

SKRIPSI

**PENGGUNAAN METODE *MOLECULAR SEXING* UNTUK PENENTUAN
JENIS KELAMIN BURUNG JALAK BALI (*Leucopsar rothschildi*)**

Disusun oleh:

Putu Indra Pramana Wirastika

NPM : 080801055



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

2013

**PENGUNAAN METODE *MOLECULAR SEXING* UNTUK PENENTUAN
JENIS KELAMIN BURUNG JALAK BALI (*Leucopsar rothschildi*)**

SKRIPSI

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

Disusun oleh:

Putu Indra Pramana Wirastika

NPM : 080801055



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

2013

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul

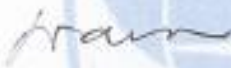
PENGUNAAN METODE *MOLECULAR SEXING* UNTUK PENENTUAN
JENIS KELAMIN BURUNG JALAK BALI (*Leucopsar rothschildi*)

yang dipersiapkan dan disusun oleh:
Putu Indra Pramana Wirastika
NPM : 080801055

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada hari Jumat, tanggal 17 Mei 2013
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

Pembimbing Utama,


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

Anggota Tim Penguji,


(Dra. Yunkarti Aida, M.S.)

Pembimbing Kedua,


(Dr. Felicia Zahida, M.Sc.)

Yogyakarta, 31 Juli 2013

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI



Dekan,


Drs. A. Wibowo Nugroho Jati, M.S.

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Putu Indra Pramana Wirastika

N P M : 080801055

Judul Skripsi : PENGGUNAAN METODE *MOLECULAR SEXING*
UNTUK PENENTUAN JENIS KELAMIN
BURUNG JALAK BALI (*Leucopsar rothschildi*)

Pembimbing : 1. Ir. Ignatius Pramana Yuda, M.Si, Ph.D.

2. Dr. Felicia Zahida, M.Sc.

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar asli hasil karya saya sendiri dan disusun berdasarkan norma akademik.

Apabila dikemudian hari ternyata terdapat bukti yang memberatkan bahwa karya tersebut bukan karya saya sendiri atau sebagai hasil plagiarism, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai peraturan yang berlaku di Fakultas Teknobiologi, berupa pencabutan predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya.

Yogyakarta, 31 Juli 2013

Yang menyatakan,



Putu Indra Pramana Wirastika

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur serta terima kasih penulis haturkan kepada Sang Hyang Widhi Wasa yang senantiasa melindungi, menyertai dan membimbing penulis dalam penyusunan naskah skripsi yang berjudul “Penggunaan Metode *Molecular Sexing* Untuk Penentuan Jenis Kelamin Burung Jalak Bali (*Leucopsar rothschildi*)”.

Banyak pihak yang mendukung dan membantu penulis dalam proses penyusunan naskah skripsi ini. Oleh karena itu dalam kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Drs. A. Wibowo Nugroho Jati, M.S. selaku Dekan Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah banyak memberikan saran, dukungan demi tersusunnya skripsi ini.
2. Bapak Ir. Ignatius Pramana Yuda, M.Si, Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan saran, dukungan dan bersedia meluangkan waktu demi tersusunnya skripsi ini.
3. Ibu Dr. Felicia Zahida, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan saran, dukungan dan bersedia meluangkan waktu demi tersusunnya skripsi ini.
4. Ibu Dra. Yuniarti Aida, M.S. selaku Dosen Penguji yang telah memberi banyak masukan dan saran untuk membantu penyusunan naskah skripsi ini.
5. Bapak, Ibu, Adik, dan semua keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan bantuan baik moral maupun materi.

6. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah mendanai penelitian ini.
7. Taman Nasional Bali Barat yang telah memberikan izin untuk melakukan pengambilan sampel
8. Nana P. Rukmana selaku Kepala Resort Pusat Penangkaran Jalak Bali Tegal Bunder Taman Nasional Bali Barat dan segenap pegawai dan staf Balai Taman Nasional Bali Barat khususnya Segenap pegawai dan Staf Resort yang telah membantu penulis dalam proses pengambilan sampel di Pusat Penangkaran Jalak Bali Tegal Bunder Taman Nasional Bali Barat.
9. Terima kasih Kak Elwin, Emma, Fendy, Mosses, Dara dan Sukma Pratiwi serta seluruh Angkatan 2008 Fakultas Teknobiologi UAJY yang membantu dan menyemangati penulis hingga skripsi ini selesai.
10. Mas Antok selaku laboran laboratorium Biologi Molekuler yang telah membantu selama penelitian.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa naskah skripsi ini jauh dari sempurna, oleh karenanya penulis sangat mengharapkan saran dan masukan untuk penyempurnaan naskah skripsi ini. Semoga naskah ini bermanfaat bagi pembaca.

Yogyakarta, 17 Mei 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Pernyataan Bebas Plagiarisme	iii
Kata Pengantar	iv
Daftar Isi	vi
Daftar Tabel	viii
Daftar Gambar	ix
Daftar Lampiran	x
Intisari	xi
I. Pendahuluan	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Keaslian Penelitian	3
C. Rumusan Masalah	4
D. Tujuan Penelitian	4
E. Manfaat Penelitian.....	5
II. Tinjauan Pustaka	6
A. Morfologi, Habitat, Kedudukan Taksonomi dan Perilaku Burung Jalak Bali (<i>Leucopsar rothschildi</i>)	6
B. Sifat Monomorfik pada Burung Jalak Bali (<i>Leucopsar rothschildi</i>)	9
C. Metode <i>Sexing</i> pada Burung Monomorfik	12
1. Identifikasi Jenis Kelamin dengan Metode Non Molecular ...	12
a. <i>Vent sexing</i>	12
b. Laparoskopi	13
c. <i>Sexing steroid</i> pada feses	13
d. <i>Karyotyping</i>	14
2. Identifikasi Jenis Kelamin dengan Metode Molekuler.....	14
a. <i>Random Amplified Polimorfic DNA (PCR-RAPD)</i>	15
b. Amplifikasi Loki Mikrosatelit	15
c. <i>Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)</i>	15
d. PCR sederhana/Primer <i>Sexing</i>	16
D. <i>Chromo-Helicase DNA-binding (CHD)</i>	16
III. Metode Penelitian	21
A. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	21
B. Alat dan Bahan	22
C. Tahap Penelitian dan Cara Kerja.....	22
1. Pengambilan Sampel Bulu Muda	22

	Halaman
2. Analisis Molekuler	24
a. Ekstraksi DNA	24
b. Amplifikasi	25
c. Elektroforesis dan Visualisasi Hasil Amplifikasi	28
1. Visualisasi Hasil Ekstraksi DNA	28
2. Hasil Visualisasi Amplifikasi DNA	29
3. Analisis Data dan Identifikasi Jenis Kelamin	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
A. Hasil Ekstraksi DNA Jalak Bali (<i>Leucopsar rothschildi</i>)	31
B. Amplifikasi DNA (<i>Leucopsar rothschildi</i>)	34
C. Visualisasi Hasil Produk Amplifikasi	38
V. SIMPULAN DAN SARAN	45
A. Simpulan	45
B. Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	51

DAFTAR TABEL

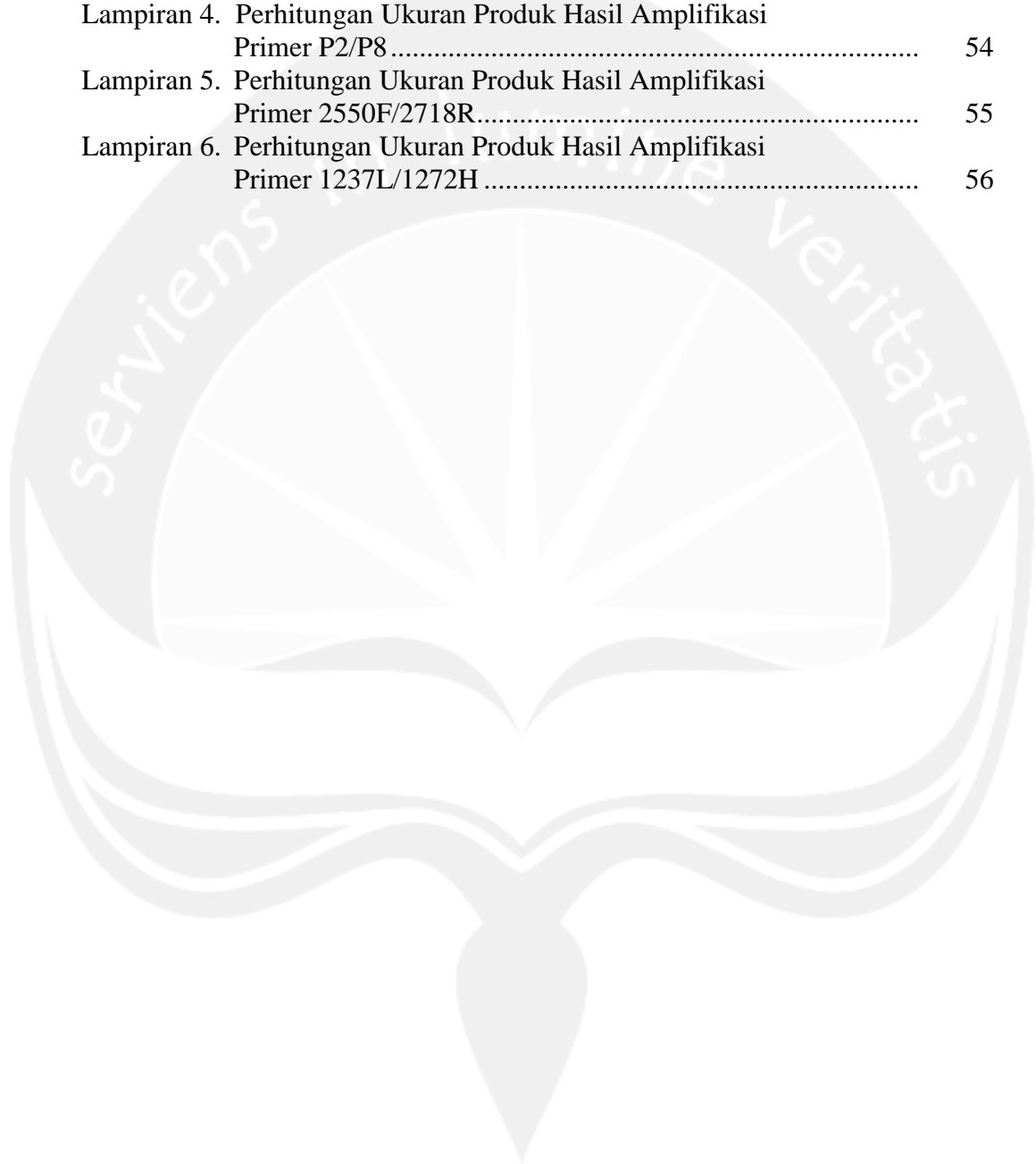
	Halaman
Tabel 1. Perbedaan burung Jalak Bali jantan dan betina usia dewasa	11
Tabel 2. Primer-primer identifikasi gen <i>CHD</i>	16
Tabel 3. Jenis Kelamin 30 individu burung Jalak Bali berdasarkan ciri Morfologi.....	21
Tabel 4. Tahapan dalam Program PCR pada primer P2/P8, 1237L/1272H dan 2550F/2718R.....	27
Tabel 5. Reagen (<i>Vivantis DNA Amplification kit</i>) yang digunakan dalam proses amplifikasi primer P2/P8.....	27
Tabel 6. Reagen (<i>Vivantis DNA Amplification kit</i>) yang digunakan dalam proses amplifikasi primer 1237L/1272H dan 2550F/2718R	28
Tabel 7. Perbandingan Identifikasi Secara Morfologi dan Hasil Identifikasi Secara Molekuler Dengan Primer P2/P8, 1237L/1272H dan 2550F/2718R.....	38
Tabel 8. Pengukuran Migrasi DNA <i>Ladder</i> Primer P2/P8	54
Tabel 9. Pengukuran Migrasi DNA <i>Ladder</i> 2550F/2718R.....	55
Tabel 10. Pengukuran Migrasi DNA <i>Ladder</i> 1237L/1272H	56

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Burung Jalak Bali (<i>Leucopsar rothschildi</i>).....	6
Gambar 2. Burung Jalak Bali (<i>Leucopsar rothschildi</i>) Jantan dan Betina	10
Gambar 3. Anakan Burung Jalak Bali (<i>Leucopsar rothschildi</i>)	12
Gambar 4. Letak perlekatan primer P2 dan P8 pada tikus, ayam, dan burung zebrafinch	17
Gambar 5. Letak Penempelan Primer 1237L dan 1272H.....	18
Gambar 6. Bulu burung Jalak Bali	23
Gambar 7. Bulu burung Jalak Bali dalam <i>Queens buffer Lysis</i>	23
Gambar 8. Hasil Ekstraksi DNA Burung Jalak Bali (<i>Leucopsar rothschildi</i>).....	31
Gambar 9. Hasil Purifikasi/Pemurnian Ulang Sampel DNA Ekstraksi...	33
Gambar 10. Hasil Ekstraksi Ulang DNA Sampel yang tidak berhasil dan Tipis	33
Gambar 11. Hasil optimasi visualisasi PCR menggunakan sampel dari spesies lain	35
Gambar 12. Hasil optimasi visualisasi PCR yang sudah optimal dari primer 2550F/2718R, 1237L/1272H, dan P2/P8.....	37
Gambar 13. Hasil Visualisasi PCR Primer 1237L/1272H, 2550F/2718R dan P2/P8.....	41
Gambar 14. Hasil Visualisasi Ulang PCR Primer 1237L/1272H,.....	42
Gambar 15. Hasil Visualisasi Primer P2/P8	51
Gambar 16. Hasil Visualisasi Primer 2550F/2718R.....	52
Gambar 17. Hasil Visualisasi Primer 1237L/1272H.....	53
Gambar 18. Migrasi DNA <i>Ladder</i> primer P2/P8.....	54
Gambar 19. Migrasi DNA <i>Ladder</i> primer 2550F/2718R	55
Gambar 20. Migrasi DNA <i>Ladder</i> primer 1237L/1272H.....	56

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Visualisasi Primer P2/P8	51
Lampiran 2. Hasil Visualisasi Primer 2550F/2718R.....	52
Lampiran 3. Hasil Visualisasi Primer 1237L/1272H.....	53
Lampiran 4. Perhitungan Ukuran Produk Hasil Amplifikasi Primer P2/P8	54
Lampiran 5. Perhitungan Ukuran Produk Hasil Amplifikasi Primer 2550F/2718R.....	55
Lampiran 6. Perhitungan Ukuran Produk Hasil Amplifikasi Primer 1237L/1272H	56



INTISARI

Penentuan jenis kelamin burung sejak anakan diperlukan untuk kepentingan konservasi. Burung Jalak Bali (*Leucopsar rothschildi*) yang pada usia anakan bersifat monomorfik sulit untuk dibedakan secara morfologi antara jantan dan betina, namun setelah dewasa bersifat dimorfik. Pendekatan molekuler (*molecular sexing*) menjawab permasalahan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan molekul primer yang paling efektif untuk mengidentifikasi jenis kelamin burung Jalak Bali. Metode yang digunakan adalah teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan tiga pasang primer spesifik yaitu primer P2/P8, primer 2550F/2718R dan primer 1237L/1272H, yang mengamplifikasi gen CHD (*chromo-helicase-DNA-binding*). Sampel DNA diperoleh dari 30 ekor bulu muda pada bagian sayap burung Jalak Bali. Bulu yang diperoleh merupakan bulu sayap sekunder dari burung Jalak Bali yang mengalami fase molting dengan skor 2. Metode ekstraksi DNA yang digunakan adalah metode *phenol chloroform extraction*. Hasil elektroforesis gel agarosa produk PCR menunjukkan bahwa ketiga primer bisa mengidentifikasi jenis kelamin burung Jalak Bali dengan tingkat keberhasilan yang berbeda. Berdasarkan jumlah sampel yang teramplifikasi, maka primer P2/P8 paling baik jika dibandingkan dengan primer lainnya. Tingkat keberhasilannya mencapai 90%. Sementara itu tingkat keberhasilan primer lainnya adalah 86,7% (2550F/2718R), dan 73,3% (1237L/1272H).