

**KARAKTERISASI VARIASI GENETIK *Jatropha curcas* L. DENGAN
MENGUNAKAN MARKA MOLEKULAR *AMPLIFIED FRAGMENT
LENGTH POLYMORPHISM (AFLP)***



ANDREAS AGUSTIAN

0303040105



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN BIOLOGI

DEPOK

2008

**KARAKTERISASI VARIASI GENETIK *Jatropha curcas* L. DENGAN
MENGUNAKAN MARKA MOLEKULAR *AMPLIFIED FRAGMENT
LENGTH POLYMORPHISM (AFLP)***

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana sains**

**Oleh:
ANDREAS AGUSTIAN
0303040105**



DEPOK

2008

SKRIPSI : KARAKTERISASI VARIASI GENETIK *Jatropha curcas* L.
DENGAN MENGGUNAKAN MARKA MOLEKULAR
AMPLIFIED FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM
(AFLP)

NAMA : ANDREAS AGUSTIAN

NPM : 0303040105

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, 3 JULI 2008

Dr. WAHYU PURBOWASITO
PEMBIMBING I

RETNO LESTARI, M.Si.
PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana: 15 Juli 2008		
Penguji I	: Dr. Abinawanto	(.....)
Penguji II	: Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc.	(.....)
Penguji III	: Mega Atria, S.Si	(.....)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah karena anugerahNya, sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Wahyu Purbowasito selaku Pembimbing I dan Retno Lestari, M.Si. selaku Pembimbing II, yang telah memberikan kesempatan melakukan penelitian, serta senantiasa memberikan bimbingan, dukungan, waktu, dan ilmu kepada penulis sampai menyelesaikan skripsi ini.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dra. Setiorini, M.Kes. selaku Penasihat Akademis atas dukungan, saran, dan bimbingan selama penulis kuliah. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada seluruh dosen pengajar dan karyawan di Departemen Biologi FMIPA UI. Secara khusus penulis ucapkan terima kasih kepada Dr. Abinawanto selaku Ketua Departemen Biologi FMIPA UI, Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc. dan Mega Atria, S.Si. atas masukan dan kritikan terhadap penulisan skripsi ini, sehingga menjadi lebih baik.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Balai Pengkajian Bioteknologi BPPT Serpong yang telah mengizinkan penulis melaksanakan penelitian di Laboratorium Teknologi Gen, BPPT Serpong. Terima kasih kepada Dr. Irvan Faizal, M.Eng., atas kerja sama dan ilmu yang telah dibagikan kepada penulis selama melaksanakan penelitian. Terima kasih juga kepada segenap staf Laboratorium Teknologi Gen dan Laboratorium Bio Pharming (Kak

Sabar, Kak Doddy, Micho, Kak Ayu, Mas Nur Hadi) yang telah banyak membantu dan mendukung penulis. Terima kasih kepada rekan-rekan seperjuangan untuk Agung, Frans, dan Anggia K. atas persahabatan, dukungan, dan ilmu yang telah dibagikan kepada penulis.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan Biologi 2003 (GOTIG) atas kebersamaan yang dibangun bersama selama lima tahun, terutama kepada Agnes NADP, Anisa Emonita, Marsenia, Seto, Tisha, Erny Soraya, Lisda, dan Eva Oktarina. Terima kasih kepada rekan-rekan Biologi angkatan 2000--2006 atas pertemanannya sehingga membuat masa kuliah menjadi lebih berwarna dengan kehadiran kalian. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada David, Darryl, Abram, ko Chris, Irwanto, dan Natalia. Terakhir penulis berterima kasih banyak kepada Papa, Mama, Cici, dan li Lanny yang telah memberikan dukungan baik secara moril maupun materi kepada penulis.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk kemajuan negara Indonesia tercinta.

Penulis

2008

ABSTRAK

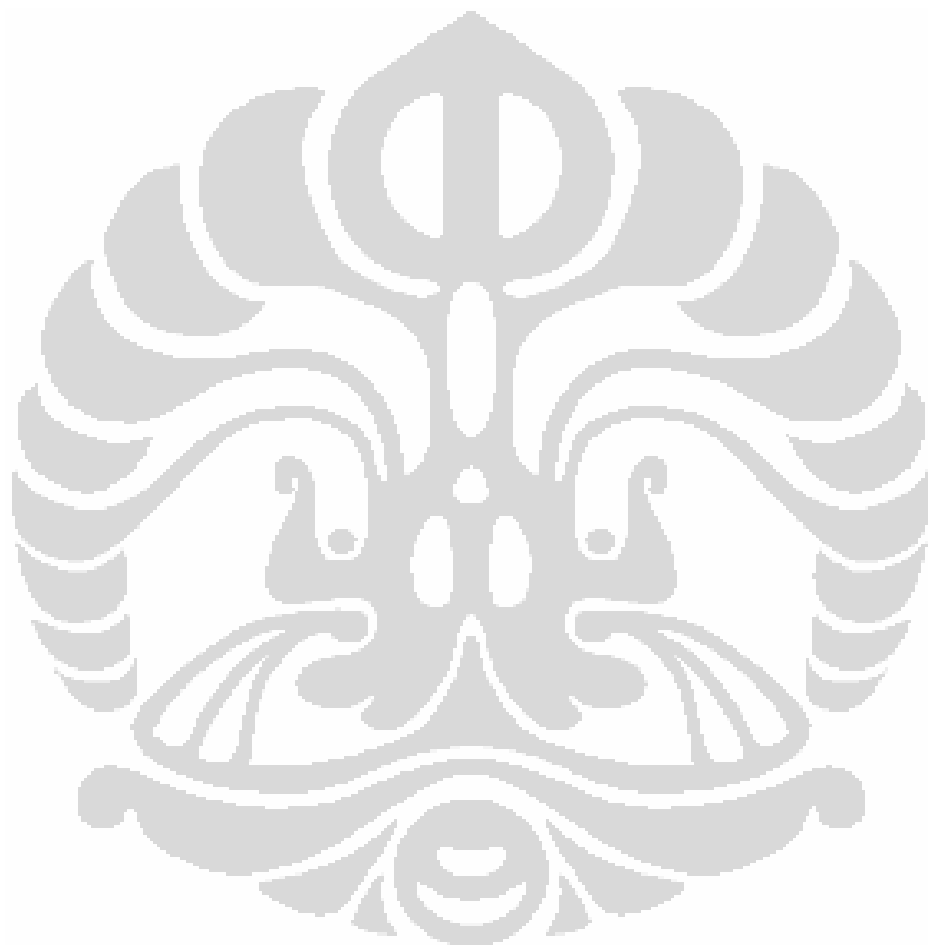
Telah dilakukan penelitian untuk melihat variasi genetik pada jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) yang berasal dari delapan daerah di Indonesia yaitu: Padang, Kupang, Merauke, Jayapura, Kendari, Tangerang, Gunung Kidul, dan Purwakarta. Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Gen, BPPT Serpong sejak bulan April 2007 sampai Mei 2008. Penelitian dilakukan sebagai langkah awal pencarian jarak pagar unggul dengan melihat variasi genetik menggunakan teknik *amplified fragment length polymorphism* (AFLP). Penelitian diawali dengan mengisolasi genom jarak, memotong DNA dengan dua enzim restriksi (*EcoRI* dan *MseI*), mengamplifikasi secara selektif dengan 16 pasang primer selektif, dan menjalankan ampikon pada elektroforesis gel poliakrilamid, kemudian mewarnai gel dengan perwarnaan silver. Ukuran hasil pita yang didapatkan berkisar antara 150--1.000 pb. Hasil pita yang didapatkan berjumlah 8.494 pita. Rata-rata persentase polimorfisme yang diperoleh adalah 63,76% dari 16 pasang primer yang menunjukkan adanya variasi genetik pada setiap sampel. Pita spesifik dimiliki oleh setiap sampel yang berjumlah 120 pita dan dapat digunakan sebagai marka identitas setiap sampel. Dendogram menunjukkan bahwa kelompok Padang dan Merauke dapat dibedakan dengan kelompok Kupang, Jayapura, Kendari, Tangerang, Gunung Kidul, dan Purwakarta. Kelompok Tangerang, Gunung Kidul, dan Purwakarta menunjukkan kelompok rendemen minyak terendah (19--20%).

Kata kunci: *amplified fragment length polymorphism* (AFLP); jarak pagar;

polimorfisme;

xi + 101 hlm.; gbr.; lamp.; tab.

Bibliografi : 51 (1963—2008)



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Jarak pagar (<i>Jatropha curcas</i> L.).....	5
B. <i>Amplified fragment length polymorphism</i> (AFLP).....	8
C. Variasi genetik.....	11
D. Teknik molekular.....	12
1. Isolasi DNA Genom.....	12
2. Digesti.....	13
3. <i>Polymerase chain reaction</i> (PCR).....	14
4. Elektroforesis gel poliakrilamid.....	15
5. Pewarna <i>silver</i>	16
E. Filogenetik.....	16
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA.....	18
A. Lokasi dan waktu penelitian.....	18

B. Bahan.....	18
1. Sampel.....	18
2. Bahan.....	18
a. Isolasi DNA.....	18
b. <i>Amplified fragment length polymorphism</i> (AFLP)...	19
c. Elektroforesis gel poliakrilamid.....	19
d. Pewarna <i>silver</i>	19
C. Peralatan.....	20
D. Cara kerja.....	21
1. Isolasi DNA genom.....	21
a. Isolasi DNA genom tanaman.....	21
b. Elektroforesis gel agarosa.....	23
2. <i>Amplified fragment length polymorphism</i> (AFLP).....	25
a. Digesti genom.....	25
b. Ligasi <i>adapter</i>	25
c. Preamplifikasi.....	26
d. Amplifikasi selektif.....	26
3. Analisis gel.....	27
a. Elektroforesis gel poliakrilamid.....	27
b. <i>Silver Staining</i>	29
4. Analisis Pita AFLP.....	30
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
A. Isolasi genom jarak pagar.....	32

B. <i>Amplified fragment length polymorphism</i> (AFLP) pada tanaman jarak pagar.....	35
C. Elektroforesis gel poliakrilamid 6% dan pewarna <i>silver</i>	37
D. Analisis pita AFLP jarak pagar.....	38
E. Analisis dendogram hasil pita-pita AFLP dengan metode <i>neighbor joining</i>	45
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
A. Kesimpulan.....	50
B. Saran.....	50
DAFTAR ACUAN.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagian-bagian tanaman jarak pagar.....	59
2. Potensi dan aneka kegunaan tanaman jarak pagar	60
3. Reaksi transesterifikasi	61
4. Diagram alur AFLP.....	62
5. Siklus Preamplifikasi	63
6. Siklus amplifikasi selektif	64
7. Skema kerja secara umum.....	65
8. Visualisasi isolasi genom jarak pagar	66
9. Bentuk <i>adapter Msel</i> dan <i>EcoRI</i>	67
10. Kerja enzim T4 ligase	67
11. Perlekatan primer selektif pada preamplifikasi dan amplifikasi selektif	68
12. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACA dan M-CTG	69
13. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACG dan M-CAC	70
14. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACG dan M-CAG	71
15. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-AAG dan M-CTA	72
16. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACG dan M-CTA	73

17. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACA dan M-CAC	74
18. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-AAG dan M-CAC	75
19. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-AAG dan M-CAG	76
20. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-AAG dan M-CTG	77
21. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACA dan M-CAG	78
22. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACA dan M-CTA	79
23. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACG dan M-CTG	80
24. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACT dan M-CAC	81
25. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACT dan M-CAG	82
26. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACT dan M-CTA	83
27. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACT dan M-CTG	84
28. Dendogram hasil pita-pita AFLP dengan nilai bootstrap pada setiap cabang	85

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perbandingan DNA jarak pagar hasil isolasi dengan marka λ <i>HindIII</i> ukuran 23.130 pb dan konsentrasi DNA sampel Padang, Kupang, Jayapura, Merauke, Kendari, Gunung Kidul, Tangerang, dan Purwakarta.....	87
2. Total DNA hasil isolasi per gram berat daun.....	88
3. Pengenceran genom jarak pagar menjadi 14 ng/ μ l.....	89
4. Jumlah pita DNA berdasarkan sampel dan primer.....	90
5. Jumlah baris yang umum, bersifat polimorfis, dan persentase baris polimorfis dari 16 pasangan primer.....	91
6. Jumlah pita DNA spesifik berdasarkan pasangan primer dan Sampel.....	92
7. Ukuran pita spesifik seluruh sampel dan pasangan primer (dalam pb).....	93

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan konsentrasi DNA sampel jarak pagar.....	97
2. Pengenceran genom sampel jarak pagar menjadi 14 ng/μl.....	98
3. Komposisi reaksi digesti sampel genom jarak pagar enzim <i>EcoRI</i> dan <i>MseI</i>	99
4. Komposisi reaksi ligasi sampel genom jarak pagar hasil digesti dengan enzim <i>EcoRI</i> dan <i>MseI</i>	99
5. Komposisi reaksi preamplifikasi.....	100
6. Kombinasi primer <i>EcoRI</i> dan <i>MseI</i>	100
7. Komposisi reaksi amplifikasi selektif.....	101