

IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI MOLEKULAR GEN-GEN PENGONTROL PEMBUNGAAN PADA KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.)

AQWIN POLOSORO



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TUMBUHAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@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 DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA*

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi berjudul “Identifikasi dan Karakterisasi Molekuler Gen-Gen Pengontrol Pembungaan pada Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi 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 disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

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

Bogor, Juli 2024

Aqwin Polosoro
NIM G3603202002

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

AQWIN POLOSORO. Identifikasi dan Karakterisasi Molekuler Gen-Gen Pengontrol Pembungaan pada Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). Dibimbing oleh ENCE DARMO JAYA SUPENA, MIFTAHUDIN, dan TOTO HADIARTO.

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) adalah tanaman penghasil minyak nabati utama yang dapat digunakan sebagai bahan pangan maupun bahan bakar. Produktivitas perkebunan kelapa sawit Indonesia masih rendah dengan hanya 3,9 ton/hektar/tahun dibandingkan dengan potensi hasil yang dapat mencapai 7,4 ton/hektar/tahun, sehingga perlu adanya percepatan program pemuliaan. Fase vegetatif yang memakan waktu sekitar tiga sampai empat tahun menyebabkan proses pemuliaan kelapa sawit berjalan sangat lambat. Teknologi *FasTrack breeding*, yang memanfaatkan gen-gen pengontrol pembungaan, menawarkan solusi potensial untuk mempercepat pembungaan. Akan tetapi, informasi tentang gen-gen tersebut pada kelapa sawit sangat terbatas, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi gen pengontrol pembungaan pada kelapa sawit. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang jalur metabolisme hulu dalam induksi pembungaan kelapa sawit. Pemahaman atas mekanisme dan gen-gen yang terlibat dalam pembungaan dapat memfasilitasi pembentukan galur-galur kelapa sawit yang berbunga lebih cepat melalui rekayasa genetika, sehingga dapat diaplikasikan dalam proses percepatan pemuliaan kelapa sawit. Tahapan penelitian meliputi: (1) Studi *in silico* kandidat gen-gen pengontrol pembungaan dengan menggunakan pemodelan protein; (2) Kloning, transformasi, dan karakterisasi kandidat gen terpilih ke dalam tanaman model (*Arabidopsis thaliana*) serta evaluasi genotipe dan fenotipe tanaman hasil transformasi. (3) Evaluasi ekspresi kandidat gen pembungaan kelapa sawit di daun dan organ reproduksi. (4) Karakterisasi promotor gen pembungaan.

Protein homolog Flowering Locus T (FT) / Heading date 3a (Hd3a) dari kelapa sawit berhasil diidentifikasi melalui pemodelan protein berdasarkan struktur protein FT dari *A. thaliana* dan padi. Dengan memanfaatkan model protein dan informasi mengenai residu asam amino penting, fungsi dari protein homolog dapat diprediksi. Analisis BLASTp pada basis data NCBI berhasil mengidentifikasi delapan belas kandidat protein dari keluarga *phosphatidylethanolamine-binding protein* (PEBP). Tiga belas protein menunjukkan tingkat homologi sekuen yang tinggi dan cakupan kueri yang luas terhadap sekuen AtFT/OsHd3a. Analisis filogenetik berhasil mengelompokkan protein-protein tersebut menjadi tiga sub-famili: FT, Terminal Flower 1 (TFL1), dan Mother of FT and TFL1 (MFT). Kesamaan struktural ditemukan di antara protein kelompok FT, namun variasi residu asam amino di lokasi penting mengubah aktivitasnya. Tiga protein diidentifikasi sebagai florigen potensial: EgHd3a-1, EgHd3a-2, dan EgHd3a-3.

Dua dari tiga gen, *EgHd3a-1* and *EgHd3a-2*, yang diidentifikasi berhasil dikloning ke vektor ekspresi pCambia 1300. Gen *EgHd3a-3* tidak dapat terdeteksi pada seluruh jaringan yang diperiksa sehingga tidak dapat diinvestigasi lebih lanjut. Gen *EgHd3a-1* dan *EgHd3a-2* berhasil ditransformasikan ke *A. thaliana* melalui metode floral drip. Hasil dari overekspresi tersebut menunjukkan

bahwa *A. thaliana* transgenik berbunga lebih cepat dibandingkan *A. thaliana* tipe liar, sehingga *EgHd3a-1* dan *EgHd3a-2* terindikasi berperan sebagai florigen dengan mempercepat proses pembungaan.

Tingkat ekspresi gen *EgHd3a-1* dan *EgHd3a-2* berhasil diukur menggunakan *quantitative* PCR (qPCR). Primer yang dirancang dengan mempertimbangkan batas ekson-intron-ekson terbukti spesifik dan tervalidasi. Hasil qPCR menunjukkan bahwa gen *EgHd3a-1* terekspresi tinggi pada bunga, terutama pada bunga jantan matang, tetapi rendah pada bunga betina, daun, dan pelepah. Gen *EgHd3a-2* menunjukkan ekspresi tinggi pada bunga betina muda, tetapi sangat rendah pada bunga jantan, daun, dan pelepah. Tidak ada perbedaan pola signifikan dalam ekspresi penyambungan alternatif (*alternative splicing*) pada kedua gen ini di antara sampel yang diuji.

Promotor gen *EgHd3a-1* dan *EgHd3a-2* telah berhasil dikloning, disambungkan ke gen β -glucuronidase (*GUS*), dan ditransformasikan ke tanaman *A. thaliana*. Uji histokimia GUS berhasil merinci aktivitas promotor pada semua organ dan tahap siklus hidup. Aktivitas p*EgHd3a-1* teramati di jaringan pembuluh pada daun selama fase reproduktif, buah, akar, dan terutama pada stamen. Sementara itu, p*EgHd3a-2* teraktivasi di seluruh jaringan kecambah, jaringan meristem apikal pada tanaman dewasa, dan sedikit terekspresi pada kelopak bunga. Temuan dari studi promotor ini konsisten dengan hasil uji ekspresi gen pada tanaman kelapa sawit.

Studi ini memberikan gambaran komprehensif tentang mekanisme induksi pembungaan pada kelapa sawit. Induksi pembungaan diduga melibatkan aktivitas gen *EgHd3a-1* pada jaringan pembuluh di daun selama fase reproduktif. Hal ini menunjukkan perannya yang penting dalam proses pembentukan bunga. Induksi pembungaan diduga terjadi karena adanya akumulasi protein *EgHd3a* yang ditranslokasi dari daun ke meristem apikal, bersama dengan protein *EgHd3a-2* yang konsisten dihasilkan di jaringan yang sama. Model ini menjelaskan kelapa sawit dapat berbunga sepanjang tahun, dengan ekspresi konstitutif *EgHd3a-2* yang diduga berfungsi menstabilkan kondisi floral meristem.

Ekspresi *EgHd3a-1* yang tinggi pada stamen menunjukkan hubungan yang kuat dengan perkembangan bunga jantan. Fakta ini menyoroti peran penting *EgHd3a-1* dalam pengembangan stamen di kelapa sawit. Hasilnya menunjukkan adanya hubungan potensial antara ekspresi *EgHd3a-1* pada bunga jantan dan respons stres, meskipun penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme yang mendasarinya. Proses ini mungkin melibatkan jalur sinyal molekuler yang dipicu oleh faktor lingkungan.

Temuan ini membuka peluang besar untuk mengembangkan teknologi pemuliaan kelapa sawit yang lebih efisien dan cepat. Dengan teknologi *FasTrack breeding*, yang memanfaatkan gen-gen pembungaan untuk mempercepat fase generatif tanaman, proses pemuliaan kelapa sawit diperkirakan dapat dipersingkat dari 15-20 tahun menjadi hanya 3-4 tahun. Meski memerlukan investasi besar untuk membangun infrastruktur riset, *return of investment* dapat diperoleh melalui penghematan biaya pemuliaan yang dapat dinikmati dalam jangka panjang. Selain itu, pemenuhan kebutuhan bibit kelapa sawit unggul juga dapat dicapai dalam waktu yang lebih singkat.

Kata kunci: *FasTrack breeding*, *Hd3a*, kelapa sawit, PEBP, promotor

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



SUMMARY

AQWIN POLOSORO. Molecular Identification and Characterization of Flowering Regulator Genes in Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Supervised by ENCE DARMO JAYA SUPENA, MIFTAHUDIN, TOTO HADIARTO.

Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) is a prominent vegetable oil-producing plant that can be used for food and fuel. The productivity of Indonesian oil palm farms remains low at 3.9 tons/hectare/year, compared to potential yields of 7.4 tons/hectare/year, indicating the need to speed the breeding program. The vegetative phases require approximately three-four years, resulting in a prolonged oil palm breeding process. FasTrack breeding technology can help to accelerate the breeding process for annual plants. FasTrack breeding technology requires genes that can control flowering. More information regarding flowering regulatory genes in oil palms is needed; thus, more research is required.

This study aims to identify potential genes that regulate flowering time in oil palms. The research is expected to provide insights into the upstream metabolic processes involved in the induction of oil palm flowering. Understanding these mechanisms and genes can facilitate the development of genetically engineered oil palm lines that flower faster, thereby accelerating breeding efforts. The research involves several stages: (1) In silico analysis of potential flowering regulatory genes using protein modelling; (2) Cloning, transforming, and characterizing selected candidate genes in model plants (*Arabidopsis thaliana*) and analyzing the genotype and phenotype of the transformed plants; (3) Evaluating the expression of putative oil palm flowering genes in leaves and reproductive organs; and (4) Analyzing the promoters of flowering genes.

The study identified the Flowering Locus T (FT) / Heading date 3a (Hd3a) homologous protein in oil palm through modelling its structure based on the FT protein from *A. thaliana* and rice. Protein models and knowledge of crucial amino acid residues were used to predict the functions of homologous proteins. A BLASTp analysis of the NCBI database identified eighteen candidate proteins from the phosphatidylethanolamine-binding protein (PEBP) family. Thirteen proteins exhibited high sequence homology and extensive curation coverage of the AtFT/OsHd3a sequence. Phylogenetic analysis divided these proteins into three sub-families: FT, Terminal Flower 1 (TFL1), and Mother of FT and TFL1 (MFT). Structural similarities were noted among the FT group proteins, but variations in amino acid residues at crucial locations altered their activity. Three proteins were identified as potential florigens: EgHd3a-1, EgHd3a-2, and EgHd3a-3.

Two of the identified genes, *EgHd3a-1* and *EgHd3a-2*, were successfully cloned into the pCAMBIA 1300 expression vector. The *EgHd3a-3* gene was not expressed in any tissues analyzed, precluding further study. *EgHd3a-1* and *EgHd3a-2* genes were successfully transformed into *A. thaliana* via the floral drip method. Overexpression of these genes in *A. thaliana* confirmed that *EgHd3a-1* and *EgHd3a-2* function as florigens, accelerating the flowering process.

Quantitative PCR (qPCR) measured the expression levels of *EgHd3a-1* and *EgHd3a-2*. Primers designed for exon-intron-exon boundaries were specific and validated. qPCR results showed that *EgHd3a-1* was significantly expressed in flowers, especially mature male flowers, but low in female flowers, leaves, and



fronds. *EgHd3a-2* was highly expressed in immature female flowers but low in male flowers, leaves, and fronds. No significant changes in alternative splicing expression patterns were observed for these genes across the samples studied.

The promoters of *EgHd3a-1* and *EgHd3a-2* were successfully cloned, linked to the β -glucuronidase (*GUS*) gene, and introduced into *A. thaliana*. The *GUS* histochemical assay reported promoter activity across various organs and life cycle stages. pEgHd3a-1 was active in vascular tissue in leaves during the reproductive phase, fruit, roots, and stamens. pEgHd3a-2 showed activity in various sprout tissues and the apical meristem tissue of adult plants, with slight expression in flower petals. The findings are consistent with the results of gene expression study in oil palm.

This study provides a comprehensive overview of the flowering induction mechanism in oil palms. The *EgHd3a-1* gene, active in the vascular tissue of leaves during the reproductive phase. This indicates a crucial role in flower formation. The accumulation of *EgHd3a* protein, transported from leaves to the apical meristem, is believed to induce flowering. The *EgHd3a-2* protein, consistently synthesized in the same meristem tissue, may contribute to the stability of the floral meristem, suggesting oil palms can flower continuously throughout the year.

The high expression of *EgHd3a-1* in stamens indicates its strong association with male flower development. This highlights *EgHd3a-1*'s crucial role in developing male reproductive organs in oil palm. The results suggest a potential link between *EgHd3a-1* expression in male flowers and stress response, although further research is needed to understand the underlying mechanisms. This process may involve molecular signaling pathways triggered by environmental factors.

These findings offer significant prospects for developing more efficient and faster oil palm breeding technology. Utilizing FasTrack breeding technology, which utilizes early flowering genes to fasten plant generative phase, the oil palm breeding process could be reduced from fifteen to twenty-five years to three to four years. Building research infrastructure requires significant investment, but long-term savings on breeding costs can yield a significant return on investment. Furthermore, the demands of superior oil palm seedlings can be met faster.

Keywords: FasTrack breeding, *Hd3a*, oil palm, PEBP, promoter

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



IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI MOLEKULAR GEN-GEN PENGONTROL PEMBUNGAAN PADA KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* Jacq.)

AQWIN POLOSORO

Disertasi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Doktor pada
Program Studi Biologi Tumbuhan

**PROGRAM STUDI BIOLOGI TUMBUHAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PETANIAN 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 mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin 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 mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Penguji Luar Komisi Pembimbing pada Ujian Tertutup Disertasi:

1. Dr. Willy Bayuardi Suwarno, S.P., M.Si.
2. Dr. Ir. Dwi Asmono, M.S.

Promotor Luar Komisi Pembimbing pada Sidang Promosi Terbuka Disertasi:

1. Dr. Willy Bayuardi Suwarno, S.P., M.Si.
2. Dr. Ir. Dwi Asmono, M.S.

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.

Judul Disertasi : Identifikasi dan Karakterisasi Molekuler Gen-Gen Pengontrol
Pembungaan pada Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)

Nama : Aqwin Polosoro
NIM : G3603202002

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si.



Pembimbing 2:
Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si.



Pembimbing 3:
Dr. Toto Hadiarto, M.Si.

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Ir. Hamim, M.Si.
NIP. 19650322 199002 1 001



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam:
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si.
NIP. 19780723 200701 1 001



Tanggal Ujian: 31 Juli 2024

Tanggal Lulus:



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

PRAKATA

Rasa syukur atas rahmat Allah SWT saya sampaikan dengan selesainya penelitian dan penulisan disertasi berjudul "Identifikasi dan Karakterisasi Molekuler Gen-Gen Pengontrol Pembungaan pada Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)". Penyusunan karya ilmiah ini merupakan upaya untuk mendalami pemahaman terhadap mekanisme pembungaan pada tanaman kelapa sawit, yang menjadi fokus utama penelitian ini. Kontribusi penelitian ini diharapkan tidak hanya pada tingkat akademis, tetapi juga dapat memberikan dampak positif dalam peningkatan produktivitas perkebunan kelapa sawit secara global.

Saya mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, bimbingan, dan inspirasi selama perjalanan penelitian ini. Terima kasih kepada Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si., Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si., dan Dr. Toto Hadiarto, M.Si., yang telah memberikan arahan dan panduan dengan penuh kesabaran. Terima kasih juga penulis ucapkan untuk Dr. Willy Bayuardi Suwarno, S.P., M.Si. dan Dr. Ir. Dwi Asmono, M.S. yang berkenan menjadi penguji luar komisi. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada alm. Prof. Dr. Ir. Suharsono, DEA yang sudah membimbing penulis di awal penelitian ini; semoga amal ibadah beliau diterima oleh Allah SWT.

Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada Prof. Dr. Ir. Hamim, M.Si. dan Prof. Dr. Dra. Triadiati, M.Si. serta para dosen dan tenaga kependidikan Prodi Biologi IPB. Terima kasih juga saya ucapkan untuk Dr. Ratih Asmana Ningrum (Kepala Pusat Riset Rekayasa Genetika, BRIN) yang telah banyak membantu terkait transisi mutasi peneliti ke BRIN. Terima kasih juga saya sampaikan kepada Ibu Diani Damayanti dan Dr. Kusumawaty Kusumanegara yang telah banyak membantu menyumbangkan bahan penelitian, Ibu Dr. Wening Enggarini dan Bapak Dr. Roberdi yang banyak membantu dalam memahami budidaya kelapa sawit. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Dr. Joko Prastyiono dan istri, Dr. Sri Kurniasih, Rubi Heryanto, Dr. Rikno Harmoko, teman-teman di Pusat Riset Rekayasa Genetika – BRIN, dan Ex-Balai Besar Bioteknologi dan Sumber Daya Genetika Pertanian (BB Biogen) yang tidak dapat saya sebut satu persatu.

Terima kasih juga saya sampaikan kepada Ayah saya (alm. Resi Siswo Yudo) dan Ibu saya (Dahniar Husin Thalib) yang sudah mendorong saya untuk menempuh pendidikan setinggi-tingginya. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada istri saya (Okti Aryani Hapsari), dan anak-anak saya (Azzam, Zaki, dan Alifa) serta Bapak dan Ibu mertua saya yang sudah mendukung saya demi suksesnya penelitian ini. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada kakak saya Muhammad Adha Ilhami dan Octasida Viani yang sudah banyak memberikan masukan.

Semoga disertasi ini dapat memberikan kontribusi positif dalam pemahaman genetika kelapa sawit, serta menjadi landasan bagi penelitian lebih lanjut yang dapat meningkatkan kesejahteraan masyarakat melalui peningkatan produksi kelapa sawit.

Bogor, 31 Juli 2024

Aqwin Polosoro



DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	vii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Ruang Lingkup	3
1.6 Kebaruan	4
1.7 Hipotesis	6
II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Asal dan Klasifikasi Kelapa Sawit	7
2.2 Bunga Kelapa Sawit	8
2.3 Gen Terkait Pembungaan	8
2.4 Perkembangan Studi Gen Pembungaan pada Kelapa Sawit	12
2.5 Teknologi <i>FasTrack Breeding</i>	13
2.6 Karakterisasi Promotor dan Fungsinya dalam Studi Gen	14
2.7 Peran Bioinformatika dalam Karakterisasi Gen	15
III IDENTIFIKASI PROTEIN HOMOLOG FT/Hd3a PADA KELAPA SAWIT	17
3.1 Abstrak	17
3.2 Pendahuluan	18
3.3 Metode Penelitian	19
3.4 Hasil dan Pembahasan	20
3.5 Simpulan	27
IV. KLONING DAN OVEREKSPRESI GEN <i>EgHd3a</i> PADA <i>Arabidopsis thaliana</i>	28
4.1 Abstrak	28
4.2 Pendahuluan	29
4.3 Metode Penelitian	30
4.4 Hasil dan Pembahasan	34
4.5 Simpulan	44
V KARAKTERISASI EKSPRESI GEN <i>EgHd3a</i>	45
5.1 Abstrak	45
5.2 Pendahuluan	46
5.3 Metode Penelitian	46
5.4 Hasil dan Pembahasan	49
5.5 Simpulan	57

VI	ANALISIS FUNGSI PROMOTOR GEN <i>EgHd3a</i> PADA <i>Arabidopsis thaliana</i>	58
6.1	Abstrak	58
6.2	Pendahuluan	59
6.3	Metode Penelitian	60
6.4	Hasil dan Pembahasan	62
6.5	Simpulan	72
VII	PEMBAHASAN UMUM	73
7.1	Studi Struktur Protein EgHd3a	73
7.2	Mekanisme Induksi Pembungaan pada Kelapa Sawit	75
7.3	Hubungan <i>EgHd3a</i> -1 dengan Pembentukan Bunga Jantan	78
7.4	Potensi Pemanfaatan	80
VIII	SIMPULAN DAN SARAN	81
8.1	Simpulan Umum	81
8.2	Saran	81
	DAFTAR PUSTAKA	83
	LAMPIRAN	100
	RIWAYAT HIDUP	104



DAFTAR TABEL

@Hak cipta milik IPB University

3.1	Daftar homolog gen <i>OsHd3a</i> (XP_015641951) hasil BLASTp pada basis data protein kelapa sawit di NCBI	20
3.2	Pemodelan protein PEBP dari kelompok FT-like I, FT-like II, dan TFL-like dibandingkan dengan protein AtFT dan AtMFT	25
4.1	Sekuens primer dan nama gen target yang digunakan untuk semi-kuantitatif PCR dan kloning	34
5.1	Sekuens primer dan nama gen target yang digunakan untuk <i>quantitative</i> PCR dan kloning	48
6.1	Sekuens primer dan nama promotor target yang digunakan untuk kloning promotor	61
6.2	Hasil analisis sekuens promotor pEgHd3a-1 putatif dengan ukuran 1.500 bp yang diisolasi dari kelapa sawit	66
6.3	Hasil analisis sekuens promotor pEgHd3a-2 putatif dengan ukuran 1.500 bp yang diisolasi dari kelapa sawit	67

DAFTAR GAMBAR

1.1	Diagram alur penelitian karakterisasi gen-gen pengontrol pembungaan pada kelapa sawit (<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.)	5
2.1	Morfologi bunga kelapa sawit	8
2.2	Ringkasan jalur pengaturan waktu berbunga pada <i>Arabidopsis thaliana</i>	10
2.3	Skema regulasi yang mengontrol ekspresi <i>Hd3a</i> dan <i>RFT1</i> pada padi	10
2.4	Struktur domain dari subfamili gen yang mengandung domain CCT	12
2.5	Skema transfer sifat tahan penyakit (R) ke klon elit atau kultivar komersial pada plum menggunakan galur <i>FasTrack breeding</i>	14
3.1	Pohon filogenetik protein florigen (AtFT1, OsHd3a, RFT, AtTFL, RCN, AtMFT, dan OsMFT) dibandingkan dengan homolognya di kelapa sawit	21
3.2	Penyelarasan urutan protein lengkap dari urutan protein referensi dan semua protein PEBP pada kelapa sawit	23
3.3	Gambaran struktur protein, grafik perbandingan dengan kumpulan struktur PDB yang tidak <i>redundan</i> , dan perkiraan kualitas lokal protein model	26
4.1	Berbagai kondisi sampel untuk analisis ekspresi	31
4.2	Hasil pengukuran kuantitatif dan kemurnian total RNA dengan menggunakan <i>NanoDrop™ 2000 Spectrophotometers</i> dari sampel yang diekstraksi	35
4.3	Hasil analisis semi-kuantitatif <i>reverse transcriptase</i> PCR dari berbagai jaringan kelapa sawit	35
4.4	Hasil amplifikasi gen <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i> pada sampel	36
4.5	Hasil analisis penyejajaran antara sekuens referensi dengan gen <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i>	37
4.6	Ilustrasi pemotongan dan penyambungan fragmen gen <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i> ke dalam pCAMBIA1300	38
4.7	Hasil elektroforesis pemotongan dan penyambungan gen <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i> ke pCAMBIA1300	38
4.8	Peta konstruksi plasmid rekombinan yang tersisipi oleh gen <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i>	39
4.9	Perbandingan <i>Arabidopsis thaliana</i> tipe liar (WT) pada media padat AB mix dengan higromisin, tanpa higromisin, dan <i>A. thaliana</i> transgenik pada media dengan higromisin	40

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.

4.10	Hasil amplifikasi <i>multiplex-direct-PCR</i> fragmen gen <i>EgHd3a-1/EgHd3a-2</i> dan gen <i>AtAct</i> sebagai internal kontrol	40
4.11	Hasil analisis semi-kuantitatif PCR ekspresi gen <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i> pada <i>Arabidopsis thaliana</i> tipe liar dan galur transgenik	41
4.12	Perbandingan fenotipe antara <i>Arabidopsis thaliana</i> tipe liar, transgenik <i>EgHd3a-1</i> , dan <i>EgHd3a-2</i> pada 14 hari, 21 hari, dan 28 hari setelah ditanam	42
4.13	Pengamatan morfologi <i>Arabidopsis thaliana</i> panjang daun roset, jumlah daun roset, jumlah daun batang, dan jumlah bunga pada kontrol dan transgenik yang mengalami overekspresi <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i>	43
4.14	Perbandingan morfologi antara <i>Arabidopsis thaliana</i> tipe liar, transgenik <i>EgHd3a-1</i> , dan <i>EgHd3a-2</i> pada polong, bunga, dan pengujian daya tumbuh biji	44
5.1	Ilustrasi sederhana dari prekursor mRNA yang belum dipotong dari gen <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i>	50
5.2	Ilustrasi penyambungan alternatif dan spesimen mRNA pada gen <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i>	51
5.3	Hasil optimasi PCR untuk amplifikasi tiga spesimen mRNA dengan primer spesifik X1, X2, dan X3 pada suhu annealing yang berbeda	52
5.4	Lokasi penempelan primer pada fragmen gen <i>EgHd3a-1</i> spesimen X1, X2, dan X3	53
5.5	Lokasi penempelan primer pada fragmen gen <i>EgHd3a-2</i> spesimen X1 dan X2	54
5.6	Pola ekspresi <i>EgHd3a-1</i> X1, <i>EgHd3a-1</i> X2, dan <i>EgHd3a-1</i> X3	55
5.7	Pola ekspresi <i>EgHd3a-2</i> X1 dan <i>EgHd3a-2</i> X2	56
6.1	Hasil amplifikasi promotor <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i> dari DNA genom kelapa sawit dan koloni hasil kloning	63
6.2	Hasil analisis penyejajaran dari promotor <i>EgHd3a</i> dibandingkan dengan referensi genom	64
6.3	Fragmen hasil pemotongan vektor kloning dan vektor ekspresi serta hasil <i>direct PCR</i> dari koloni hasil ligasi	64
6.4	Peta plasmid pCAMBIA1300-p <i>EgHd3a-1-GUS</i> dan pCAMBIA1300-p <i>EgHd3a-2-GUS</i> serta letak situs pemotongan <i>AvrII</i> dan <i>BamHI</i>	65
6.5	Hasil uji histokimia GUS pada tanaman <i>Arabidopsis thaliana</i> dari umur 1-4 minggu	70
6.6	Hasil uji histokimia GUS pada pucuk, bakal bunga, daun <i>cauline</i> , bunga, buah dan akar pada fase reproduktif	71



7.1	Ilustrasi interaksi antar-residu asam amino pada FT, TFL, dan letak ketiga segmen penting pada protein PEBP	74
7.2	Model tolakan/kunci antara protein FT dan protein TFL dengan koaktivator dan korepresor	75
7.3	Lokasi ekspresi gen <i>EgHd3a-1</i> dan <i>EgHd3a-2</i> yang dominan pada tiap tahapan perkembangan kelapa sawit.	76
7.4	Model induksi pembungaan pada kelapa sawit	77
7.5	Model yang menjelaskan gen MADS-box untuk meregulasi struktur bunga kelapa sawit	79

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 LAMPIRAN

1	Sekuens gen <i>EgHd3a</i> -1 hasil kloning	100
2	Sekuens gen <i>EgHd3a</i> -2 hasil kloning	101
3	Sekuens gen promotor p <i>EgHd3a</i> -1 hasil kloning	102
4	Sekuens gen promotor p <i>EgHd3a</i> -2 hasil kloning	103

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.