



UNIVERSITAS PERTAHANAN REPUBLIK INDONESIA

**IDENTIFIKASI DAN ANALISIS EKSPRESI GEN TERKAIT
BIOSINTESIS GLIKOSIDA SIANOGENIK
MELALUI PENDEKATAN TRANSKRIPTOMIK
PADA *Mucuna pruriens*
GUNA Mendukung KEAMANAN PANGAN**

TIARA RAHAYU 320200301023

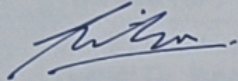
**Skripsi yang Ditulis untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam
Mendapatkan Gelar Sarjana**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM MILITER
PROGRAM STUDI BIOLOGI
BOGOR 2024**

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Tiara Rahayu
NIM : 320200301023
Program Studi : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer
Judul Skripsi : Identifikasi dan Analisis Ekspresi Gen Terkait
Biosintesis Glikosida Sianogenik melalui
Pendekatan Transkriptomik pada *Mucuna pruriens*
Guna Mendukung Keamanan Pangan

Dosen Pembimbing 1,



Dr. Rizky Dwi Satrio, S.Si., M.Si.
Penda Tk I III/b NIP. 199212062022031001
Tanggal: 03 Juli 2024

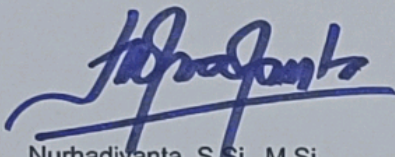
Dosen Pembimbing 2,



Dr. Isna Arofatur Nikmah, S.Si., M.Si.
Penda Tk I III/b NIP. 199206112022032001
Tanggal: 03 Juli 2024

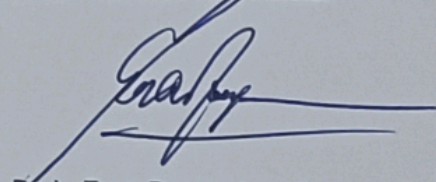
Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Biologi



Nurhadiyanta, S.Si., M.Si.
Kolonel Ckm. NRP. 32987
Tanggal: 03 Juli 2024

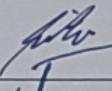
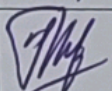
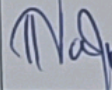
Dekan Fakultas MIPA Militer



Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si.
Pembina Utama Muda IV/c
Tanggal: 03 Juli 2024

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Tiara Rahayu
NIM : 320200301023
Program Studi : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer
Judul Skripsi : Identifikasi dan Analisis Ekspresi Gen Terkait
Biosintesis Glikosida Sianogenik melalui
Pendekatan Transkriptomik pada *Mucuna pruriens*
Guna Mendukung Keamanan Pangan

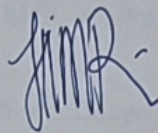
No.	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Dosen Pembimbing I: Nama: Dr. Rizky Dwi Satrio, S.Si., M.Si Penda Tk. I III/b NIP. 199212062022031001		01/24/07
2.	Dosen Pembimbing II: Nama: Dr. Isna Arofatus Nikmah, S.Si., M.Si Penda Tk. I III/b NIP. 199206112022032001		01/24/07
3.	Dosen Penguji I: Nama: Dr. Miftahul Huda Fendiyanto, S.Si., M.Si Penata III/c NIP. 199212022022031002		01/24/07
4.	Dosen Penguji II: Nama: Nabila Swarna Puspa Hermana, S.Si., M.Si. Penda Tk.I III/b NIP. 199404272022032003		25/06/24

PERNYATAAN ORIGINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan jenjang apapun di suatu Perguruan Tinggi; dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat istilah, frasa, kalimat, paragraf, subbab atau bab dari karya yang pernah ditulis atau diterbitkan; kecuali yang secara tertulis diajukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Referensi.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa terdapat plagiat dalam skripsi ini, saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan/undang-undang yang berlaku.

Bogor, 25 Juni 2024



Tiara Rahayu

320200301023

KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penyusunan skripsi dengan judul “Identifikasi dan Analisis Ekspresi Gen Terkait Biosintesis Glikosida Sianogenik melalui Pendekatan Transkriptomik pada *Mucuna pruriens* Guna Mendukung Keamanan Pangan” dapat diselesaikan.

Penyusunan skripsi ini ditujukan sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi Fakultas MIPA Militer Universitas Pertahanan RI.

Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu, pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Ence Darmono Jaya Supena, M.Si., selaku Dekan Fakultas MIPA Militer.
2. Kolonel Ckm. Nurhadiyanta, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Biologi.
3. Dr. Rizky Dwi Satrio, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Pertama Skripsi.
4. Dr. Isna Arofatus Nikmah, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Kedua Skripsi.
5. Dr. Miftahul Huda Fendiyanto, S.Si., M.Si., Dr. rer. nat Mo Awwanah, S.Si., M.Sc, dan Nabila Swarna Puspa Hermawan, S.Si., M.Si., selaku tim penguji seminar proposal, seminar hasil dan sidang skripsi.
6. Kementerian Pertahanan RI (Kemhan RI) atas beasiswa pendidikan selama penulis menjalani studi sarjana.
7. Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) dan Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) melalui skema Riset dan Inovasi untuk Indonesia Maju (RIIM) Kompetisi Gelombang 2 yang diberikan kepada Dr. Rizky Dwi Satrio, S.Si., M.Si., atas bantuan pembiayaan penelitian skripsi.

8. Keluarga besar Prodi Biologi Fakultas MIPA Militer, Teman seperjuangan Nara Ankasa Batalyon Cohort 1 dan Tim Mucuna yang ikut mendukung selama penelitian berlangsung.

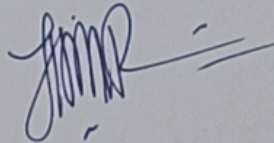
9. Keluarga besar dan orang tua peneliti yang ikut memberikan do'a dan motivasi selama belajar dan berlatih di Universitas Pertahanan RI.

Semoga Allah SWT membalas kebaikan-kebaikan berbagai pihak atas bantuannya.

Saya menyadari bahwa skripsi ini masih kurang sempurna, oleh karena itu dengan kerendahan hati mengharapkan kritik dan saran yang konstruktif demi kesempurnaan skripsi ini.

Akhirnya, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat terhadap pengembangan ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi masyarakat, dalam upaya mewujudkan eksplorasi sumber daya alam dan optimalisasi biodiversitas di Indonesia. Semoga penelitian ini juga dapat menjadi inspirasi bagi penelitian-penelitian selanjutnya dalam bidang yang sama, serta mendukung upaya peningkatan keamanan pangan dan kesejahteraan masyarakat.

Bogor, 01 Juli 2024



Tiara Rahayu

ABSTRAK

IDENTIFIKASI DAN ANALISIS EKSPRESI GEN TERKAIT BIOSINTESIS GLIKOSIDA SIANOGENIK MELALUI PENDEKATAN TRANSKRIPTOMIK PADA *Mucuna pruriens* GUNA MENDUKUNG KEAMANAN PANGAN

Mucuna pruriens termasuk anggota keluarga Fabaceae yang tersebar luas, khususnya di Indonesia. Penelitian sebelumnya menunjukkan pemanfaatan *M. pruriens* dalam pengobatan berbagai penyakit. *Mucuna pruriens* sangat berpotensi sebagai sumber pangan fungsional karena memiliki kandungan protein yang cukup tinggi. Keberlanjutan pemanfaatan tanaman ini masih terbatas karena kandungan antigizi senyawa glikosida sianogenik yang bersifat toksik. Pengetahuan tentang gen terkait biosintesis glikosida sianogenik pada *M. pruriens*, hingga saat ini belum terkarakterisasi. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi gen-gen yang terlibat dalam biosintesis glikosida sianogenik, menentukan lokus pada genom *M. pruriens* dan menganalisis tingkat ekspresi gen terkait biosintesis glikosida sianogenik pada organ daun dan biji pada *M. pruriens*. Metode perakitan de novo (Trinity dan rnaSPAdes) dan pemetaan berbasis referensi (HISAT2) pada data transkriptom digunakan untuk menganotasi genom dan mengidentifikasi gen yang terlibat dalam biosintesis glikosida sianogenik. Lokus gen-gen tersebut ditentukan berdasarkan kemiripan sekuen pada genom *M. pruriens* menggunakan BLAT. Analisis terhadap ekspresi gen dilakukan dengan RT-qPCR. Dalam penelitian ini ditemukan bahwa kandidat gen pengkode protein glikosida sianogenik pada *M. pruriens* yang sebanding dengan ortolog gen CYP79D71, CYP8E46/47, dan UGT85K31 pada *Phaseolus lunatus*. Analisis lokus gen-gen target pada genom *M. pruriens* menunjukkan bahwa gen UGT85K31 terletak di kromosom 4, CYP8E46/47 di kromosom 2, dan CYP79D71 di kromosom 1. Hasil analisis tingkat ekspresi gen menunjukkan 5–6 kali lipat lebih tinggi pada biji dibandingkan dengan daun. Penelitian ini mampu mengungkap regulasi biosintesis glikosida sianogenik untuk keberlanjutan pengembangan jenis *M. pruriens* sebagai sumber pangan fungsional yang aman.

Kata kunci: anotasi genom, glikosida sianogenik, *Mucuna pruriens*, transkriptomik

ABSTRACT

IDENTIFICATION AND ANALYSIS OF GENE EXPRESSION RELATED TO CYANOGENIC GLYCOSIDE BIOSYNTHESIS THROUGH TRANSCRIPTOMIC APPROACH ON *Mucuna pruriens* TO SUPPORT FOOD SAFETY

Mucuna pruriens is a member of the Fabaceae family widely distributed in Indonesia. Previous research has demonstrated the use of *M. pruriens* in the treatment of various diseases. *Mucuna pruriens* has significant potential as a source of functional food due to high protein content. However, the sustainable utilization of this plant is still limited due to the presence of antinutritional cyanogenic glycosides, which are toxic. Information about the genes involved in the biosynthesis of cyanogenic glycosides in *M. pruriens* has not yet been characterized. This study aims to identify the genes involved in the biosynthesis of cyanogenic glycosides, determine their loci in the *M. pruriens* genome, and analyze the expression levels of these genes in the leaves and seeds of *M. pruriens*. De novo assembly methods (Trinity and rnaSPAdes) and reference-based mapping (HISAT2) on transcriptome data were used to annotate the genome and identify genes involved in the biosynthesis of cyanogenic glycosides. The loci of these genes were determined based on sequence similarity in the *M. pruriens* genome using BLAT. Gene expression analysis was performed using RT-qPCR. This study identified candidate genes encoding cyanogenic glycoside-related proteins in *M. pruriens*, which are comparable to the orthologous genes CYP79D71, CYP8E46/47, and UGT85K31 in *Phaseolus lunatus*. Analysis of the loci of the target genes in the *M. pruriens* genome revealed that the UGT85K31 gene is located on chromosome 4, CYP8E46/47 on chromosome 2 and CYP79D71 on chromosome 1. Gene expression analysis showed that the expression levels in seeds were 5–6 times higher than in leaves. This research reveals the regulation of cyanogenic glycoside biosynthesis, supporting the sustainable development of *M. pruriens* species as a source of functional food.

Keywords: cyanogenic glycosides, genome annotation, *Mucuna pruriens*, transcriptomics

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN ORIGINALITAS.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Landasan Teori	4
2.2 Hasil Penelitian Terdahulu	10
2.3 Kerangka berpikir	13
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Metode dan Desain Penelitian.....	14
3.2 Alat dan Bahan.....	15
3.3 Prosedur Penelitian	16
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengolahan Data Sekuensing RNA.....	22
4.2 Ekspresi Gen Glikosida Sianogenik.....	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi pada <i>Mucuna pruriens</i>	4
Gambar 2.2 Struktur Kimia Senyawa Glikosida Sianogenik pada Famili Fabaceae	5
Gambar 2.3 Jalur Biosintesis Senyawa Glikosida Sianogenik	6
Gambar 2.4 Diagram Alur Penelitian.....	13
Gambar 3.1 Workflow Bioinformatika.....	15
Gambar 4.1 Distribusi Ukuran Sisipan Fastp	24
Gambar 4.2 Hasil Analisis Evaluasi Kelengkapan Transkrip dengan Busco	27
Gambar 4.3 Visualisasi Semi-Kuantitatif Konvensional PCR pada Sampel cDNA Daun dan Biji Aksesori Wonogiri	35
Gambar 4.4 Grafik Hasil Real-Time qPCR (RT-qPCR).....	37
Gambar 4.5 Visualisasi Rideogram Gen Terkait Biosintesis Glikosida Sianogenik	39
Gambar 4.6 Visualisasi Hasil Elektroforesis Gen Terkait Biosintesis Glikosida Sianogenik	40



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Studi Literatur Hasil Penelitian Terdahulu	11
Tabel 4.1 Hasil Analisis Fastp Terkait Jumlah Reads, Total Basa, Konten GC Sebelum dan Setelah Analisis Fastp.....	23
Tabel 4.2 Identifikasi Top hit Kandidat Gen Terkait Biosintesis Glikosida Sianogenik	29
Tabel 4.3 Hasil Desain Primer terkait Gen Biosintesis Glikosida Sianogenik pada <i>Mucuna pruriens</i>	31
Tabel 4.4 Anotasi Fungsional Gen Ortholog Glikosida Sianogenik pada <i>Mucuna pruriens</i>	32
Tabel 4.5 Pengukuran Kuantitas dan Kualitas Isolat RNA dan cDNA pada Biji dan Daun <i>Mucuna pruries</i>	34
Tabel 4.6 Perbandingan Antara Estimasi Gel PCR-elektroforesis (analisis ImageJ) dan RT-qPCR dengan Uji Wilcoxon	36
Tabel 4.7 Analisis BLAT terkait Gen Biosintesis Glikosida Sianogenik ..	38
Tabel 4.8 Skrining Hasil BLAT terkait Gen Biosintesis Glikosida Sianogenik	39



DAFTAR SINGKATAN



BLAST	: <i>Basic Local Alignment Search</i>
cDNA	: <i>Complementary DNA</i>
CDS	: <i>A Coding Sequence</i>
CRISPR	: <i>Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i>
CTAB	: <i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EDTA	: <i>Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid</i>
FPKM	: <i>Fragmen per Kilobase of Transcript per Million</i>
GFF3	: <i>General Feature Format 3</i>
HCN	: <i>Hidrogen Sianida</i>
LCC	: <i>Land Covering Crops</i>
L-DOPA	: <i>Levodopa</i>
NCBI	: <i>National Centre for Biotechnology Information</i>
ORF	: <i>Open Reading Frame</i>
SRA	: <i>Sequence Read Archive</i>
TPM	: <i>Transcript per million</i>
UTR	: <i>Untraslatable Region</i>
P450	: <i>Protein-protein sitokrom P450</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Visualisasi Data Pra-pemrosesan dengan FastQC ...	52
Lampiran 2 Hasil Visualisasi Data setelah Trimmomatic	54
Lampiran 3 Hasil Visualisasi Data Fastp.....	56
Lampiran 4 Raw data Hasil RT-qPCR.....	57
Lampiran 5 Hasil Visualisasi RT-qPCR	58



**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Pertahanan Republik Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Tiara Rahayu
NIM : 320200301023
Program Studi : Sarjana Biologi
Fakultas : FMIPA Militer
Jenis Karya : Skripsi

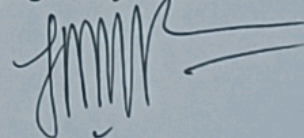
demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Pertahanan Republik Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Identifikasi dan Analisis Ekspresi Gen Terkait Biosintesis Glikosida Sianogenik melalui Pendekatan Transkriptomik pada *Mucuna pruriens* Guna Mendukung Keamanan Pangan

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Pertahanan Republik Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Bogor
Pada tanggal : 03 Juli 2024
Yang menyatakan



Tiara Rahayu
NIM. 320200301023