

**UJI EFEKTIFITAS GEN CHD SEBAGAI PENANDA
MOLEKULER UNTUK IDENTIFIKASI JENIS KELAMIN
PADA BURUNG AIR**

SKRIPSI

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

Disusun oleh:
Wahyu Wulansari
NPM: 090801110



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2013**

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul :
**UJI EFEKTIFITAS GEN CHD SEBAGAI PENANDA MOLEKULER UNTUK
IDENTIFIKASI JENIS KELAMIN PADA BURUNG AIR**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

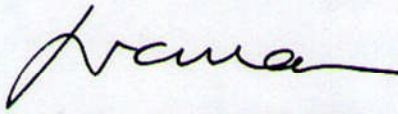
Wahyu Wulansari

NPM : 090801110

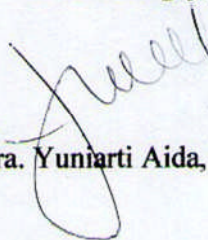
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada hari Kamis tanggal 15 Agustus 2013
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

Dosen Pembimbing Utama,


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

Dosen Penguji,


(Dra. Yuniarti Aida, M.S.)

Dosen Pembimbing Pendamping,

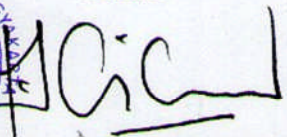

(Dr. Felicia Zahida, M.Sc.)

Yogyakarta, 30 Agustus 2013

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



Dekan


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

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda-tangan di bawah ini :

Nama : Wahyu Wulansari

Fakultas/Jurusan : Teknobiologi/ TeknobiologiLingkungan UAJY

NPM : 090801110

Judulskripsi : UJI EFEKTIFITAS GEN CHD SEBAGAI PENANDA
MOLEKULER UNTUK IDENTIFIKASI JENIS KELAMIN
PADA BURUNG AIR

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas benar-benar asli hasil karya saya sendiri dan disusun berdasarkan norma akademik. Apabila di kemudian hari ternyata terbukti sebagai plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku berupa pencabutan predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya.

Yogyakarta, 30 Agustus 2013

Yang menyatakan,



Wahyu Wulansari
090801110

PERSEMBAHAN

"Welcome to Molecular Jungle"

Pramana Yuda

Kupersembahkan karya ini:

**Bagi Tuhan Maha pemberi berkat, ucap syukurku atas
jalanMu bagiku.**

**Bagi Pak'e dan Buk'e yang telah bekerja keras dan
selalu penuh kasih.**

Bagi kakak dan saudara tercinta atas dukungannya.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan kepada Bapa di Surga atas kasih dan karunia yang begitu besar yang telah diberikan, sehingga terselesaikan naskah skripsi dengan judul "Uji Efektivitas Gen CHD Sebagai Penanda Molekuler untuk Identifikasi Jenis Kelamin pada Burung Air". Terimakasih pula kepada orang tua, dosen, dan teman-teman yang telah mendukung dan membantu dalam menyelesaikan naskah skripsi ini.

Dalam proses pembuatan laporan ini, tentunya penulis mendapatkan bimbingan, arahan, koreksi dan saran, dukungan dan motivasi untuk itu rasa terima kasih yang dalam penulis sampaikan kepada:

1. Drs. A. Wibowo Nugroho Jati, M.S. selaku Dekan Fakultas Teknobiologi yang telah menyetujui dan mengesahkan skripsi ini.
2. Orang Tua dan keluarga yang selalu memberi dukungan dan doa dalam menyusun naskah seminar.
3. Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si, Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan selama menyusun naskah skripsi.
4. Dr. Felicia Zahida, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah membantu dan mengarahkan dalam penyelesaian naskah skripsi .
5. Teman-teman PALAWA UAJY yang telah memberikan pengalaman berharga dan kebersamaannya. Teman-teman eks-student staff KPBB 2011/2012

atas persahabatan dan dukungan penuhnya, serta teman-teman di Fakultas Teknobiologi UAJY atas motivasinya bagi penulis.

6. Terkhusus sahabat-sahabat penulis, Ndari, Venny, Asri, Nana, Wina, Witra, Heru, Mega, Wiwik, Aya, Rully, Hendra, Putu, dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah mendukung penulis.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kesalahan dalam pembuatan naskah skripsi ini. Namun penulis berharap agar laporan naskah skripsi ini dapat memberi manfaat bagi para pembacanya. Terima kasih.

Yogyakarta, 30 Agustus 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iii
PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR SIMBOL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
 I. PENDAHULUAN	
A. Latar belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
 II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Sifat Monomorfik pada Burung.....	7
B. Identifikasi Jenis Kelamin pada Burung Monomorfik.....	8
C. Identifikasi Jenis Kelamin pada Burung dengan Metode <i>Molecular Sexing</i>	9
D. Burung air.....	14
E. Metode ekstraksi sampel.....	21
F. Keaslian penelitian.....	23
 III. METODE PENELITIAN	
A. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	24
B. Alat dan Bahan.....	24
C. Tahap Penelitian dan Cara Kerja	
1. Ekstraksi DNA.....	25

2. Kuantifikasi Hasil Ekstraksi.....	28
3. Amplifikasi DNA.....	28
4. Kuantifikasi Hasil Amplifikasi.....	29
5. Pengukuran Panjang Basa Pita DNA.....	30
6. Identifikasi Jenis Kelamin.....	31
7. Evaluasi Efektifitas Primer.....	32
 IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Ekstraksi DNA dan Kuantifikasi Hasil Ekstraksi.....	33
B. Amplifikasi DNA.....	39
C. Kuantifikasi Hasil Amplifikasi.....	39
D. Pengukuran Panjang Basa.....	46
E. Identifikasi Jenis Kelamin.....	49
F. Evaluasi Efektifitas Primer.....	49
 V. SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan.....	54
B. Saran.....	54
 DAFTAR PUSTAKA	56
 LAMPIRAN.....	60

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Tahapan dalam Program PCR bagi bagi masing-masing pasangan primer	29
Tabel 2. Hasil ekstraksi sampel darah burung air dengan metode PCE standar dan metode penggodokkan.....	33
Tabel 3. Hasil visualisasi amplifikasi dari masing-masing sampel ekstraksi PCE	45
Tabel 4. Kisaran ukuran dan selisih ukuran pita CHD-Z dan CHD-W dari kontrol positif Ayam	48
Tabel 5. Hasil penghitungan ukuran basa dan identifikasi jenis kelamin terhadap lima jenis sampel burung air berdasarkan grafik semilog.....	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Burung trinil pantai.....	17
Gambar 2. Burung trinil kaki merah.....	17
Gambar 3. Burung cerek jawa.....	18
Gambar 4. Burung berkik kembang besar..	19
Gambar 5. Burung kedidi leher merah.....	20
Gambar 6. Burung kedidi leher merah.....	20
Gambar 7. Ukuran masing-masing pita DNA Ladder VC 100 bp plus produksi Vivantis yang terbentuk dalam gel agarose 1%.....	30
Gambar 8. Grafik semilog yang terbentuk antara jarak migrasi pita dan Panjang basa pita DNA.....	31
Gambar 9. Visualisasi ekstraksi DNA burung air dengan metode <i>Phenol Chloroform Extraction</i> tahun 2009 dan 2013... ..	34
Gambar 10. Visualisasi ekstraksi DNA burung air dengan metode <i>Phenol Chloroform Extraction</i> tahun 2009.	34
Gambar 11. Visualisasi ekstraksi DNA burung air dengan metode <i>Phenol Chloroform Extraction</i> tahun 2013.....	35
Gambar 12. Visualisasi ekstraksi DNA burung air dengan metode <i>Phenol Chloroform Extraction</i> tahun 2013.....	35
Gambar 13. Hasil ekstraksi perebusan.....	37
Gambar 14. Hasil elektroforesis sampel dengan konsentrasi gel agarose 3%.....	40
Gambar 15. Hasil elektroforesis sampel dengan konsentrasi gel agarose 4%.....	40
Gambar 16. Hasil elektroforesis sampel dengank onsentration gel agarose 5%.....	41
Gambar 17. Hasil amplifikasi terhadap kontrol ayam.....	42
Gambar 18. Visualisasi hasil amplifikasi DNA trinil kaki merah.....	43

Gambar 19. Visualisasi hasil amplifikasi DNA cerek jawa.....	44
Gambar 20. Visualisasi hasil amplifikasi DNA trinil pantai.....	44
Gambar 21. Visualisasi hasil amplifikasi DNA kedidi leher merah	45
Gambar 22. Grafik semi-log bagi hasil amplifikasi DNA trinil merah dengan persamaan grafik $y = 37628x^{-1,30}$	46
Gambar 23. Grafik semi-log bagi hasil amplifikasi DNA cerek jawa dengan persamaan grafik $y = 15273x^{-1,08}$	47
Gambar 24. Grafik semi-log bagi hasil amplifikasi DNA trinil pantai dengan persamaan grafik $y = 27792x^{-1,2}$	47
Gambar 25. Grafik semi-log bagi hasil amplifikasi DNA kedidi leher merah dengan persamaan grafik $y = 10402x^{-1,51}$	48

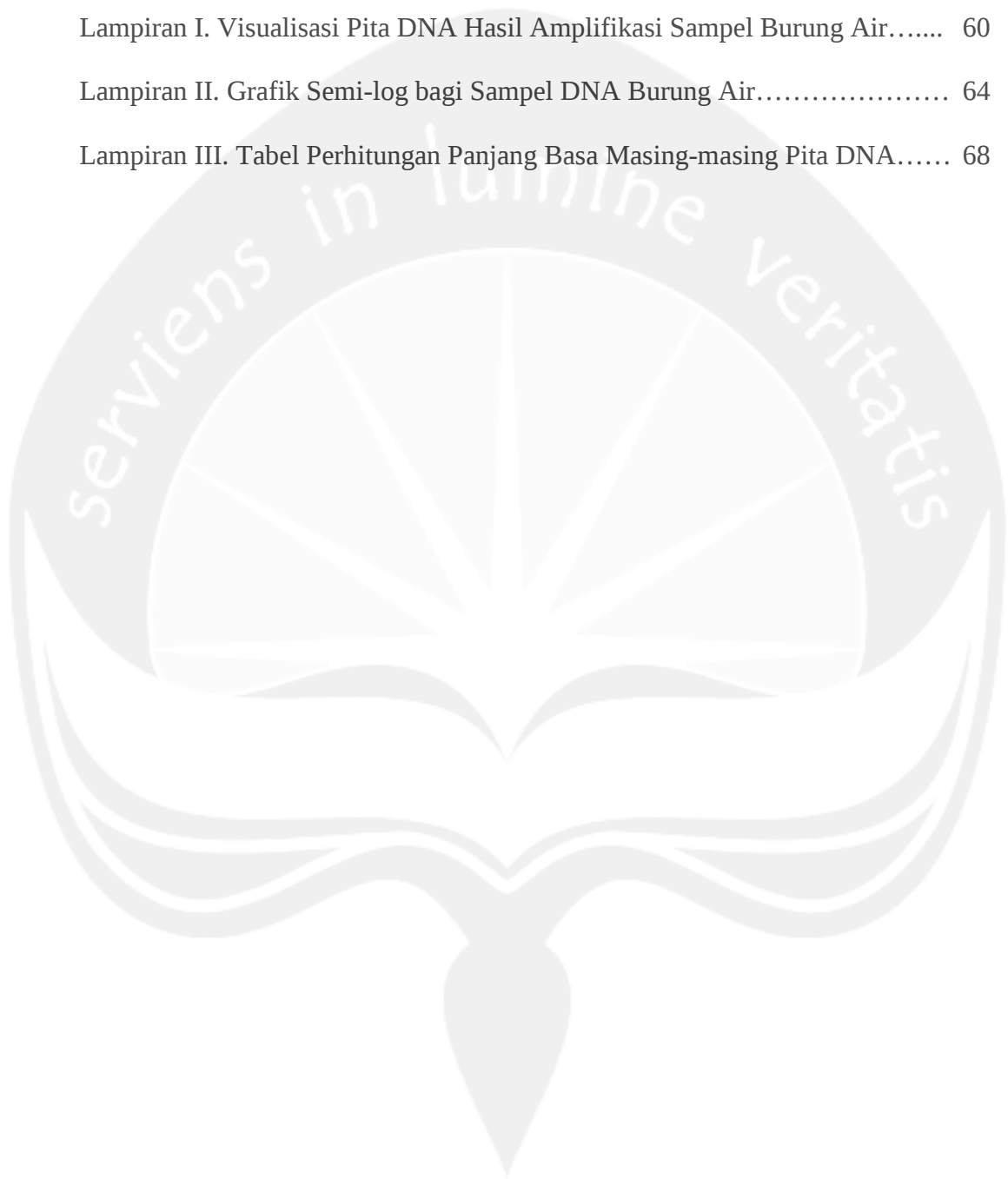
DAFTAR SIMBOL

I	= penggunaan pasangan primer P2P8
II	= penggunaan pasangan primer 1237L-1272H
III	= penggunaan pasangan primer 2550F-2718R
A.1	= WJ 1218 = sampel burung Trinil Kaki Merah
A.2	= WJ 1222 = sampel burung Trinil Kaki Merah
A.3	= WJ 1220 = sampel burung Trinil Kaki Merah
A.4	= WJ 1223 = sampel burung Trinil Kaki Merah
B.1	= WJ 1195 = sampel burung Berkik Kembang Besar
B.2	= BER 7 = sampel burung Berkik Kembang Besar
B.3	= BER 9 = sampel burung Berkik Kembang Besar
C.1	= 990 = sampel burung Bambang Kuning
C.2	= 989 = sampel burung Bambang Kuning
C.3	= BAMK4 = sampel burung Bambang Kuning
D.1	= CERJ 1 = sampel burung Cerek Jawa
D.2	= CERJ 3 = sampel burung Cerek Jawa
D.3	= CERJ 5 = sampel burung Cerek Jawa
E.1	= TRIP 2 = sampel burung Trinil Pantai
E.2	= TRIP 3 = sampel burung Trinil Pantai
E.3	= TRIP 3 = sampel burung Trinil Pantai
E.4	= TRIP 4 = sampel burung Trinil Pantai
F.1	= AF 005 = sampel burung Kedidi leher Merah
F.2	= AF 003 = sampel burung Kedidi leher Merah
F.3	= (br) = sampel burung Kedidi leher Merah
♀	= AY ♀ = sampel kontrol Ayam betina
♂	= AY ♂ = sampel kontrol Ayam jantan
+	= jumlah genom total sedikit
++	= jumlah genom total cukup banyak
+++	= jumlah genom total banyak
-	= jumlah genom total tidak ada
Ldd	= Ladder <i>ladder</i> 100 bp

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran I. Visualisasi Pita DNA Hasil Amplifikasi Sampel Burung Air.....	60
Lampiran II. Grafik Semi-log bagi Sampel DNA Burung Air.....	64
Lampiran III. Tabel Perhitungan Panjang Basa Masing-masing Pita DNA.....	68



INTISARI

Lebih dari separuh jenis burung bersifat monomorfik. Identifikasi jenis kelamin sebagai informasi dasar penting kaitannya guna studi ekologi, perilaku, struktur populasi, sejarah hidup serta manajemen dan kepentingan konservasi. *Molecular sexing* berbasis DNA dapat digunakan untuk mengetahui jenis kelamin secara, cepat, tepat, dan murah. Gen penanda CHD (*chromo-helicase-DNA-binding*) umumnya menghasilkan dua pita pada betina (ZW), dan satu pita pada jantan, tetapi Dubiec (2006), menyatakan penentuan jenis kelamin lebih tepat dilakukan dengan menganalisis ukuran pita. Seiring perkembangannya, terdapat alternatif metode ekstraksi tanpa fenol-kloroform, dan beberapa alternatif primer bagi *molecular sexing*. Primer-primer yang telah digunakan untuk amplifikasi gen CHD antara lain pasangan P2-P8 (Griffiths dkk., 1998), 1237L-1272H (Khan dkk., 1998), serta 2550F-2718R (Fridolfson & Ellegren, 1999). Penelitian ini bertujuan menentukan primer yang paling efektif untuk mengidentifikasi jenis kelamin burung air dan membandingkan metode ekstraksi yang lebih efektif. Penelitian dilakukan pada Februari sampai Juni 2013 di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Atma Jaya Yogyakarta (UAJY). Dua kali ekstraksi dilakukan dengan metode PCE standar dan perebusan, kemudian divisualisasi pada agarose 0,8%, 100 V, selama 20 menit, dan dibandingkan. Hasil menunjukkan ekstraksi perebusan kurang efektif dibanding metode PCE standar. Hasil positif diamplifikasi dengan primer P2-P8, 1237L-1272H, dan 2550F-2718R, kemudian divisualisasi pada agarose 4%, 100 V, selama 90 menit. Panjang basa pita dihitung dengan grafik semilog guna identifikasi jenis kelamin. Rasio keberhasilan primer P2-P8 sebesar 87%, primer 1237L-1272H sebesar 100%, dan primer 2550F-2718R sebesar 87%. Pasangan primer P2P8 membentuk CHD-Z berukuran 307-356 bp dan CHD-W berukuran 337-384 bp. Pasangan primer 1237L-1272H membentuk CHD-Z berukuran 249-259 bp dan CHD-W berukuran 262-283 bp. Pasangan primer 2550F-2718R membentuk CHD-Z berukuran 533-643 bp dan CHD-W berukuran 338-446 bp. Kesalahan identifikasi terjadi pada hasil amplifikasi primer P2-P8 sebanyak 2 sampel dan primer 1237L-1272H 4 sampel. Kesalahan terjadi karena pita sulit dibedakan sebagai gen CHD-W atau CHD-Z. Pasangan primer 2550F-2718R efektif guna identifikasi dengan kesalahan identifikasi paling minim.

Kata Kunci : *Molecular sexing*, gen CHD, ekstraksi, primer, efektif, burung air.