was demonstrated by PIC, Ho and He values ranging from low to moderate, as well as an Ho value lower than He, indicating a low heterozygosity frequency.

@Hak Cipta IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan 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.

Phylogenetic analysis divided the 10 *Phalaenopsis* species into two main clusters; however, this grouping did not correlate with the level of resistance to *D. dadantii*. Meanwhile, the AOC SNAP marker was not tested via PCR amplification as the available AOC gene sequence was only partial. A total of 5 non-synonymous SNPs with high allele frequencies were detected, causing amino acid residue substitutions; however, these substitutions are predicted not to alter the secondary structure of the AOS2 protein in *Phalaenopsis* species.

This study yielded several new findings, namely the characterisation of the AOS2 and AOC genes in 10 *Phalaenopsis* species, including the identification of sequence variations, SNPs, phylogenetic relationships, and changes in the amino acid residues encoded by these two genes. Based on the SNPs successfully identified, SNAP markers based on the AOS2 and AOC genes were developed, capable of distinguishing genetic variation amongst *Phalaenopsis* species. The resulting SNAP markers can be used to identify genetic material rapidly and accurately, supporting the management of genetic resources, and assisting in the selection of parents based on genetic diversity for more targeted cross-breeding programmes. The AOS2 and AOC genes, which play a role in the jasmonic acid biosynthesis pathway associated with plant defence responses, provide a scientific basis for the development of *Phalaenopsis* hybrids that are resistant to soft rot disease caused by the bacterium *D. dadantii*.

Keywords: *Allene oxide cyclase, allene oxidase synthase, molecular marker, Phalaenopsis, soft rot disease.*

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.



@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.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
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.

ANALISIS KERAGAMAN GENETIK DAN PENGEMBANGAN MARKA SNAP BERBASIS GEN BIOSINTESIS ASAM JASMONAT PADA *Phalaenopsis*

SATRIYO WIBOWO

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

**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@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 Tesis:

- 1 Dr. Sintho Wahyuning Ardie, S.P., M.Si.**
- 2 Dr. Ir. M. Rahmad Suhartanto, M.S.**



Judul Tesis : Analisis Keragaman Genetik dan Pengembangan Marka SNAP berbasis Gen Biosintesis Asam Jasmonat pada *Phalaenopsis*

Nama : Satriyo Wibowo
NIM : A2503231035

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

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

Pembimbing 2:
Prof. Dr. Ir. Sudarsono, M.Sc.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Desta Wirnas, S.P., M.Si.
NIP 197012282000032001

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

Tanggal Ujian:
10 Agustus 2026

Tanggal Lulus:

14 AUG 2026

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga tesis dengan judul “Analisis Keragaman Genetik dan Pengembangan Marka SNAP berbasis Gen Biosintesis Asam Jasmonat pada *Phalaenopsis*” yang dilaksanakan sejak bulan Juli 2025 hingga Januari 2026 dapat diselesaikan dengan baik. Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada:

1. Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si. dan Prof. Dr. Ir. Sudarsono, M.Sc. selaku komisi pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, masukan, serta meluangkan waktu selama proses perkuliahan, penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian, penyusunan publikasi ilmiah, hingga penyelesaian tesis ini.
2. Kementerian Pendidikan Tinggi, Ilmu Pengetahuan, dan Teknologi (Kemdiktisaintek) yang telah menyediakan dana penelitian melalui skema Penelitian Tugas Akhir Magister (PTM).
3. Dosen moderator seminar proposal Prof. Dr. Ir. Didy Sopandie, M.Agr. dan seminar hasil Prof. Dr. Ir. Satriyas Ilyas, MS, serta dosen penguji ujian tesis Dr. Sintho Wahyuning Ardie, S.P., M.Si., dan Dr. Ir. M. Rahmad Suhartanto, M.S., yang telah memberikan saran dan masukan dalam perbaikan tesis.
4. Dosen dan Tenaga Kependidikan Sekolah Pascasarjana Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman atas segala ilmu yang diberikan kepada penulis.
5. Alm. Bapak Suhartono, Ibu Sulastri, Kakak Ike Norma Faradila, dan Adik Yogi Wirayuda Pamungkas, serta seluruh keluarga besar yang senantiasa memberikan doa, dukungan, dan kasih sayang yang tiada henti.
6. Sahabat-sahabat yang telah banyak memberikan waktu, dukungan, dan motivasi dalam penyelesaian tesis ini: Sayyid Abdullah, Figo Achmad Andiansyah, Rindy Faqih Nuvantara, Ananda Ariadi Wibowo, Mohammad Aldiyan Dwi K., Hadisfied Rama Suhada, Rio Akbar Rahmatullah, Ferdi Hariyanto, dan Widi Wardhani.
7. Rekan-rekan mahasiswa Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman angkatan 2023 dan teman-teman lainnya yang telah banyak membantu dalam proses perkuliahan dan penelitian.

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

Bogor, Agustus 2026

Satriyo Wibowo



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiii
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Hipotesis	3
1.6 Ruang Lingkup	3
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Phalaenopsis</i>	5
2.2 Penyakit busuk lunak (PLB)	5
2.3 Mekanisme pertahanan tanaman terhadap patogen	6
2.4 Biosintesis Asam jasmonat	8
2.5 Gen <i>Allene oxidase synthase</i> (AOS)	9
2.6 Gen <i>Allene oxide cyclase</i> (AOC)	10
2.7 Marka SNAP	10
III. ANALISIS KERAGAMAN GENETIK DAN PENGEMBANGAN MARKA SNAP BERBASIS GEN AOS2 PADA <i>Phalaenopsis</i>	12
3.1 Pendahuluan	13
3.2 Bahan dan Metode	15
3.3 Hasil dan Pembahasan	18
3.3 Simpulan	28
3.4 Saran	29
IV. ANALISIS KERAGAMAN GENETIK DAN PENGEMBANGAN MARKA SNAP GEN BERBASIS AOC PADA <i>Phalaenopsis</i>	30
4.1 Pendahuluan	31
4.2 Bahan dan Metode	32
4.3 Hasil dan Pembahasan	34
4.4 Simpulan	40
4.5 Saran	40
V. PEMBAHASAN UMUM	41
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	43
6.1 Simpulan	43
6.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	55
RIWAYAT HIDUP	56



DAFTAR TABEL

1	Primer AOS2 yang dikembangkan dari nukleotida <i>P. equestris</i>	16
2	Prediksi komposisi residu asam amino dari sekuens fragmen gen AOS2 berdasarkan 14 SNP frekuensi alel tinggi pada 10 spesies <i>Phalaenopsis</i>	21
3	Variasi alel pada lima lokus SNP <i>non-synonymous</i> gen AOS2 pada 10 spesies <i>Phalaenopsis</i>	22
4	Primer SNAP AOS2 yang dikembangkan dari 10 spesies <i>Phalaenopsis</i>	22
5	Primer ITS yang dikembangkan dari nukleotida <i>P. equestris</i>	23
6	Nilai PIC, Ho, dan He pada 10 spesies <i>Phalaenopsis</i>	24
7	Variasi residu asam amino akibat SNP nonsinonim pada protein AOS2 pada 10 spesies <i>Phalaenopsis</i>	28
8	Primer AOC yang dikembangkan dari nukleotida <i>P. equestris</i>	33
9	Prediksi komposisi residu asam amino dari sekuens fragmen gen AOC berdasarkan 7 SNP frekuensi alel tinggi pada 10 spesies <i>Phalaenopsis</i>	37
10	Variasi alel pada lima lokus SNP <i>non-synonymous</i> gen AOS2 pada 10 spesies <i>Phalaenopsis</i>	37
11	Primer SNAP AOS2 yang dikembangkan dari 10 spesies <i>Phalaenopsis</i>	38

DAFTAR GAMBAR

1	Bagan alur penelitian.	4
2	Biosintesis dan jalur pensinyalan inti asam jasmonat (JA) di <i>Arabidopsis</i> dan <i>Marchantia polymorpha</i> (Li et al. 2022).	9
3	Struktur gen AOS2, desain primer, dan amplifikasi gen.	19
4	Hasil amplifikasi PCR dari enam set primer SNAP AOS2 yang dikembangkan untuk 10 spesies <i>Phalaenopsis</i> .	24
5	Pohon filogenetik dari 10 spesies <i>Phalaenopsis</i> berdasarkan enam lokus marka SNAP dengan menggunakan metode Weighted Neighbour-Joining.	25
6	Pohon filogenetik ini disusun berdasarkan sekuens protein AOS2 dari 41 spesies tumbuhan. Error! Bookmark not defined.	
7	Pemodelan struktur protein AOS2 berdasarkan sekuens asam amino <i>P. equestris</i> .	28
8	Struktur gen AOC, desain primer, dan amplifikasi gen.	35
9	Hasil sekuensing dari primer gen AOS2 pada 10 spesies <i>Phalaenopsis</i> .	36
10	Pohon filogenetik ini disusun berdasarkan sekuens protein AOC dari 25 spesies tumbuhan dalam famili <i>Orchidaceae</i> .	39