

SKRIPSI

KARAKTERISASI GEN CYTOCHROME OXIDASE SUBUNIT 1 (CO1) ELANG BRONTOK (*Nisaetus cirrhatus* Gmelin, JF, 1788) DAN ELANG JAWA (*Nisaetus bartelsi* Stresemann, 1924)

Disusun oleh:
Anna Puspa Amarta Saranti
NPM: 130801328



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017

**KARAKTERISASI GEN CYTOCHROME OXIDASE SUBUNIT 1 (CO1)
ELANG BRONTOK (*Nisaetus cirrhatus* Gmelin, JF, 1788) DAN
ELANG JAWA (*Nisaetus bartelsi* Stresemann, 1924)**

SKRIPSI

**Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh derajat Sarjana S-1**

Disusun oleh:
Anna Puspa Amarta Saranti
NPM: 130801328



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017**

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul

KARAKTERISASI GEN CYTOCHROME OXIDASE SUBUNIT 1 (CO1)
ELANG BRONTOK (*Nisaetus cirrhatus* Gmelin, JF, 1788) DAN
ELANG JAWA (*Nisaetus bartelsi* Stresemann, 1924)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Anna Puspa Amarta Saranti
NPM: 130801328

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada hari Senin, 17 Juli 2017
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

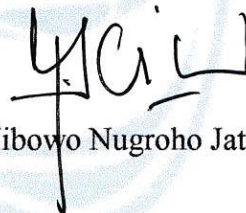
SUSUNAN TIM PENGUJI

Dosen Pembimbing Utama,



(Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si., Ph.D)

Dosen Penguji,



(Drs. A. Wibowo Nugroho Jati. M. S.)

Dosen Pembimbing Pendamping,



(Dr. Felicia Zahida, M.Sc.)

Yogyakarta, 31 Juli 2017

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

DEKAN,



(Drs. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc)

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anna Puspa Amarta Saranti

NPM : 130801328

Judul Skripsi : KARAKTERISASI GEN CYTOCHROME OXIDASE
SUBUNIT 1 (CO1) ELANG BRONTOK (*Nisaetus cirrhatus*
Gmelin, JF, 1788) DAN ELANG JAWA (*Nisaetus bartelsi*
Stresemann, 1924)

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan di dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata saya terbukti melanggar pernyataan saya tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, Juli 2017

Yang menyatakan



Anna Puspa Amarta Saranti

130801328

HALAMAN PERSEMBAHAN



KATA PENGANTAR

Segala syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena kemurahan dan berkat cintaNya yang menyertai penulis hingga dapat menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul Karakterisasi Gen CO1 (*Cytochrome Oxidase subunit 1*) Elang Brontok (*Nisaetus cirrhatus Gmelin, JF, 1788*) dan Elang Jawa (*Nisaetus bartelsi Stresemann, 1924*). Penulis juga menyadari banyak perpanjangan tangan Tuhan yang membantu dalam menyelesaikan naskah ini. Pada kesempatan yang baik ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Wanita tertegas dan bijaksana, ibuku Veronika Trimulat Silaningrum yang terus mendoakan dan memberi motivasi penulis, Andreas Suryoto ayahku, orang yang sangat murah hati, sangat dermawan dan baik hati yang menjadi panutan hidup penulis. Terimakasih juga atas telah memenuhi semua keperluan penulis agar tetap fokus dalam menyelesaikan studi ini.
2. Ibu Martowijoyo/Lidwina Sriwidatin mbahku, yang mendoakan penulis serta anak cucunya pada tiap pagi. Karena doamu, berkat-Nya terus menyertai penulis sepanjang hari.
3. Bapak Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si., Ph.D dosen terfavorit penulis. Karena bapak, dampingan, motivasi, saran dan masukannya, penulis dapat lebih gigih dalam melaksanakan penelitian ini.
4. Ibu Dr. Felicia Zahida, M.Sc, wanita dengan semangat tinggi namun terus memberi semangat pada anak didiknya tanpa mengenal kedekatan. Terus

hadir dalam beberapa kesempatan diskusi walaupun fisik yang kadang membatasi.

5. Professor Worawidh Wajjwalku, *my new grand daddy in Thailand. The kindest and warm-hearted person. Thank you for the pork feast that you gave to us, patience and knowledge that's precious to us. You and all that you give very helpful to the smoothness of research.*
6. Phi Nid, Phi Fai, Phi aom, Phi Art, Phi Bow, Phi Ploy, Phi Pueng *and all staff at Laboratory. Thank you for help us in the lab, meet the research needs, you make the days feel very relaxed. Hopefully we can meet again*
7. Segenap staf Tata Usaha Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta terutama mas Antok, Laboran Lab. Biologi molekuler yang telah membantu melancarkan administrasi penulis semenjak menjadi keluarga Fakultas Teknobiologi.
8. Segenap teman-teman “Sebut saja FTB 2013” yang telah menemani penulis selama beberapa tahun ini, terimakasih kerjasama dan kekeluargaan yang dibangun.
9. Teman-teman Skripsi “*Ojo Spaneng*”. Novia, Vera, Athalia, Cesil dan Lince. Terimakasih banyak untuk segala pengalaman keakraban yang dibangun. Pertemanan semakin dekat sejak kami disatukan dan tinggal bersama di Thailand. Terimakasih telah saling membantu, membagi informasi, dan saling memberi semangat. Terimakasih pula telah membangun pribadi penulis menjadi lebih baik dengan belajar dari kalian semua.

10. *Konco Kenthel Seneng Dolan*, membantu pecahkan stress dalam menyusun naskah ini. Terimakasih untuk setiap Touringnya, foto-foto yang berharga dan kenangan di Jogja.

11. Sebastianus Lino S B S. Sangat berharga telah mengenalmu, mengajarkan penulis akan pentingnya bersyukur telah mencapai tahap ini, membantu penulis pulang ke rumah saat kelelahan penelitian dan penyusunan naskah, serta mengajarkan ketenangan dalam menghadapi masalah.

12. Serta pribadi-pribadi dan kelompok penyemangat yang tidak bisa disebutkan satu persatu dan membantu perubahan pada penulis hingga membantu kelancaran penelitian ini.

Akhirnya penulis sadar akan adanya keterbatasan dan kekurangan. Semoga naskah skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan. Penulis capkan maaf atas segala kekurangan, semoga Tuhan Yesus senantiasa melimpahkan segala berkatNya pada kita semua.

Yogyakarta, Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
 I. PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang	1
B. Keaslian Penelitian.....	2
C. Rumusan Masalah.....	5
D. Tujuan	5
E. Manfaat	6
 II. TINJAUAN PUSTAKA	 7
A. Elang	7
1. Famili Accipitridae.....	7
2. Elang Brontok	11
3. Elang Jawa	12
4. Status Populasi Elang Indonesia	14
B. Keanekaragaman Genetik	14
C. DNA Barcoding CO1.....	16
D. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	18
1. Direct PCR	19
2. Primer CO1 dan Cyt-B.....	19
E. Uji Kuantitatif dan Kualitatif	21
F. Sekuensing	22
G. Bioinformatika	24
H. Hipotesis	25

III. METODE PENELITIAN.....	26
A. Tempat dan Waktu	26
B. Teknik Pengumpulan Data.....	26
C. Alat dan Bahan	26
D. Tahap Penelitian dan Cara Kerja	28
1. <i>Sampling</i>	28
2. Rilis DNA	28
3. Uji Kuantitatif	29
4. Amplifikasi <i>Direct</i> PCR.....	30
5. Uji Kualitatif	31
6. Persiapan Sekuensing.....	31
E. Pengolahan Data	33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
A. Rilis DNA	35
B. Amplifikasi	36
1. Amplifikasi dengan Primer L14731 dan H15454	37
2. Amplifikasi dengan Primer UniminibarF1 dan UniminibarR1	39
3. Amplifikasi dengan Primer BirdF1 dan BirdR1	40
4. Amplifikasi dengan Primer dgLCO1490 dan dgHCO2198	41
C. Karakter Sekuen.....	42
D. Rekonstruksi Filogenetik.....	46
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	53
A. Kesimpulan	53
B. Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	60

DAFTAR TABEL

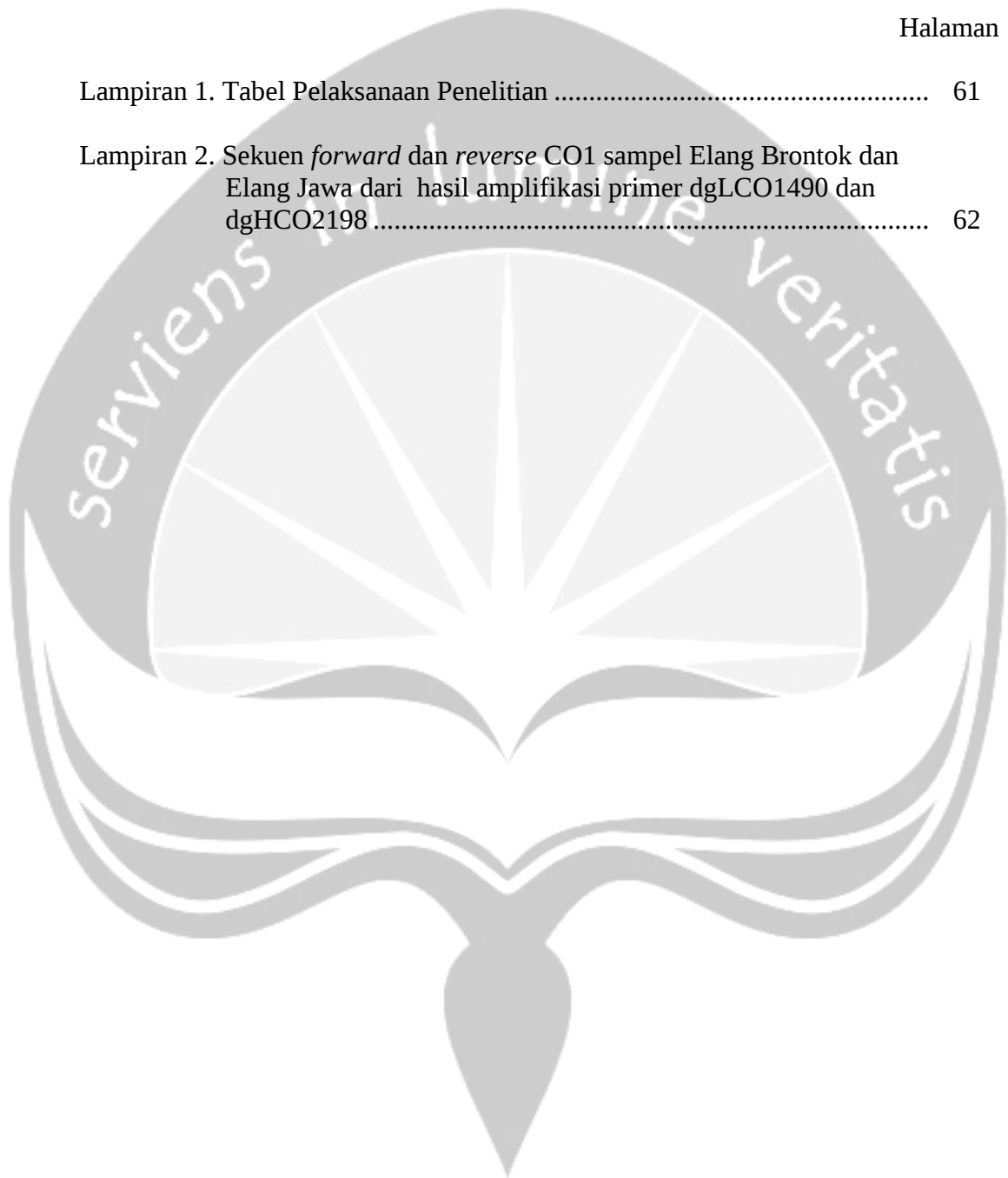
	Halaman
Tabel 1. Daftar Primer yang digunakan untuk uji kecocokan primer terhadap sampel	27
Tabel 2. Sampel Elang Jawa dan Elang Brontok pada penelitian ini.....	28
Tabel 3. PCR Mix Thermo Scientific Phire Animal Tissue Direct PCR kit 10 μ l.....	30
Tabel 4. Setting Thermal Cycler siklus tiga tahap	31
Tabel 5. PCR Mix Thermo Scientific Phire Animal Tissue Direct PCR kit 45 μ l.....	32
Tabel 6. Uji kuantitas DNA dari perendaman dengan <i>DNARElease Additive</i> dan Dilution buffer	35
Tabel 7. Uji Kuantitas DNA dilusi 1:10	36
Tabel 8. Matriks uji beberapa primer terhadap sampel Elang.....	37
Tabel 9. Komposisi basa nukleotida kelima sampel Elang Brontok.....	43
Tabel 10. Komposisi basa nukleotida kelima sampel Elang Jawa.....	43
Tabel 11. Jarak Genetik antar sampel Elang Brontok.....	43
Tabel 12. Spesies yang memiliki kemiripan tinggi berdasarkan BLAST.....	45
Tabel 13. Sekuen CO1 Accipitridae lainnya di Indonesia yang tersedia di beberapa sumber database.....	45
Tabel 14. Sekuen CO1 Nisaetus atau Spizaetus di Asia	46
Tabel 15. Jarak Genetik Elang Brontok, Elang Jawa dan Accipitridae lainnya serta spesies <i>outgroup</i> berdasarkan gen CO1	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kemungkinan filogeni maximum-likelihood yang disimpulkan dari urutan gen COI 629-bp	9
Gambar 2. Filogenetik Accipitridae berdasarkan sekuen cyt-b and ND2 dan inti b-fibrinogen intron 7	10
Gambar 3. Elang Brontok	11
Gambar 4. Elang Jawa.....	13
Gambar 5. Pemetaan genome pada DNA mitokondria Ayam (<i>Gallus gallus</i>) sama dengan Aves lainnya	17
Gambar 6. Primer L14731 yang digunakan untuk menentukan mtDNA cyt b oleh Glenn dkk. (2002)	19
Gambar 7. Keefektifan amplicon 130bp dibandingkan dengan 650bp CO1 .	20
Gambar 8. Visualisasi PCR Produk dengan primer L14731 dan H15454.....	37
Gambar 9. Visualisasi PCR Produk dengan primer Uniminibar.....	39
Gambar 10. Visualisasi PCR Produk dengan primer Bird F1 R1	40
Gambar 11. Visualisasi PCR Produk dengan primer dgLCO1490 dan dgHCO2198	41
Gambar 12. Topologi Filogenetik Elang Brontok dengan spesies <i>outgroup</i> ...	47
Gambar 13. Topologi Filogenetik Genus <i>Nisaetus</i> atau <i>Spizaetus</i> berdasarkan sekuen CO1 dengan metode <i>maximum-likelihood</i> ...	48
Gambar 14. Topologi filogenetik metode <i>Maximum Likelihood</i> berdasarkan DNA Barcode.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Tabel Pelaksanaan Penelitian	61
Lampiran 2. Sekuen <i>forward</i> dan <i>reverse</i> CO1 sampel Elang Brontok dan Elang Jawa dari hasil amplifikasi primer dgLCO1490 dan dgHCO2198	62



INTISARI

Burung merupakan satu kelas klasifikasi yang telah banyak diteliti dan menghasilkan wawasan mengenai evolusi, spesisasi dan biologi populasi. Dari kemudahan tersebut, burung menjadi kelas yang cocok untuk eksplorasi ketepatan dan kemampuan barcode. Banyaknya informasi yang dapat diperoleh dari kajian molekuler barcode menjadi awal tujuan penelitian ini mengkaji Elang Brontok dan Elang Jawa. Kajian tersebut mencakup pada pengaruh *morph* Elang Brontok serta karakteristik, variasi dan kekerabatan dari Elang Brontok dan Elang Jawa. Penelitian ini memanfaatkan gen CO1 (cytochrome oxidase-1) dari DNA mitokondria sebagai gen penanda. Gen yang dapat ditemui di hampir semua spesies hewan ini diambil dari sampel darah dikertas saring dan diamplifikasi menggunakan metode PCR Direct dari protokol *Phire Animal Tissue Direct PCR kit* dengan beberapa primer yaitu L14731-H15454; BirdF1-BirdR1; dgLCO1490-dgHCO2198; serta UniminibarR1-UniminibarF1 sebagai uji kecocokan primer. Keempatnya mampu mengamplifikasi DNA Elang dengan salah satu primer yakni UniminibarR1-UniminibarF1 tidak mengamplifikasi pada panjang fragmen target yang diinginkan. Hasil menunjukkan Elang Jawa tidak terdapat variasi gen. Disamping Elang Jawa, penelitian ini juga menunjukkan hasil bahwa terdapat Elang Brontok memiliki variasi gen dengan jarak 0,015 dari perbandingan *morph* yang berbeda, sedangkan *morph* yang sama memiliki jarak genetik 0,001. Pohon filogenetik direkonstruksi dengan metode *Maximum Likelihood* pada program Mega6 dengan hasil *N. cirrhatus* berkelompok dengan *morph* yang sama dan *S. phillipensis* sebagai sister spesies-nya. Sedangkan *N. bartelsi* berkerabat dengan *N. nipalensis*.

Kata Kunci : Filogenetik, *Nisaetus cirrhatus limnaetus*, *Nisaetus bartelsi*, Elang Brontok, sekuensing, PCR, Elang Jawa, PCR Direct, konservasi genetik