

SKRIPSI

**KUALITAS DNA MEMBRAN CANGKANG TELUR MALEO
(*Macrocephalon maleo*) BERDASAR VARIASI METODE ISOLASI DNA**

**Disusun oleh:
Farika Regina
NPM: 160801727**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2022**

KUALITAS DNA MEMBRAN CANGKANG TELUR MALEO (*Macrocephalon
maleo*) BERDASAR VARIASI METODE ISOLASI DNA

SKRIPSI

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

Disusun oleh :
Farika Regina
NPM : 160801727



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2022

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul
**Kualitas DNA Membran Cangkang Telur Maleo (*Macrocephalon maleo*)
Berdasar Variasi Metode Isolasi DNA**

yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Farika Regina

NPM : 160801727

Konsentrasi Studi Teknobio – Lingkungan

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada hari Senin, 10 Oktober 2022

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

Disetujui oleh :

Dosen Pembimbing Utama,

Anggota Tim Penguji,

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

(apt. Stefani Santi. W. S. Farm., M. Biotech)

Dosen Pembimbing Pendamping,

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

Yogyakarta, 30 November 2022

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA

FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,

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

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama :Farika Regina

NPM :160801727

Judul Skripsi :KUALITAS DNA MEMBRAN CANGKANG TELUR MALEO
(*Macrocephalon maleo*) BERDASAR VARIASI METODE
ISOLASI DNA

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya sendiri dan saya susun dengan 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 tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, 30 November 2022

Yang menyatakan

Farika Regina

160801727

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan yang Maha Esa atas rahmat, berkat dan kasih karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikannya skripsi berjudul “Kualitas DNA Membran Cangkang Telur Maleo (*Macrocephalon maleo*) Berdasar Variasi Metode Isolasi” yang merupakan salah satu syarat kelulusan studi Strata 1 di Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Pengerjaan dan penulisan skripsi ini tercapai karena adanya bantuan, bimbingan dan dukungan berbagai pihak sehingga penulis berterimakasih kepada:

1. Bapak Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si, Ph.D sebagai dosen pembimbing utama yang telah bersabar membimbing, mendukung, mengkritik, memberi masukan dan membantu penulis selama penelitian dilakukan dan naskah disusun hingga selesainya skripsi ini.
2. Ibu Dr. Dra. Exsyupransia Mursyanti, M.Si selaku dekan Fakultas Teknobiologi dan dosen pembimbing pendamping yang juga dengan murah hati membimbing, mendukung, mengkritik dan membantu penulis selama penelitian dilakukan dan naskah disusun hingga selesainya skripsi ini.
3. Ibu apt. Stefani Santi. W. S. Farm., M. Biotech selaku dosen penguji yang dengan sabar membimbing, mengkritik dan membantu penulis selama revisi naskah ini.
4. Seluruh dosen Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah membimbing dan memberikan ilmu sehingga penulis dapat menulis naskah skripsi.

5. Pak Antok selaku staf laboratorium molekuler karena telah membimbing, membantu dan mendukung penulis selama penelitian dilakukan.
6. Saras, Karen dan Claudia atas dukungan dan tempat berbagi cerita mulai dari masa perkuliahan hingga selesainya naskah ini.
7. Novi dan Ignas sebagai rekan penelitian molekuler serta Ko Adam dan Grace yang telah mendukung dan membagi pengalaman selama penelitian dan penulisan naskah.
8. Penulis sendiri karena tidak menyerah disaat situasi menjadi sulit dan percaya pada kemampuan penulis sehingga dapat meraih gelar sarjana.

Dalam pembuatan, penulis menyadari bahwa naskah Skripsi ini memiliki kekurangan dan jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap semoga naskah Skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Yogyakarta, 30 November 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN DEPAN.....	i
PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
INTISARI.....	x
<i>ABSTRACT</i>	xi
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Maleo sekanwor (<i>Macrocephalon maleo</i>).....	6
B. Sumber DNA.....	8
C. Metode Isolasi DNA.....	11
D. Kualitas DNA.....	14
E. Analisis DNA.....	15
F. <i>Cytochrome C Oxydase Subuanalinit 1</i>	17
G. Hipotesis.....	18
III. METODE PENELITIAN.....	19
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	19
B. Alat dan Bahan.....	19
C. Cara Kerja.....	20
1. Pemilihan Sampel.....	20

2. Ekstraksi gSYNC™ DNA Extraction Kit	20
3. Ekstraksi CTAB.....	21
4. Kuantifikasi DNA.....	22
5. Elektroforesis.....	23
6. Amplifikasi.....	25
7. Sequencing.....	25
8. BLAST.....	25
IV. HASIL PEMBAHASAN.....	27
A. Kualitas dan Konsentrasi DNA.....	27
B. COI Barcoding.....	33
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	35
A. Simpulan.....	35
B. Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. <i>Master Mix</i> PCR.....	25
Tabel 2. Siklus PCR.....	25
Tabel 3. Kualitas dan Konsentrasi DNA Membran Cangkang Telur Maleo Bersih dengan dua metode ekstraksi yang berbeda.....	27
Tabel 4. Kualitas dan Konsentrasi DNA Membran Cangkang Telur Maleo Kotor	29



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Telur Maleo.....	9
Gambar 2. Sekuen <i>COI</i> Maleo.....	18
Gambar 3. Elektroforesis Sampel Kotor Hasil Isolasi gSYNC	30
Gambar 4. Elektroforesis Sampel Bersih Hasil Isolasi gSYNC.....	31
Gambar 5. Sampel Cangkang Telur Maleo.....	32
Gambar 6. Sampel Cangkang Maleo Bersih dan Kotor.....	32
Gambar 7. Hasil Sekuensing <i>COIF</i> Sampel Kotor 7.....	33
Gambar 8. Hasil Sekuensing <i>COIF</i> Sampel Kotor 10.....	33
Gambar 9. Hasil Sekuensing <i>COIR</i> Sampel Kotor 10.....	33
Gambar 10. Visualisasi Gel Sekuensing Sampel Cangkang Telur Maleo.....	34

INTISARI

Macrocephalon maleo adalah aves endemik Sulawesi yang mengubur telurnya dalam tanah. Kondisi ini menyebabkan tertariknya warga untuk mengambil telur dan dijual atau dikonsumsi sehingga populasi maleo berkurang. Upaya konservasi maleo telah dilakukan dan analisis molekuler adalah salah satunya. Analisis molekuler memerlukan sumber DNA yang baik sehingga didapatkan hasil analisis yang akurat. Cangkang telur maleo merupakan sumber genetik yang mudah didapat tetapi dengan kondisinya yang terkubur dalam tanah menjadikan DNA dari membran cangkang telur (MCT) sukar untuk diisolasi. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan 2 metode isolasi DNA berdasar kualitas serta kuantitas DNA hasil isolasi sehingga dapat digunakan untuk analisis molekuler seperti *barcoding*. Kit komersil (gSYNC™ *DNA Extraction Kit*) dan modifikasi CTAB dipilih untuk mengisolasi DNA dari 30 sampel MCT maleo yang telah dikategorikan menjadi sampel bersih dan sampel kotor berdasar banyaknya kotoran yang menempel pada cangkang telur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kit komersil (gSYNC™ *DNA Extraction Kit*) memberikan kualitas dan kuantitas DNA hasil isolasi yang lebih baik dibanding modifikasi CTAB. Untuk menguji lebih lanjut kelayakan DNA dari kit komersil, *barcoding COI* dilakukan dan setelah dilakukan blast, DNA yang diisolasi merupakan DNA dari *Macrocephalon maleo*.

ABSTRACT

Macrocephalon maleo is an endemic bird to Sulawesi that buries its eggs under the ground. This prompts people to take those eggs for economic or personal benefit, hence the decrease in maleo population. Maleo conservation efforts have been carried out and molecular analysis is one such effort. Molecular analysis requires a suitable DNA source so accurate analysis results can be obtained. Maleo eggshell is an easily acquired genetic source, but it being buried makes it difficult to isolate an uncontaminated DNA from the eggshell membrane (ESM). This study's aim is to compare 2 DNA isolation methods based on the quality and quantity of isolated DNA for a result that can be used for molecular analysis such as barcoding. A commercial kit (gSYNCTM DNA Extraction Kit) and modified CTAB were selected to isolate DNA from 30 maleo ESM samples, which were categorized into clean samples and dirty samples based on the amount of dirt attached and brown discoloration on the eggshell. Results showed that the commercial kit (gSYNCTM DNA Extraction Kit) provided better quality and quantity of isolated DNA than the modified CTAB. To further test the feasibility of DNA isolation from commercial kits, CO1 barcoding was performed. After blasting, the isolated DNA was found to be DNA from *Macrocephalon maleo*.