

SKRIPSI

DESAIN DAN UJI PRIMER SPESIFIK UNTUK IDENTIFIKASI JENIS TIKUS PADA FESES GARANGAN JAWA (*Herpestes javanicus*)

Disusun oleh :

Stephanie Rani Tiurma Siregar
NPM : 150801617



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul:

DESAIN DAN UJI PRIMER SPESIFIK UNTUK IDENTIFIKASI JENIS TIKUS PADA FESES GARANGAN JAWA (*Herpestes javanicus*)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

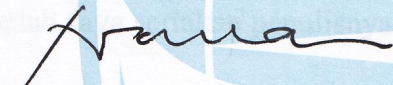
Stephanie Rani Tiurma Siregar
NPM: 150801617

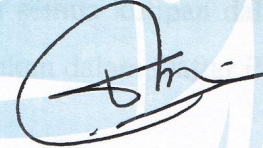
Telah diuji dan dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada hari Selasa, tanggal 15 Oktober 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

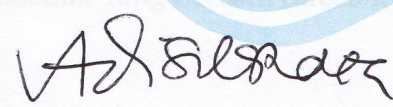
Pembimbing Utama

Anggota Tim Penguji


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


(Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si)

Pembimbing Pendamping


(Dr. rer. nat. Sena Adi Subrata, S.Hut, M.Sc.)

Yogyakarta, 31 Oktober 2019
UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,


(Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si)

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Stephanie Rani Tiurma Siregar

NPM : 150801617

Judul Skripsi : Desain dan Uji Primer Spesifik untuk Identifikasi Jenis Tikus pada Feses Garangan Jawa (*Herpestes javanicus*)

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan sejujur-jujurnya yang didasari norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan dalam skripsi ini telah saya sertakan penulisnya dan telah saya cantumkan dalam Daftar Pustaka.

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

Yogyakarta, 18 Oktober 2019

Yang menyatakan



Stephanie Rani Tiurma Siregar
150801617

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Yesus Kristus, karena atas berkat dan kasih karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi dengan judul “Uji Primer Spesifik untuk Identifikasi Jenis Tikus pada Feses Garangan Jawa (*Herpestes javanicus*)”. Naskah skripsi ini disusun berdasarkan hasil pengambilan data di laboratorium dan analisis menggunakan beberapa parameter. Penelitian dan naskah skripsi ini disusun guna memenuhi syarat untuk menyelesaikan Program Studi S-1 bagi penulis.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa selesainya penelitian dan naskah skripsi ini berkat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama penelitian skripsi penulis yang telah membuka jalan dalam penelitian, memberikan ide, saran, pendapat, semangat, ilmu, dan hal-hal lainnya yang sangat berarti bagi penulis mulai dari penyusunan proposal penelitian, penelitian, hingga tersusunnya naskah skripsi ini.
2. Bapak Dr. rer. nat. Sena Adi Subrata, S.Hut, M.Sc. selaku dosen pembimbing pendamping penelitian skripsi penulis yang telah membiayai penelitian, memberikan ide, saran, pendapat, semangat, ilmu, pengalaman, dan hal-hal

lainnya yang sangat berarti bagi penulis mulai dari penyusunan proposal penelitian, penelitian, hingga tersusunnya naskah skripsi ini.

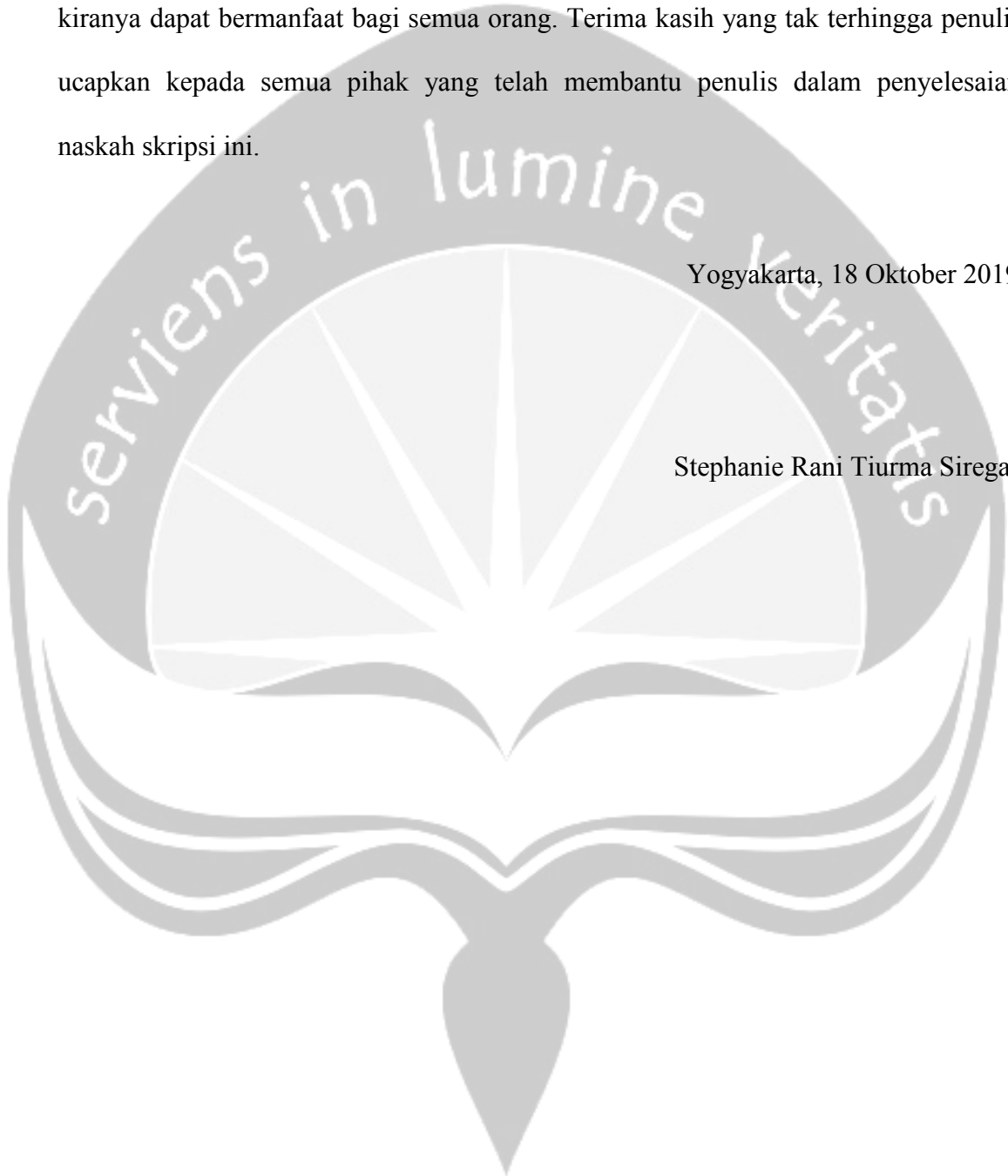
3. Ibu Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M. Si. selaku Dekan Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta serta selaku dosen penguji penelitian skripsi penulis yang memberikan koreksi dan masukan yang berarti untuk penulisan naskah skripsi ini.
4. Dosen dan Staf Tata Usaha Fakultas Teknobiologi yang telah membantu selama proses perkuliahan.
5. Kepala Laboratorium dan Staf Laboratorium Satwa Liar Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada yang telah membantu penulis dalam penelitian.
6. Kedua orang tua penulis yang telah berusaha memberikan yang terbaik untuk pendidikan anaknya, melalui doa, bantuan finansial, waktu, dukungan, dan semuanya yang bisa diberikan kepada penulis. Serta kepada kedua adik penulis yang telah mendoakan, mengingatkan, menemani, menghibur, dan mendukung penulis.
7. Joice yang berperan sebagai *partner*, *support system*, dan “*alarm*” terbaik dalam semua kegiatan semasa perkuliahan dan sampai saat ini.
8. Eudina Dwihatmanti, Genna Surayal, Meyevlin Panggulu, dan Deborah Siagian sebagai sahabat yang senantiasa menemani, mendukung, mendoakan, mengorbankan, menghibur, dan membantu penulis.
9. Steven Tomi Panglamba sebagai sahabat berdebat terbaik yang mendukung penulis dengan caranya yang unik dan menyebarkan.

10. Regine Archadia Kinanti dan Andie Wijaya Saputra sebagai teman dan kakak tingkat yang senantiasa membimbing, membantu, menemani, dan mendengarkan keluh kesah selama proses penelitian berlangsung hingga penulisan naskah skripsi penulis selesai.
11. Asisten Teknologi DNA 2019, Regine Archadia K., Andie Wijaya S., Joice, dan Adam Harsono yang selalu mendukung dan bersedia meluangkan waktu untuk memberi kritik dan saran terhadap penelitian ini.
12. Mas Arbi dan Mbak Ida yang membantu dalam proses pengambilan sampel dan identifikasi tikus di Hutan Wanagama dan Hutan Wonosadi.
13. Hilmario, Krisna, Louis, Ayu, Sandy, Leo, Billy, Eva, Samuael, Jeffry, Dhanny, Vendra, dan Cipta sebagai teman Distrik 1 Sintang-Sekadau KKN 74 UAJY yang menjadi teman begobai, teman kepai-kepai, teman bercengkrama, teman cerita, dan teman berpetualang terbaik.
14. Khintan P. S., Ingrid Rosalia S., Caecilia Bkti, dan Pengurus Presidium Mahasiswa FTb 2017/2018 lainnya yang memberikan dukungan hingga proses penyelesaian naskah ini.
15. Patrisia Inggit, Eikel Sevania Br. Ginting, Meylica Dora Br. Tarigan, dan Joice sebagai *support system* dan geng merayakan segala perayaan (ulang tahun, ujian KP, seminar, dan ujian akhir) selama masa perkuliahan.
16. Teman-teman FTb angkatan 2015 yang saling mendukung selama perkuliahan di Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

Akhir kata penulis berharap agar naskah yang masih perlu disempurnakan ini kiranya dapat bermanfaat bagi semua orang. Terima kasih yang tak terhingga penulis ucapkan kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam penyelesaian naskah skripsi ini.

Yogyakarta, 18 Oktober 2019

Stephanie Rani Tiurma Siregar



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI... ..	xiv
I. V PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Keaslian Penelitian.....	4
C. Masalah Penelitian.....	7
D. Tujuan Penelitian.....	7
E. Manfaat Penelitian.....	7
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Analisis Pakan Garangan Jawa.....	8
B. Identifikasi Pakan.....	10
C. Deskripsi Tikus.....	12
D. Desain Primer Spesifik.....	14
E. Uji Primer Spesifik.....	20

F. Hipotesis.....	21
III. METODE PENELITIAN.....	23
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
B. Alat dan Bahan	23
C. Cara Kerja.....	24
1. Koleksi Sampel Feses Garangan Jawa.....	24
2. Koleksi Sampel Ekor Tikus sebagai Kontrol Positif.....	25
3. Isolasi dan Kuantifikasi DNA dari Sampel Feses Garangan Jawa....	27
4. Isolasi dan Kuantifikasi DNA dari Sampel Ekor Tikus sebagai Kontrol Positif.....	29
5. Desain Primer Spesifik.....	31
6. Uji <i>In Silico</i> dan Pemesanan Primer Spesifik.....	33
7. Optimasi dan Uji <i>In Vitro</i> Primer Spesifik dengan <i>Touchdown</i> PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>) terhadap DNA <i>Template</i> dari Kontrol Positif.....	34
8. Elektroforesis dan Visualisasi Amplikon dari Kontrol Positif.....	36
9. <i>Sequencing</i> DNA dan <i>Blasting</i> Amplikon dari Kontrol Positif.....	37
10. Uji <i>In Vitro</i> Primer Spesifik dengan <i>Touchdown</i> PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>) terhadap DNA <i>Template</i> dari Sampel Feses.....	37
11. Elektroforesis dan Visualisasi Amplikon dari Sampel Feses.....	38
12. <i>Re-amplification</i> Amplikon dari Sampel Feses Volume 40 µL.....	40
13. Elektroforesis dan Visualisasi Hasil <i>Re-amplification</i> Amplikon dari Sampel Feses.....	40
14. <i>Sequencing</i> DNA dan <i>Blasting</i> Hasil <i>Re-amplification</i> Amplikon dari Sampel Feses.....	41

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
A. Kuantifikasi Hasil Isolasi DNA.....	42
B. Desain Primer Spesifik.....	46
C. Uji <i>In Silico</i> Desain Primer Spesifik.....	54
D. Uji <i>In Vitro</i> Desain Primer Spesifik Menggunakan <i>Touchdown</i> PCR dan <i>Sanger Sequencing</i>	58
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	67
A. Simpulan.....	67
B. Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA.....	69
LAMPIRAN.....	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Bagian mangsa belum tercerna yang ditemukan dari sampel feses garangan jawa (<i>Herpestes javanicus</i>). (A) potongan tulang; (B) bulu burung; (C dan D) bagian serangga (Mahmood dan Adil, 2016).....	11
Gambar 2.	Primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> (Dale dan Scantz, 2007).....	15
Gambar 3.	<i>Cage trap</i>	26
Gambar 4.	Diagram skematik letak primer pada bagian gen <i>COI</i> heteroptera (Souza dkk., 2006). Keterangan: * = primer <i>forward</i> , ** = primer <i>reverse</i> , 1 = primer MMU, 2 = primer RTA, 3 = primer RTI, 4 = primer BIN, 5 = primer RAR.....	47
Gambar 5.	Struktur sekunder pada primer RTA <i>forward</i> (keterangan: A = primer <i>dimer</i> , B = <i>hairpin</i>).....	57
Gambar 6.	Hasil elektroforesis amplikon sampel feses garangan jawa dengan pasangan primer MMU dan RTA. Keterangan: LD = <i>ladder</i> 100 bp DNA <i>ladder</i> (SMOBiO), MMU = <i>Mus musculus</i> , RTA = <i>Rattus tanezumi</i>	60
Gambar 7.	Hasil elektroforesis amplikon sampel feses garangan jawa dengan pasangan primer RTI dan BIN. Keterangan: LD = <i>ladder</i> 100 bp DNA <i>ladder</i> (SMOBiO), RTI = <i>Rattus tiomanicus</i> , BIN = <i>Bandicota indica</i>	61
Gambar 8.	Hasil elektroforesis amplikon sampel feses garangan jawa dengan pasangan primer RAR. Keterangan: LD = <i>ladder</i> 100 bp DNA <i>ladder</i> (SMOBiO), RAR = <i>Rattus argentiventer</i>	61

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Profil Siklus <i>Touchdown</i> PCR	35
Tabel 2.	PCR <i>Set-Up</i> untuk DNA <i>Template</i> dari Kontrol Positif	36
Tabel 3.	PCR <i>Set-Up</i> untuk DNA <i>Template</i> dari Sampel Feses.....	38
Tabel 4.	Persiapan Amplikon dari Sampel Feses Sebelum Elektroforesis.....	39
Tabel 5.	PCR <i>Set-Up</i> untuk <i>Re-amplification</i> Amplikon dari Sampel Feses...	40
Tabel 6.	Kuantifikasi Hasil Isolasi DNA dari Feses Garangan Jawa Menggunakan Qubit Fluorometer 2.0.....	43
Tabel 7.	Kuantifikasi Hasil Isolasi DNA dari Kontrol Positif (Ekor Tikus) Menggunakan NanoVue Plus™.....	43
Tabel 8.	Hasil Desain Primer Spesifik Menggunakan Program SP-Designer.....	50
Tabel 9.	Hasil Uji <i>In Silico</i> Primer Spesifik.....	56
Tabel 10.	Hasil Analisis Sekuen Amplikon dari Kontrol Positif.....	64
Tabel 11.	Hasil Analisis Sekuen Amplikon dari Sampel Feses Garangan Jawa.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Sekuens DNA Dalam Mendesain Primer Spesifik Menggunakan SP <i>Designer</i> (<i>Specific Primer Designer</i>) V7.0.....	77
Lampiran 2.	Laporan Uji <i>In Silico</i> Menggunakan Primer-Blast NCBI terhadap Pasangan Primer MMU.....	80
Lampiran 3.	Laporan Uji <i>In Silico</i> Menggunakan Primer-Blast NCBI terhadap Pasangan Primer RTA.....	83
Lampiran 4.	Laporan Uji <i>In Silico</i> Menggunakan Primer-Blast NCBI terhadap Pasangan Primer RTI.....	85
Lampiran 5.	Laporan Uji <i>In Silico</i> Menggunakan Primer-Blast NCBI terhadap Pasangan Primer BIN.....	87
Lampiran 6.	Laporan Uji <i>In Silico</i> Menggunakan Primer-Blast NCBI terhadap Pasangan Primer RAR.....	89
Lampiran 7.	Morfologi Kontrol Positif <i>Bandicota indica</i>	91
Lampiran 8.	Morfologi Kontrol Positif <i>Rattus tanezumi</i>	92
Lampiran 9.	Morfologi Kontrol Positif <i>Rattus tiomanicus</i>	93
Lampiran 10.	Morfologi Kontrol Positif <i>Mus musculus</i>	94
Lampiran 11.	Hasil <i>Trimming</i> Sekuens DNA Amplikon dari Kontrol Positif...	95
Lampiran 12.	Hasil <i>Trimming</i> Sekuens DNA Amplikon dari Sampel Feses Garangan Jawa.....	96

INTISARI

Garangan jawa (*Herpestes javanicus*) memiliki peran sebagai agen pengendali biologi terhadap populasi tikus. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan garangan jawa sebagai agen pengendali biologi terhadap tikus adalah dengan mengkonfirmasi keberadaan tikus sebagai salah satu mangsa yang dimakan oleh garangan jawa. Jenis tikus yang dapat dikendalikan oleh garangan jawa dapat diketahui dengan melakukan identifikasi jenis tikus yang dimangsa garangan jawa menggunakan. Pendekatan molekuler menggunakan *single primer* dapat dilakukan untuk mengidentifikasi jenis tikus yang dimangsa garangan jawa. Penelitian ini bertujuan untuk mendesain dan menguji primer spesifik dalam mengamplifikasi gen *COI region 1* untuk identifikasi jenis tikus pada feses garangan jawa (*Herpestes javanicus*). Sampel yang digunakan pada penelitian ini berasal dari feses garangan jawa. Uji primer spesifik dilakukan untuk mengetahui spesifitas dan efisiensi dari desain primer spesifik, baik secara *in silico* maupun secara *in vitro*. Hasil desain primer spesifik menggunakan aplikasi SP-Designer V7.0 terdiri dari 5 pasang primer, primer MMU untuk *Mus musculus*, RTA untuk *Rattus tanezumi*, RTI untuk *Rattus tiomanicus*, BIN untuk *Bandicota indica*, dan RAR untuk *Rattus argentiventer*. Primer spesifik yang didesain secara *in silico* memiliki spesifitas yang baik (dari hasil *blast* diketahui primer dapat melekat tepat pada sekuen spesies target) tetapi efisiensi yang kurang baik (dapat membentuk struktur sekunder). Pengujian secara *in vitro* menggunakan *touchdown* PCR yang dilanjutkan dengan sekuensing memberikan kelima pasang primer spesifik dapat mengamplifikasi dan menghasilkan ampikon yang spesifik, sehingga menandakan secara *in vitro* primer spesifik memiliki spesifitas dan efisiensi yang baik.