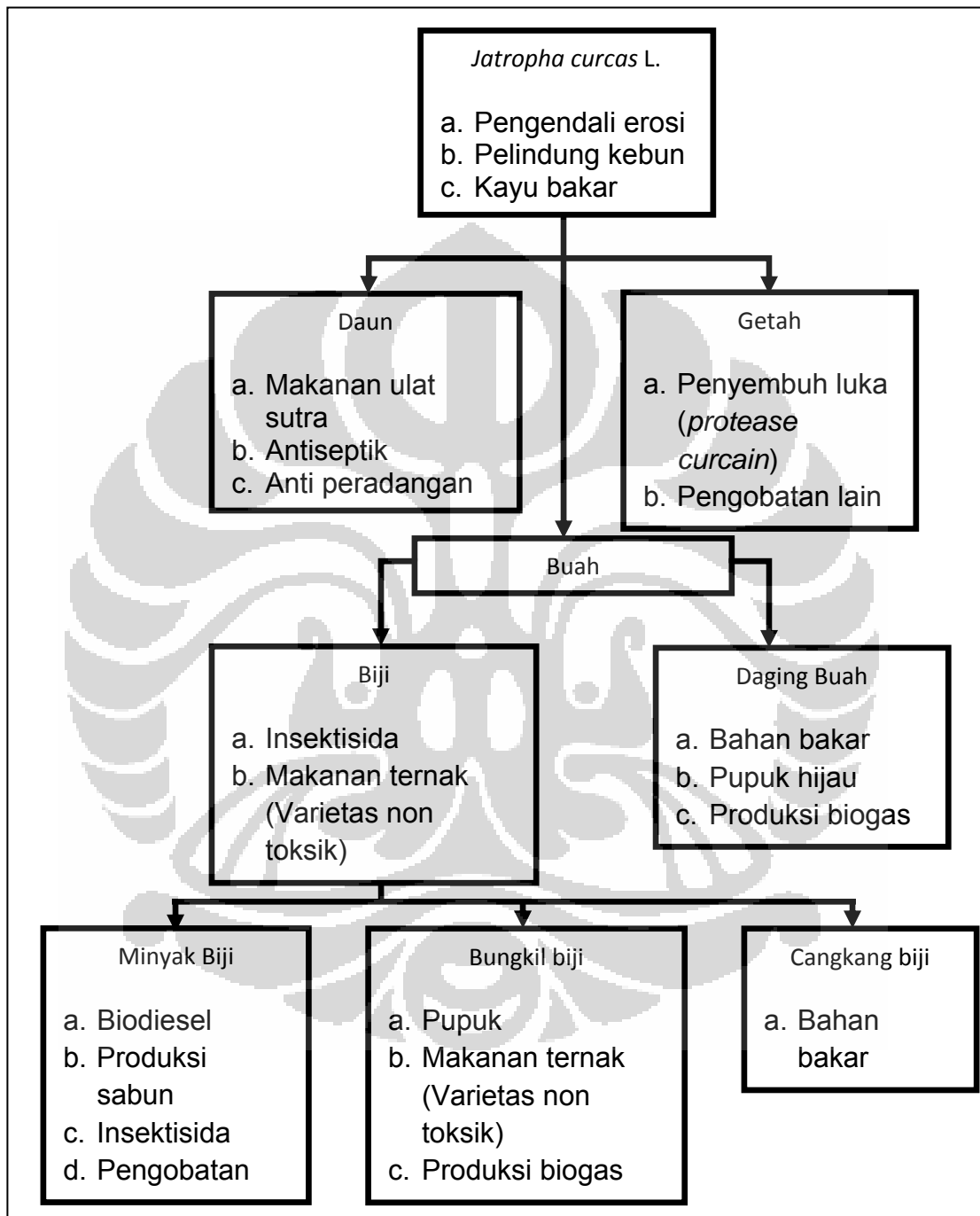
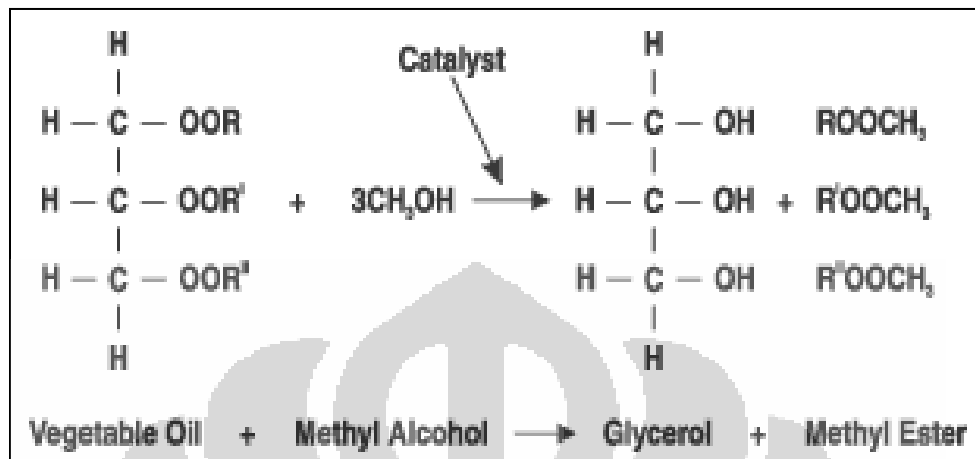


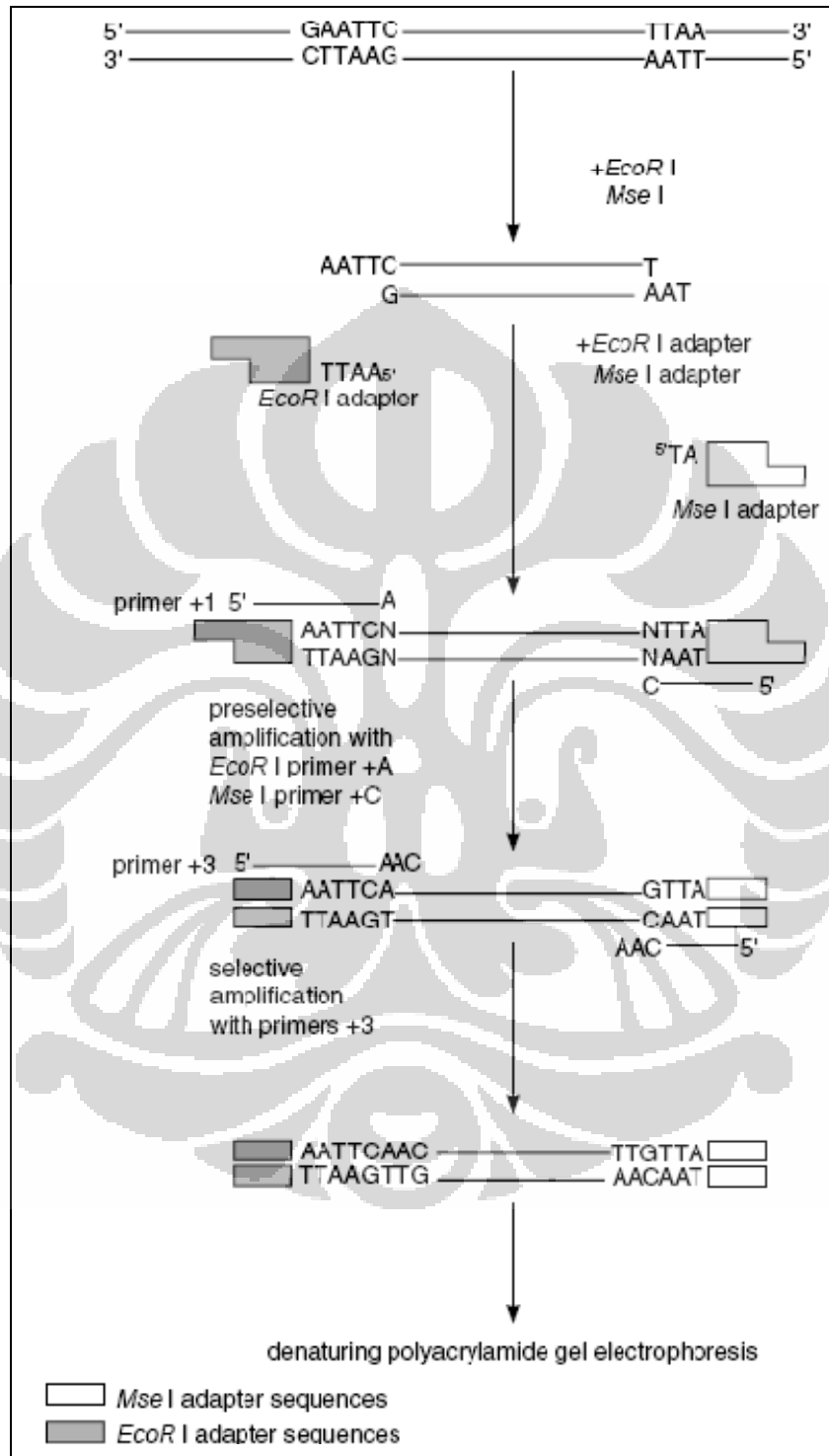
Gambar 1. Bagian-bagian tanaman jarak pagar [Sumber: Heller 1996: 11.]



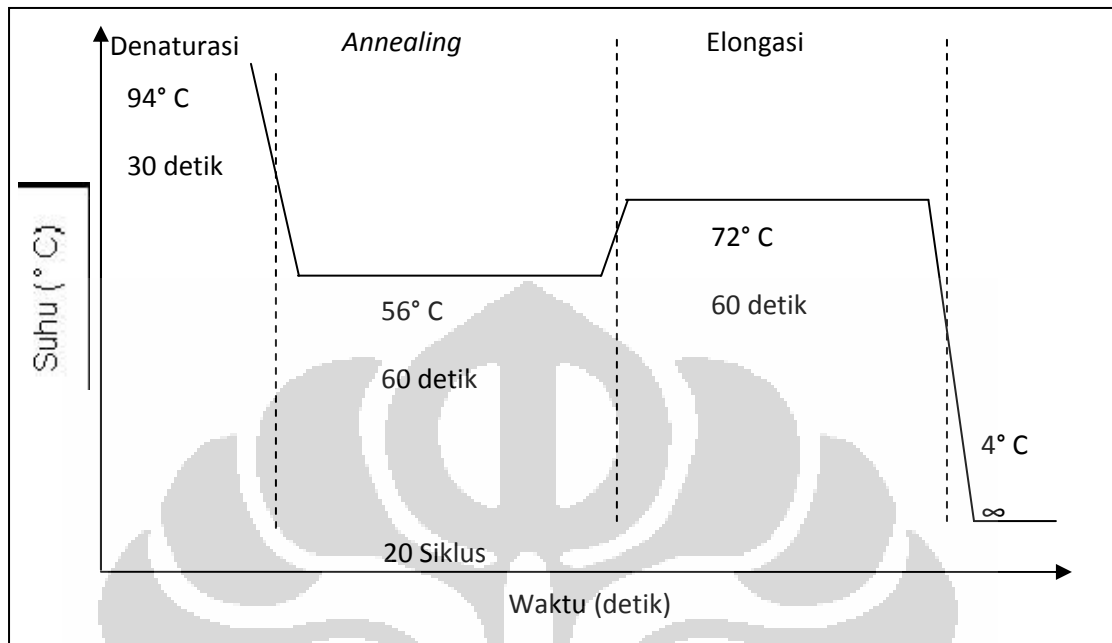
Gambar 2. Potensi dan aneka kegunaan tanaman jarak pagar
[Sumber: Gubitz *dkk.* 1999: 73.]



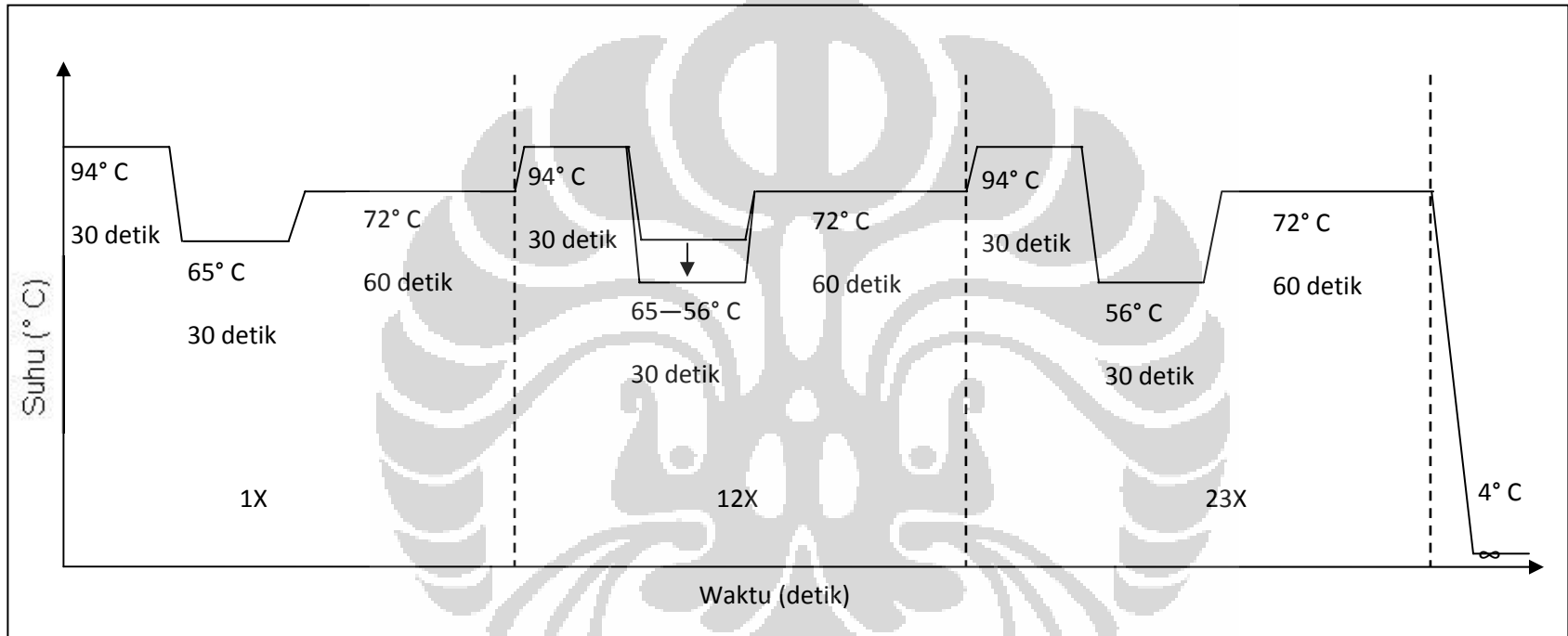
Gambar 3. Reaksi transesterifikasi [Sumber: Hofman 2003: 1.]



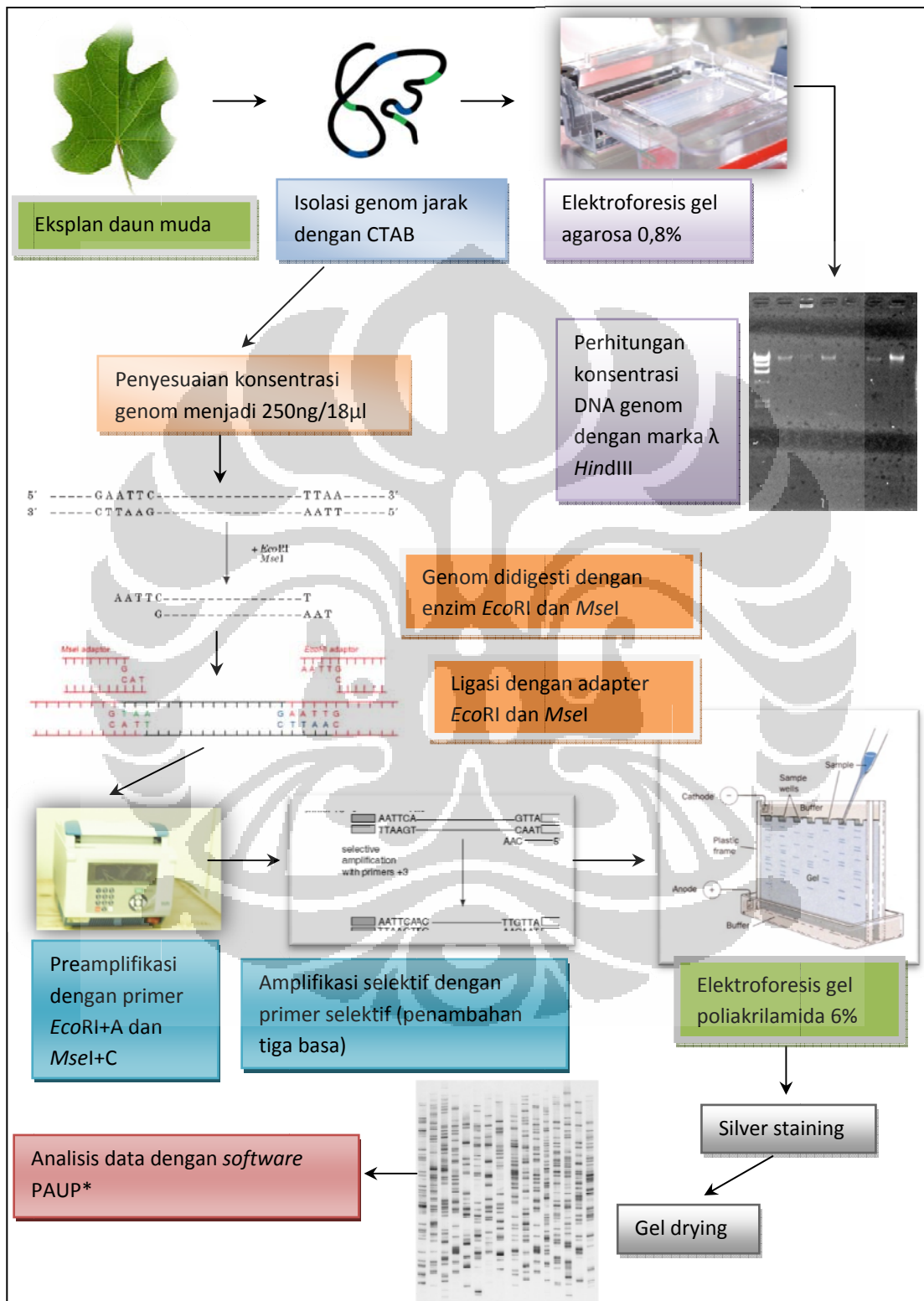
Gambar 4. Diagram alur AFLP
[Sumber: Invitrogen 2003: 3.]



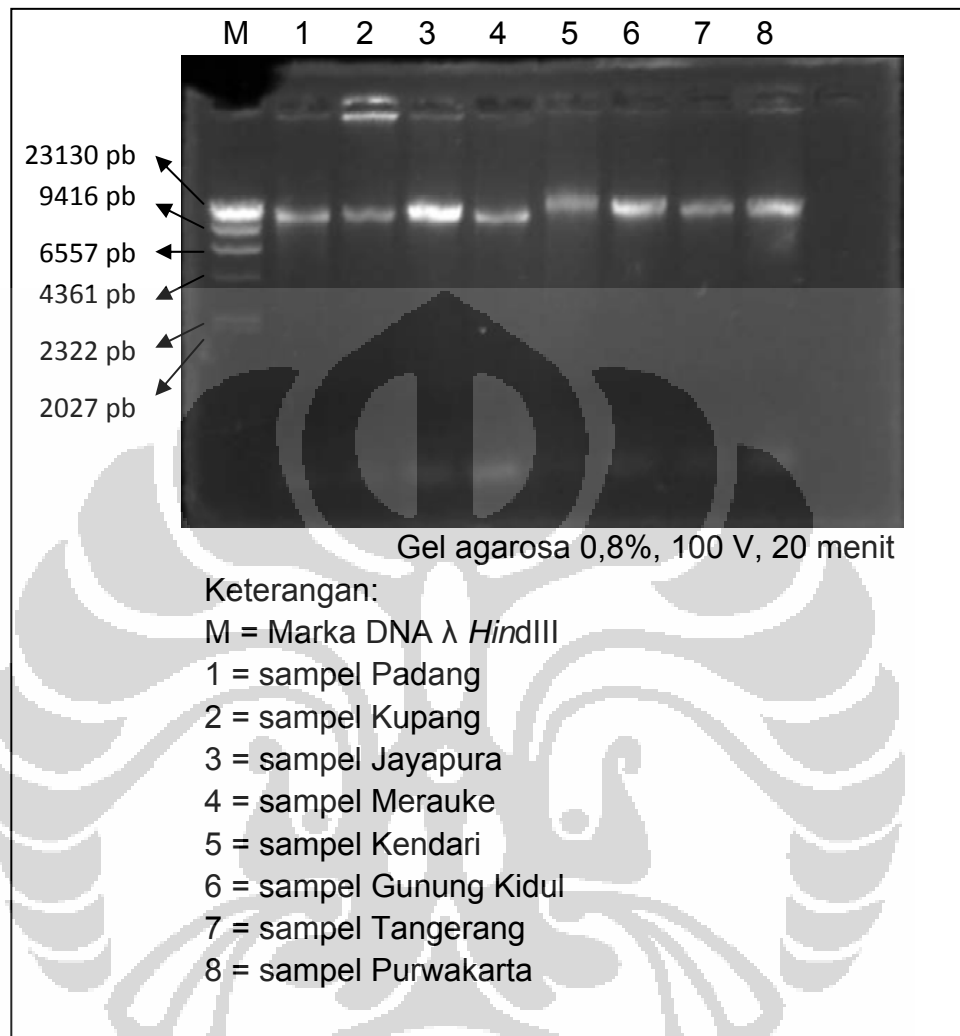
Gambar 5. Siklus Preamplifikasi



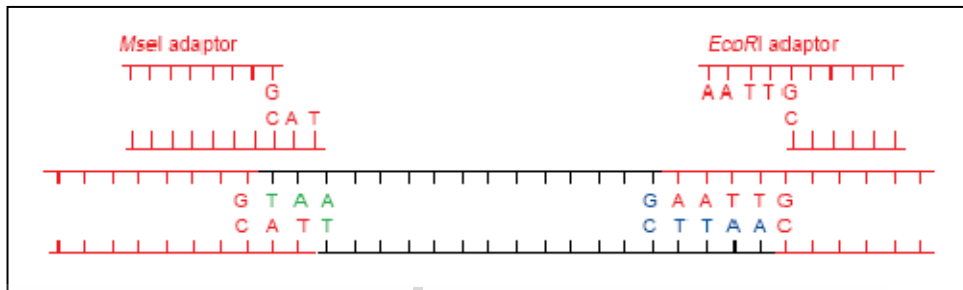
Gambar 6. Siklus amplifikasi selektif



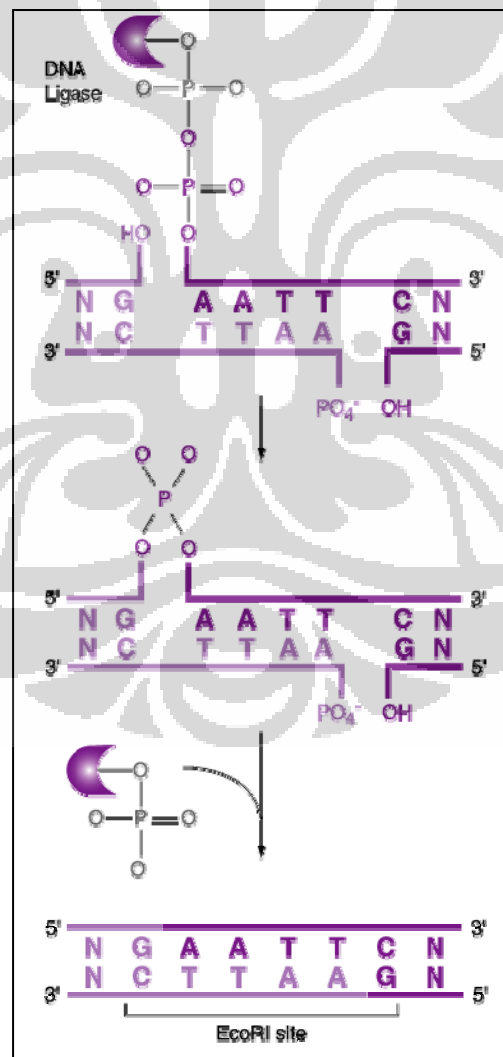
Gambar 7. Skema kerja secara umum



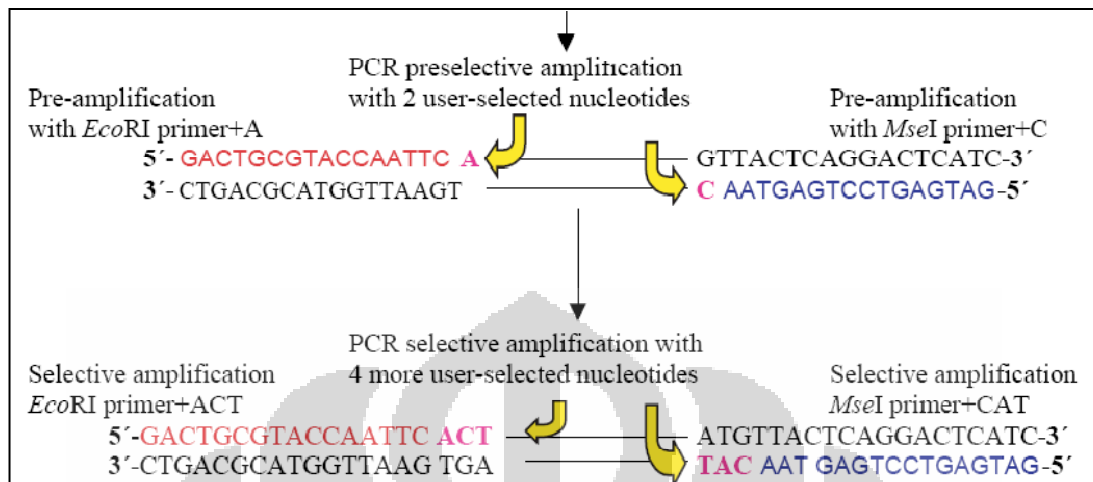
Gambar 8. Visualisasi isolasi genom jarak pagar



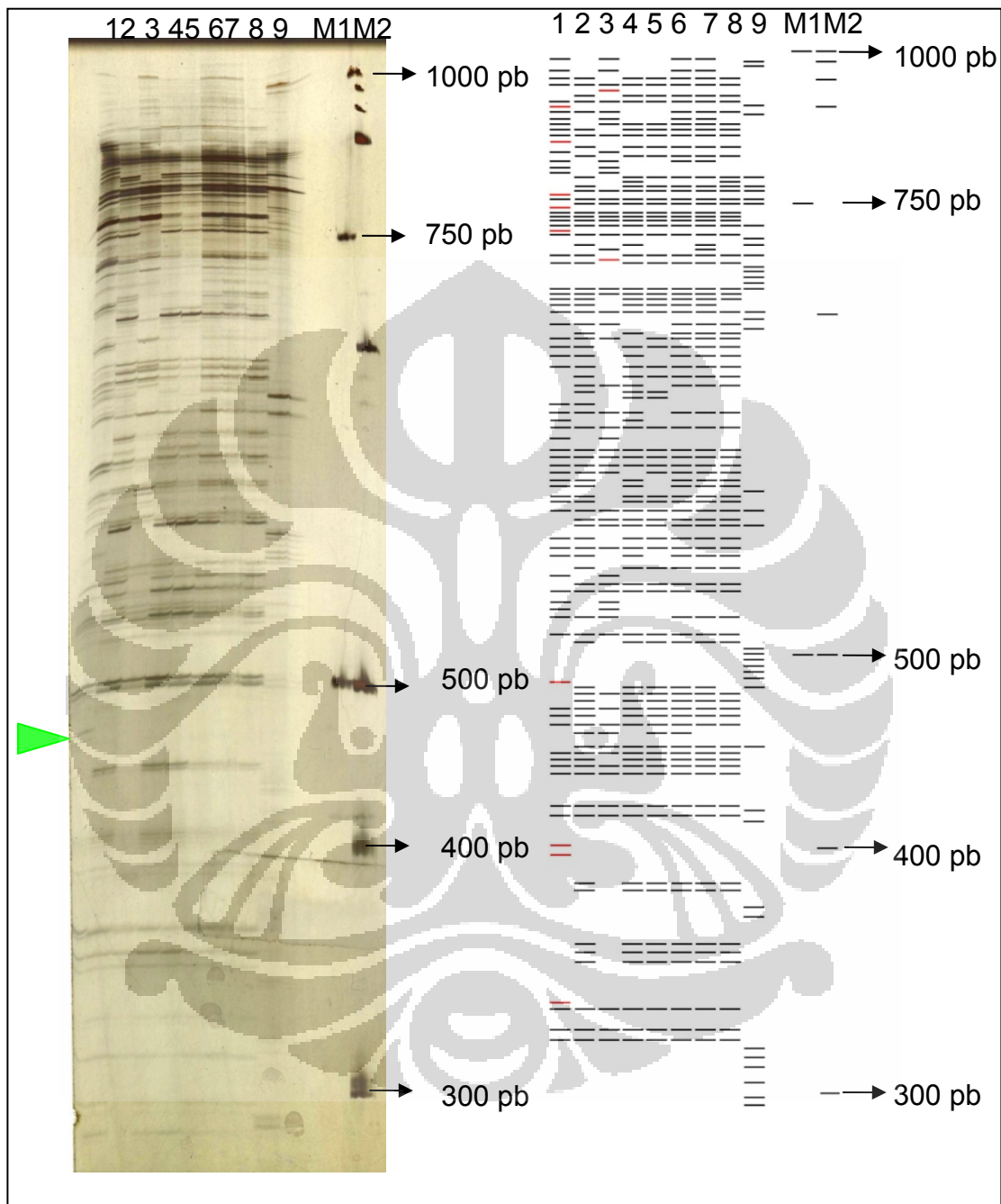
Gambar 9. Bentuk *adaptor MseI* dan *EcoRI*
[Sumber: Mueller & Wolfenbarger 1999: 391.]



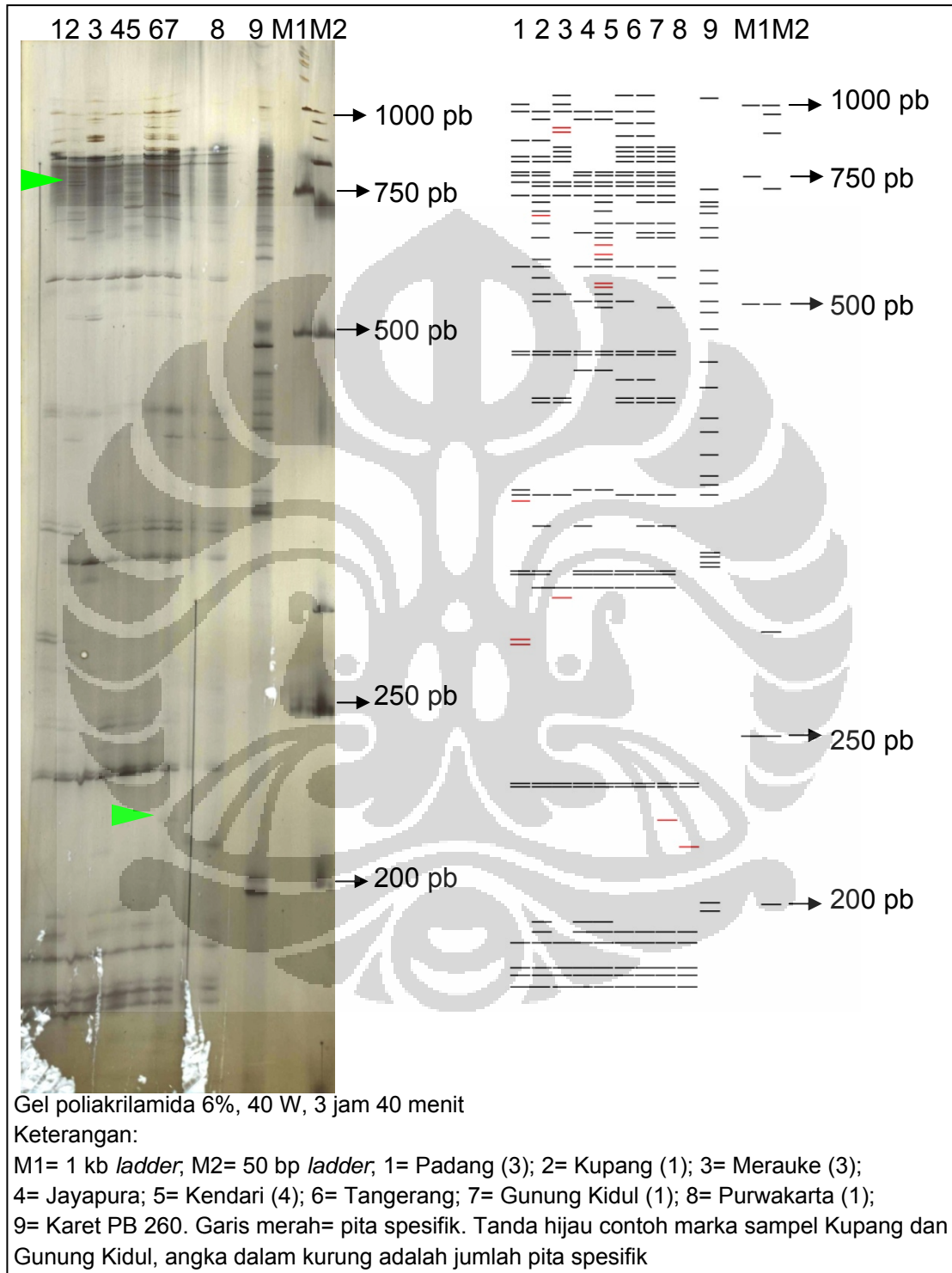
Gambar 10. Kerja enzim T4 ligase
[Sumber: Miesfeld 2001: 1.]



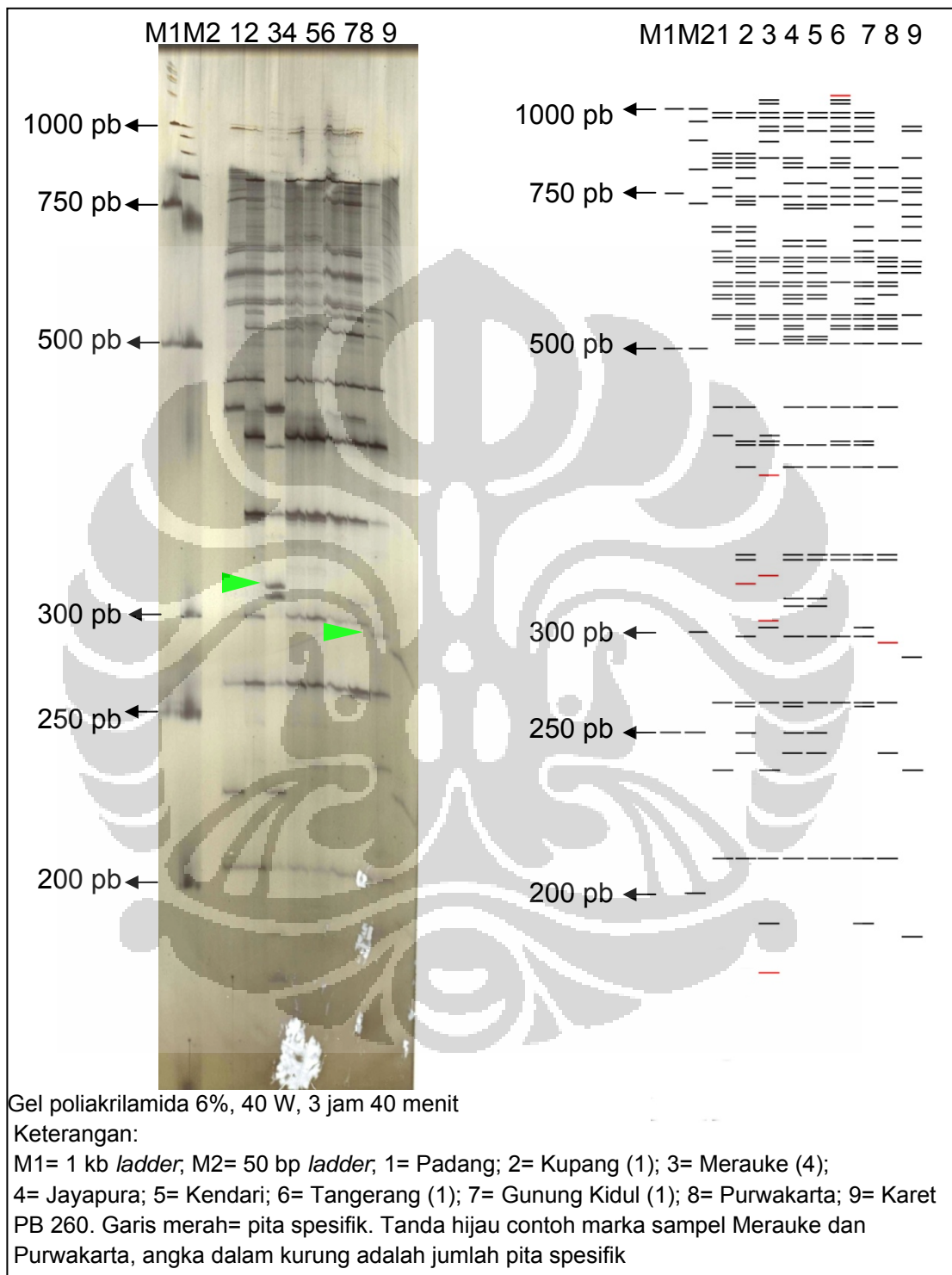
Gambar 11. Perlekatan primer selektif pada preamplifikasi dan amplifikasi selektif [Sumber: Saunders *dkk.* 2001: 3.]



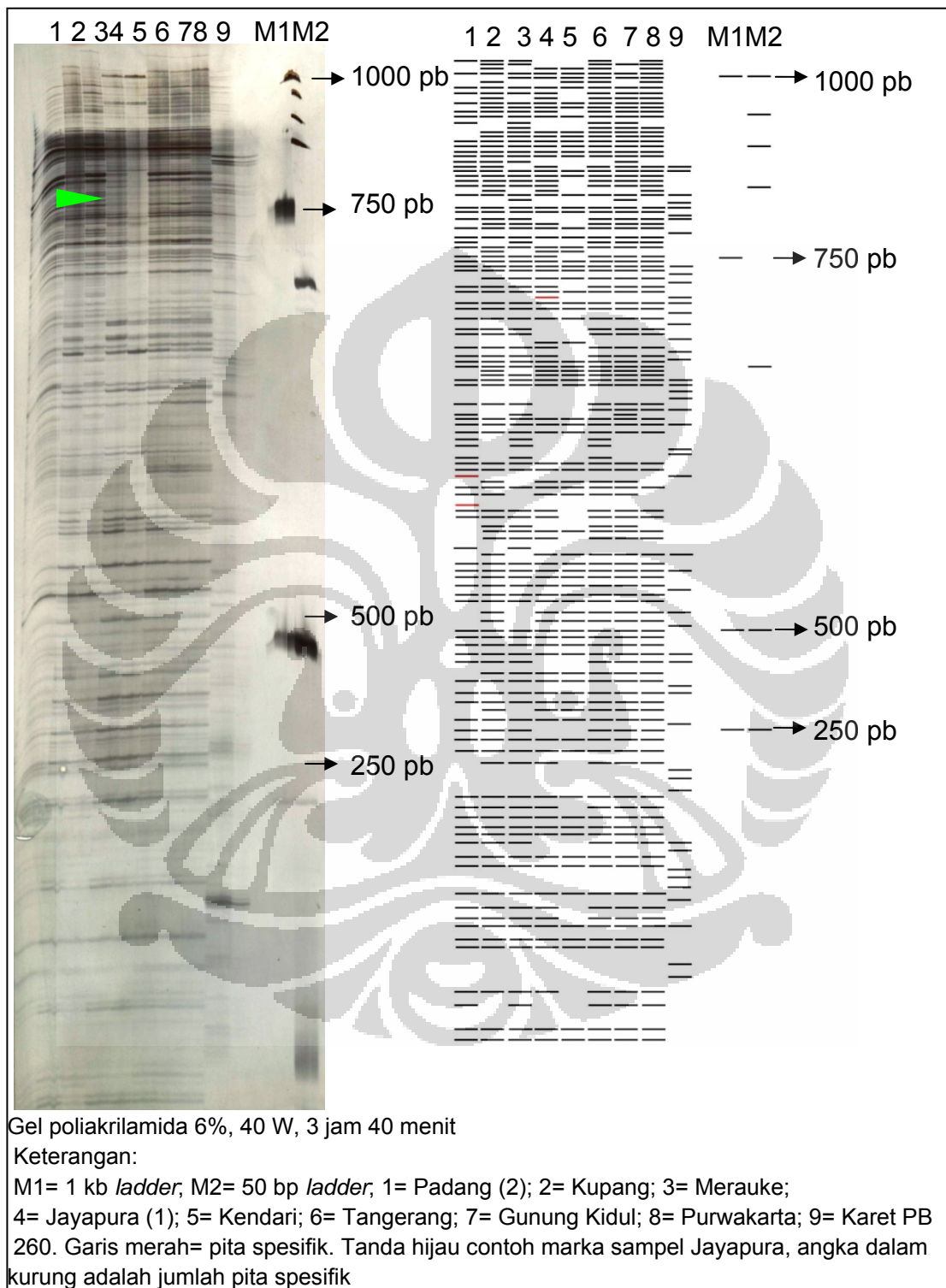
Gambar 12. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACA dan M-CTG



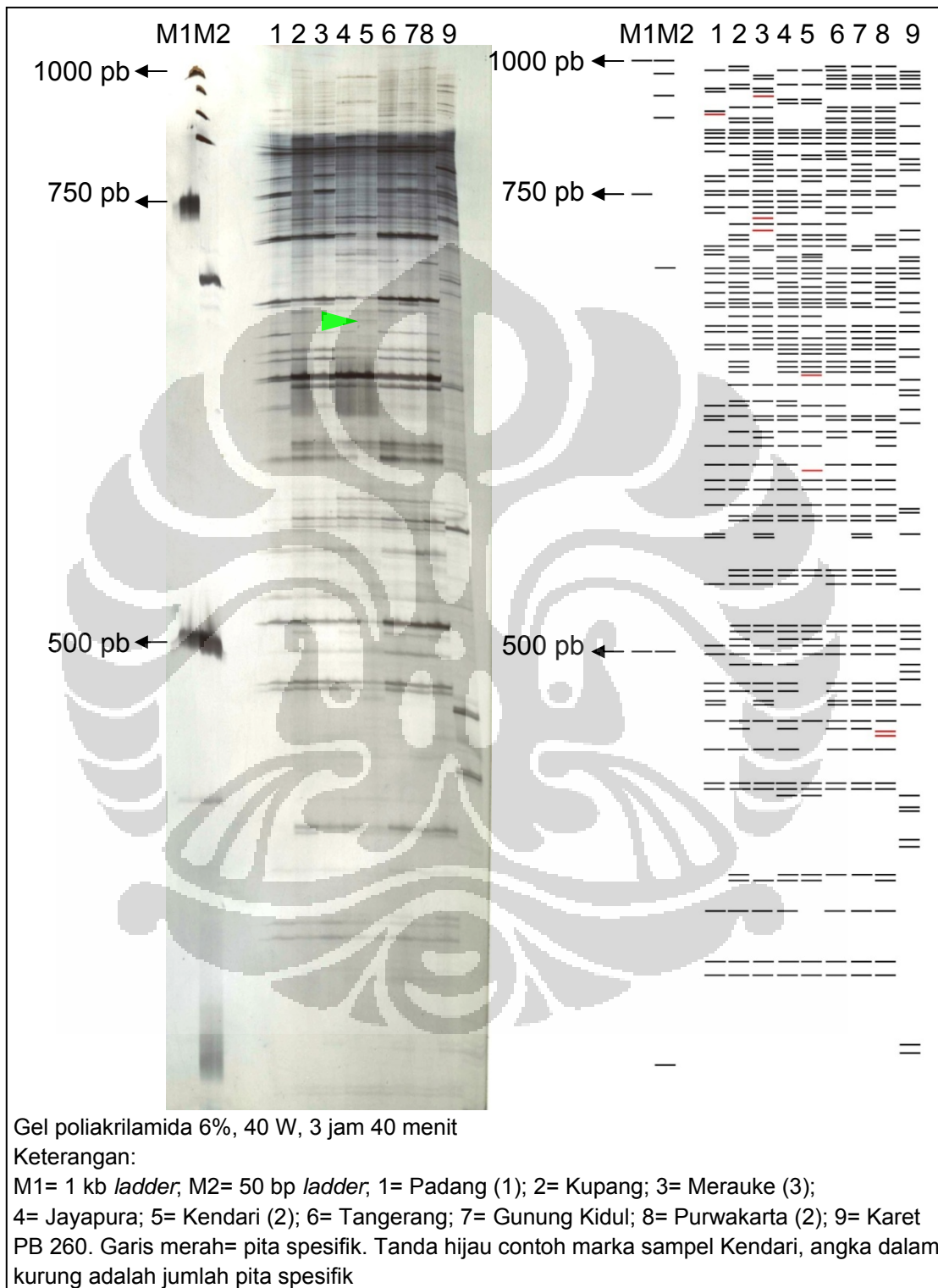
Gambar 13. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACG dan M-CAC



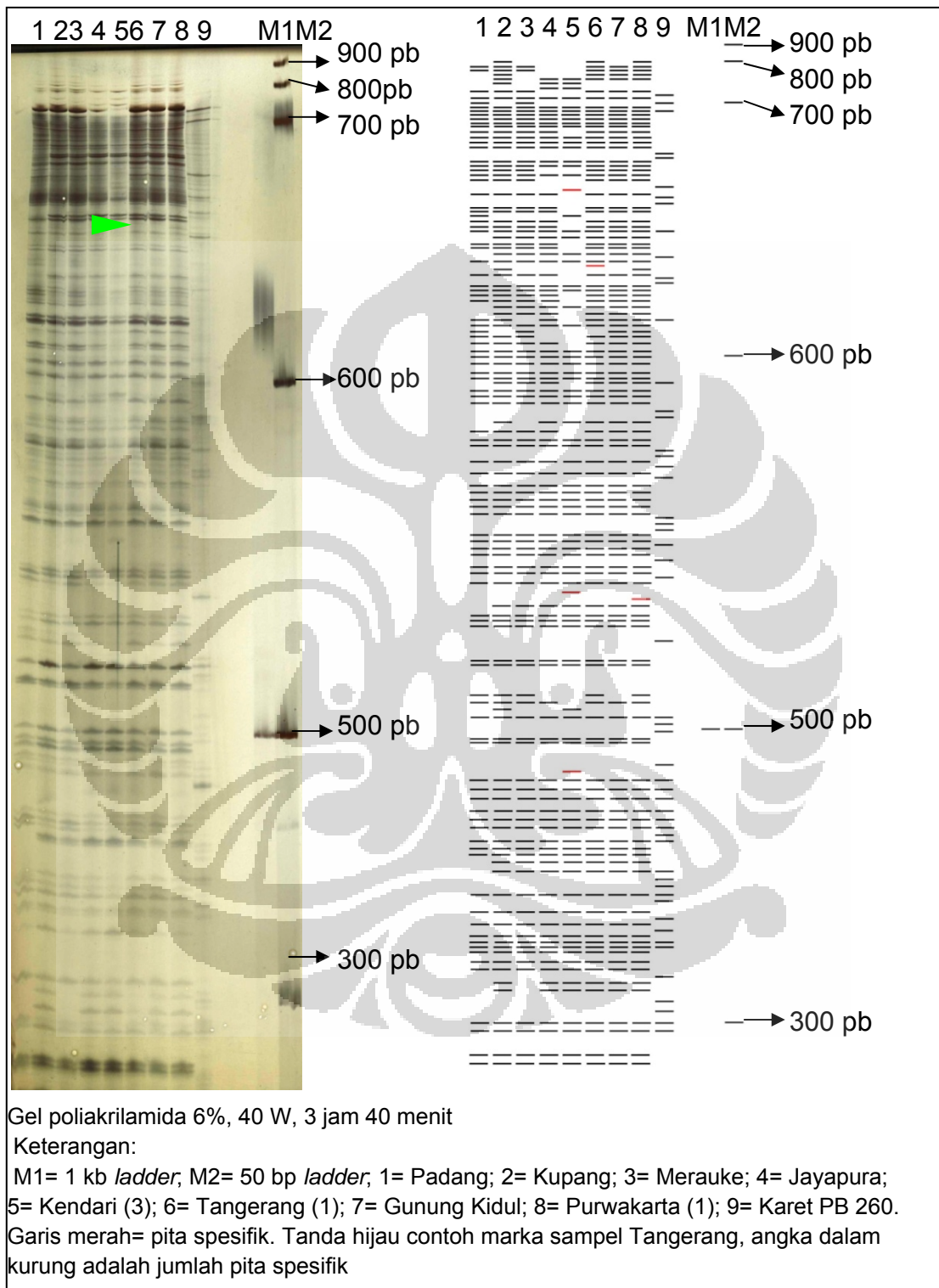
Gambar 14. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACG dan M-CAG



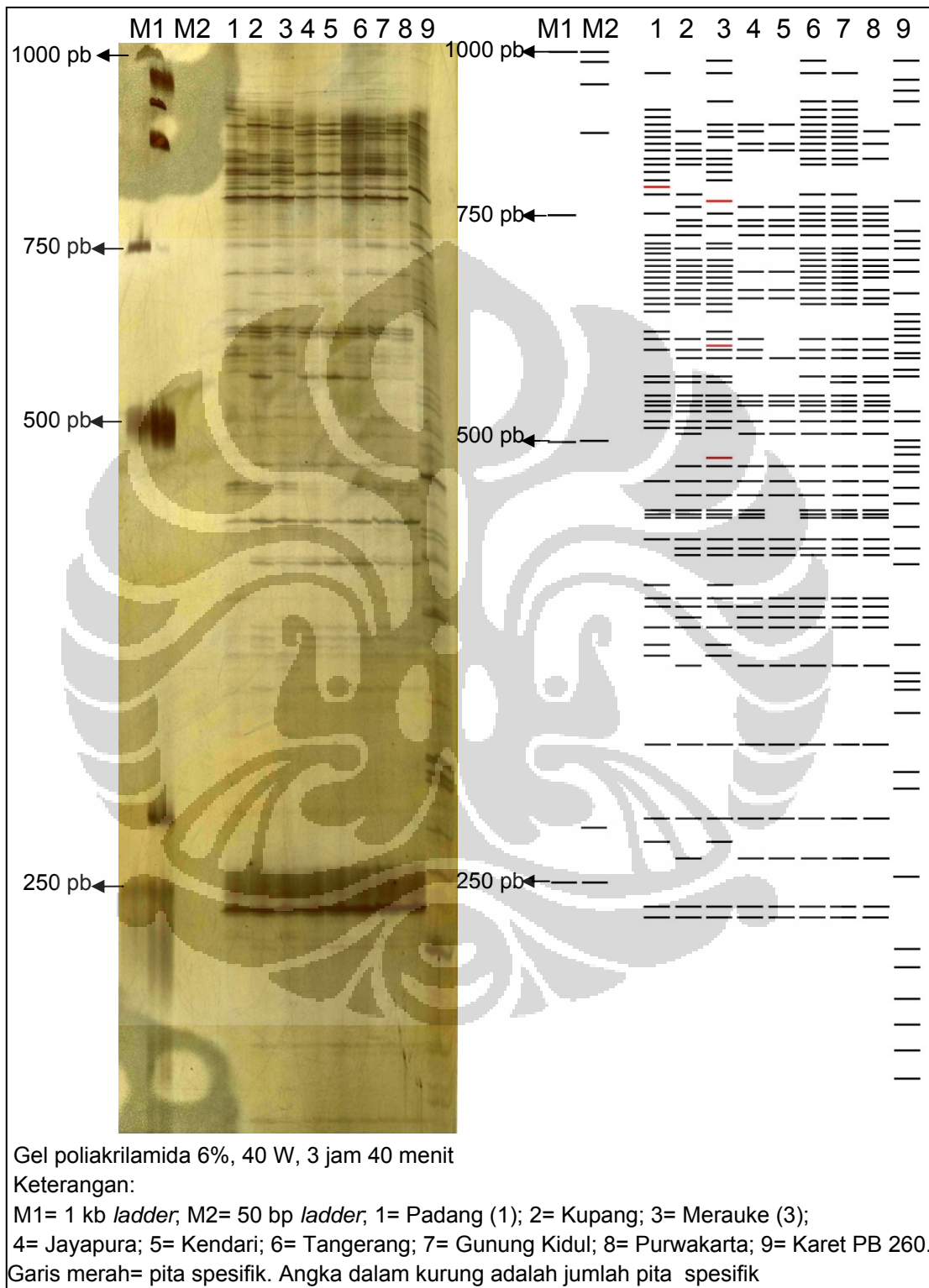
Gambar 15. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-AAG dan M-CTA



Gambar 16. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACG dan M-CTA



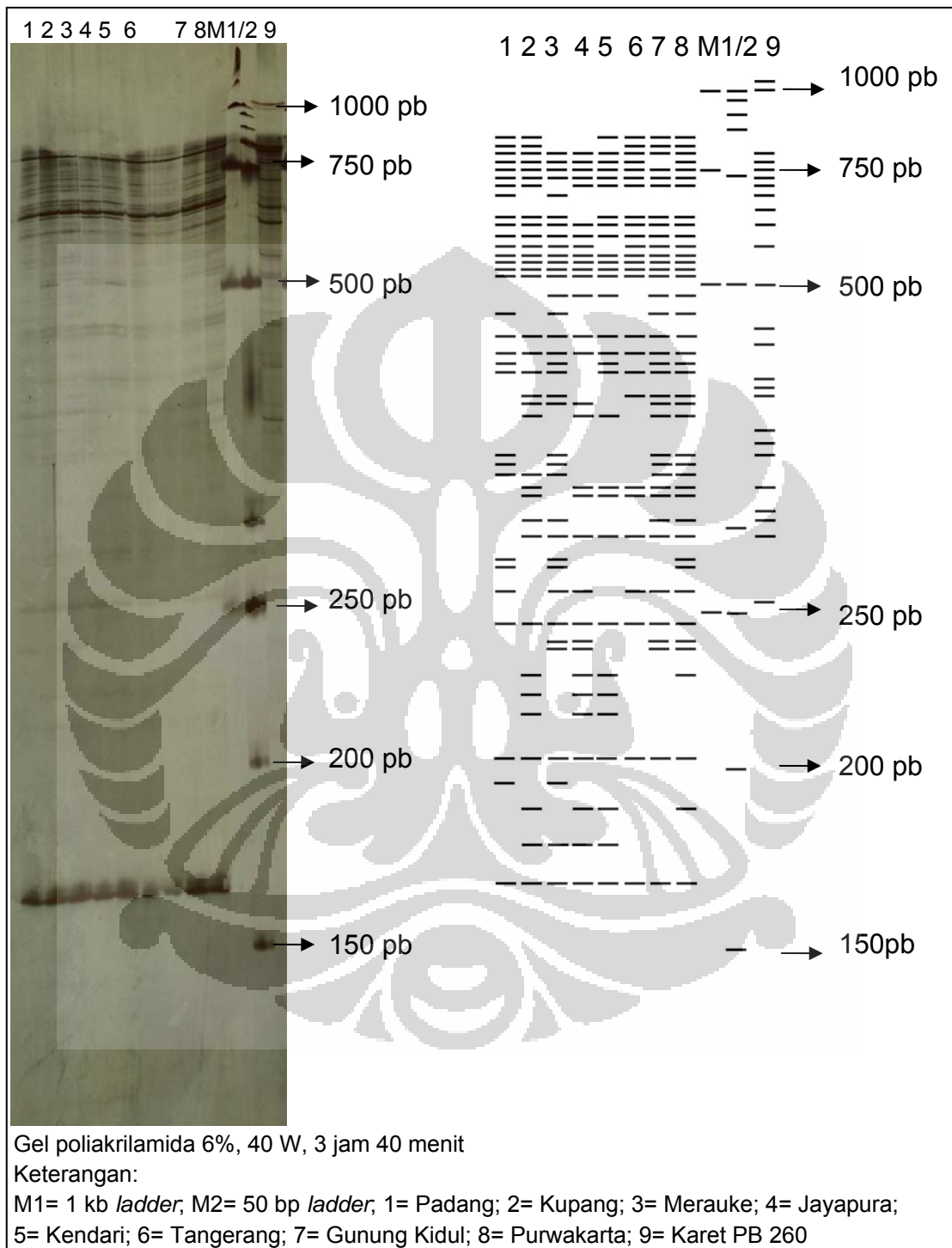
Gambar 17. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACA dan M-CAC



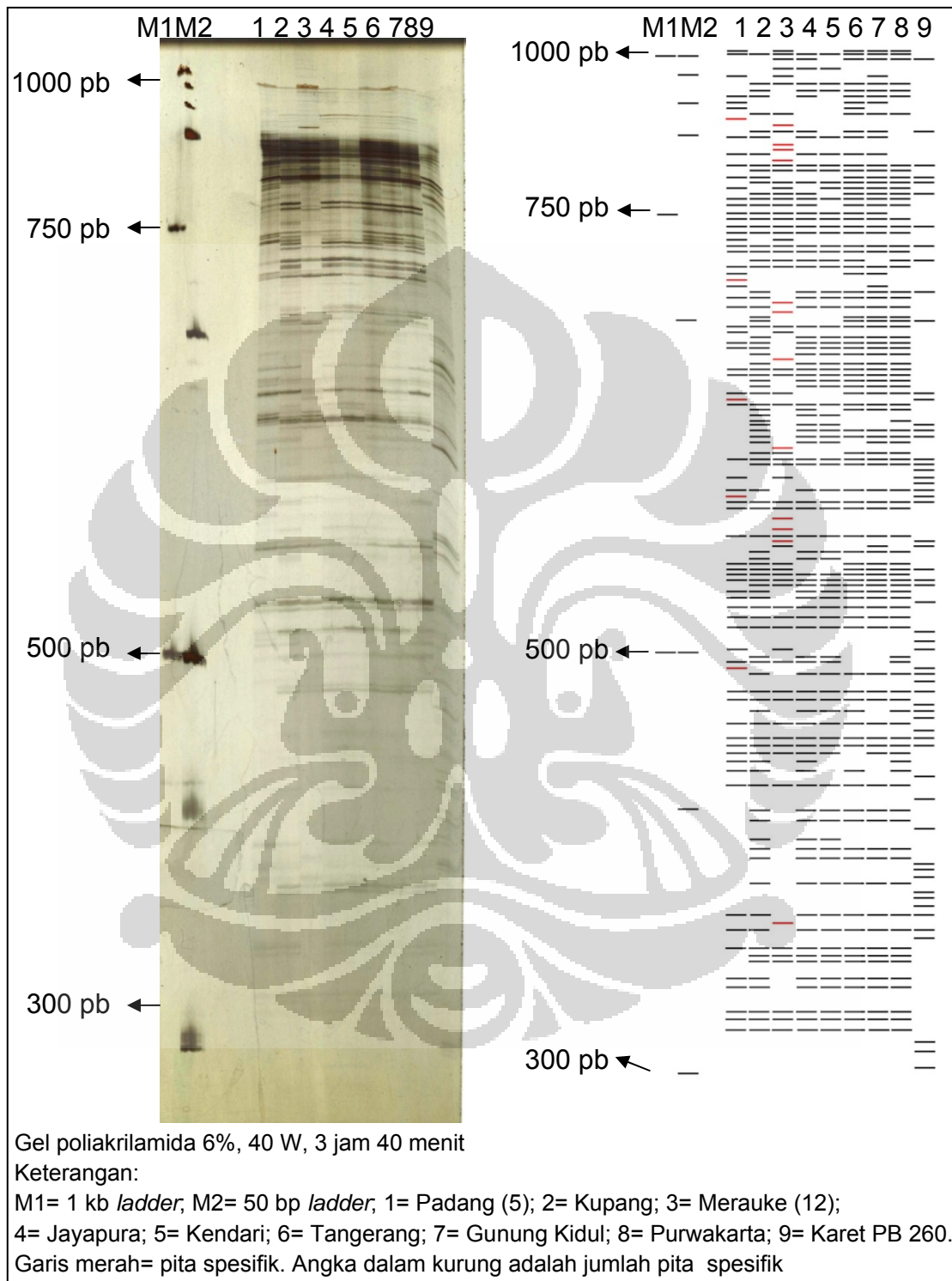
Gambar 18. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-AAG dan M-CAC



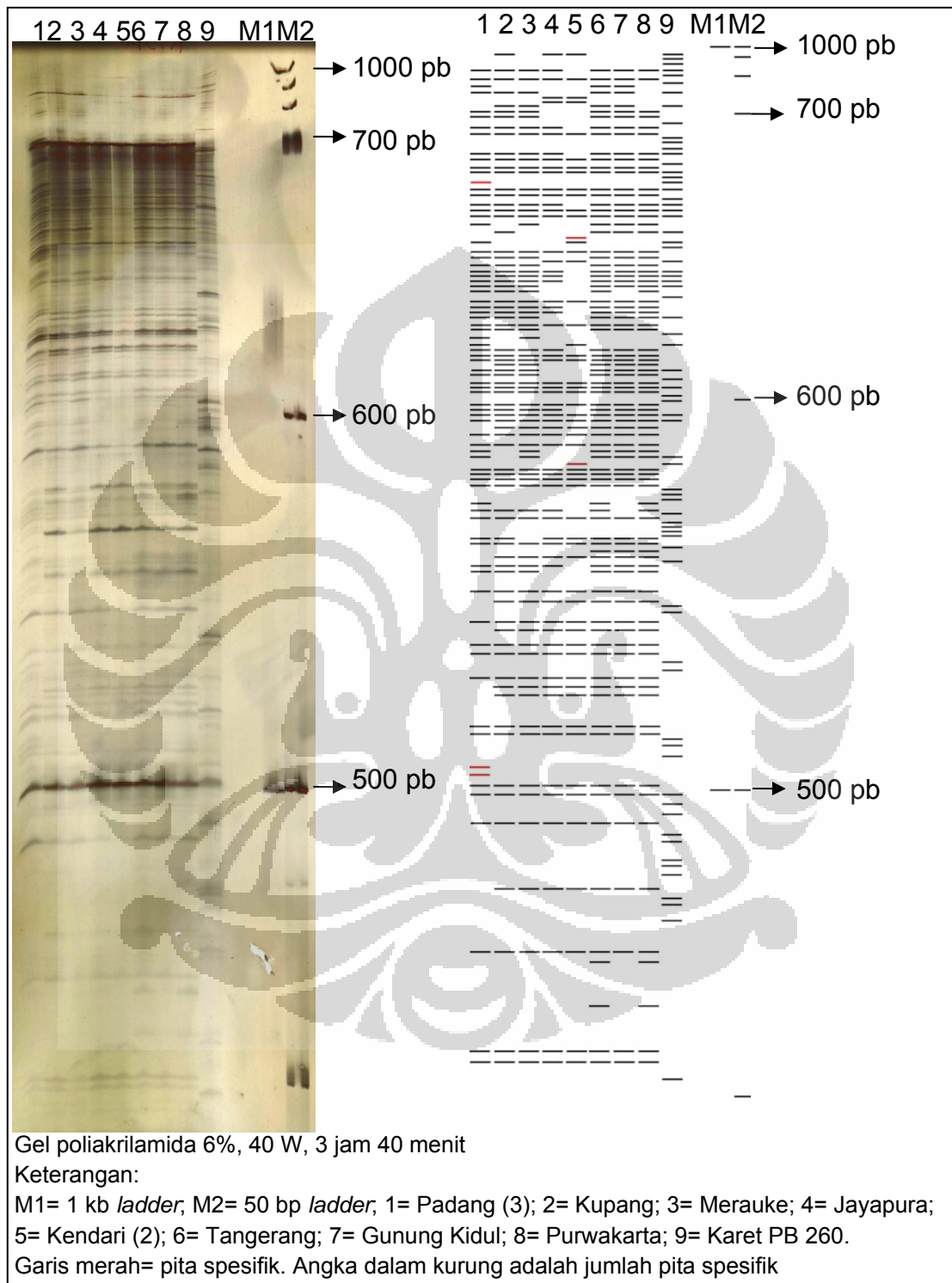
Gambar 19. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-AAG dan M-CAG



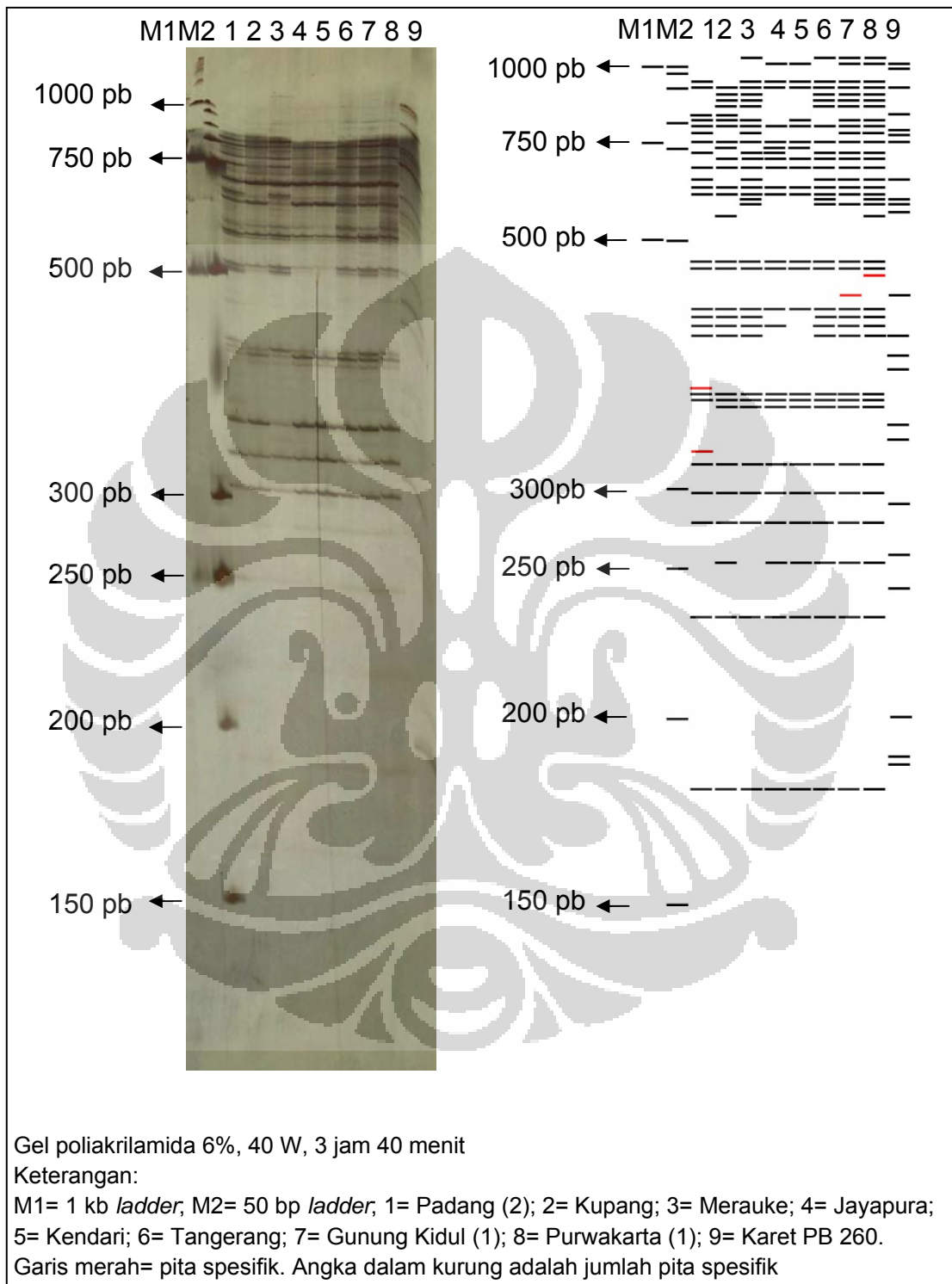
Gambar 20. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-AAG dan M-CTG.



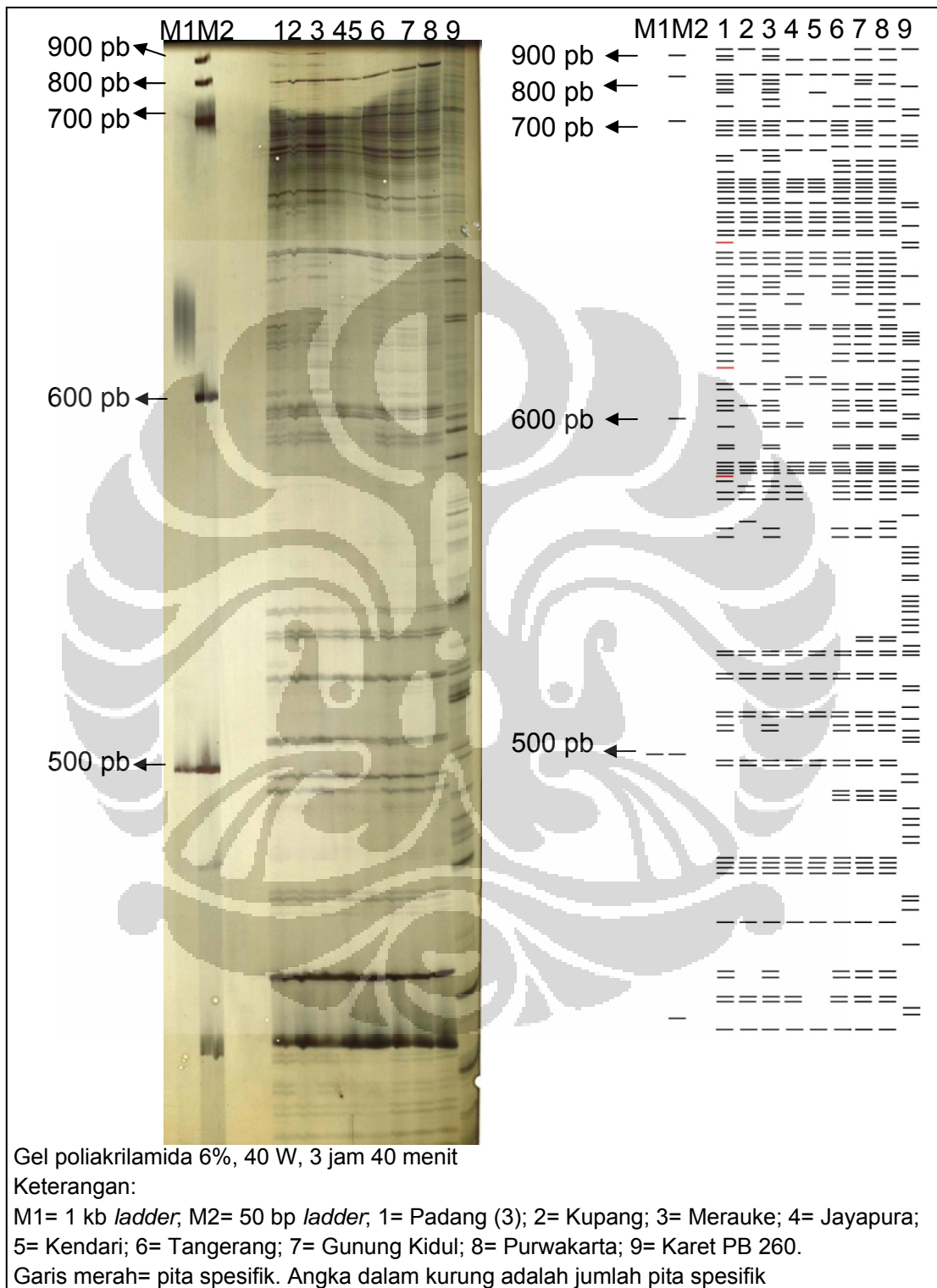
Gambar 21. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACA dan M-CAG



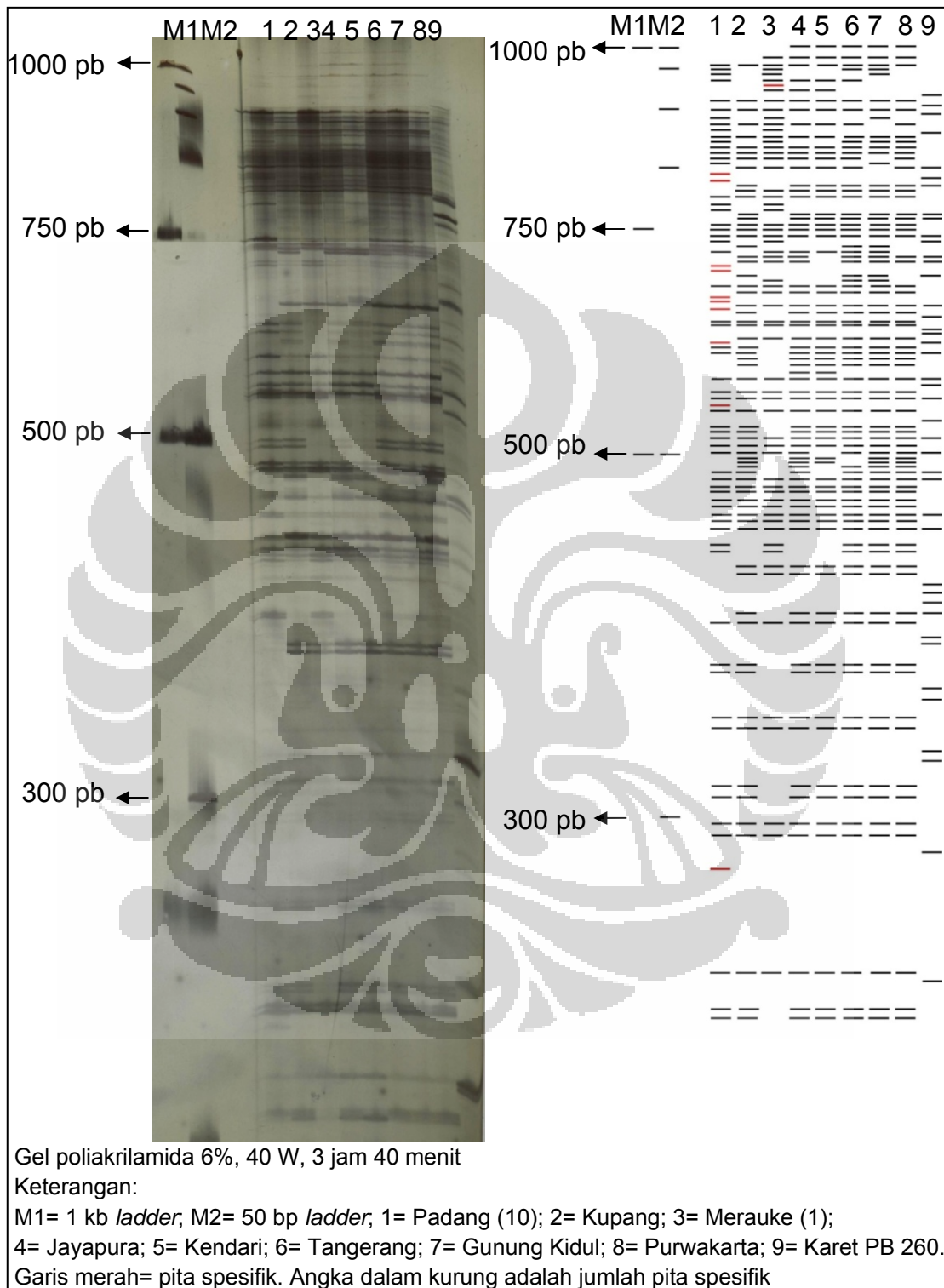
Gambar 22. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACA dan M-CTA



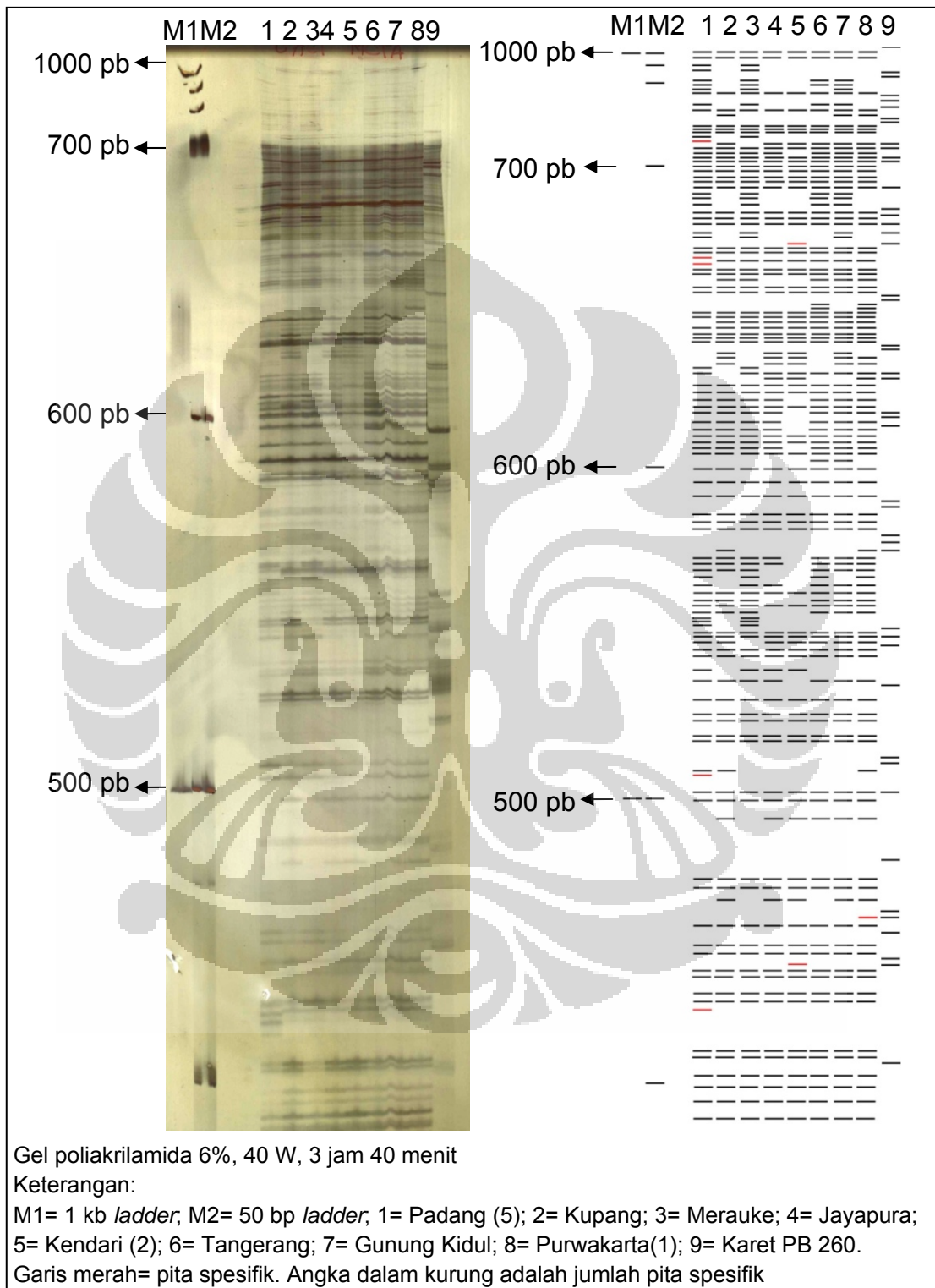
Gambar 23. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACG dan M-CTG



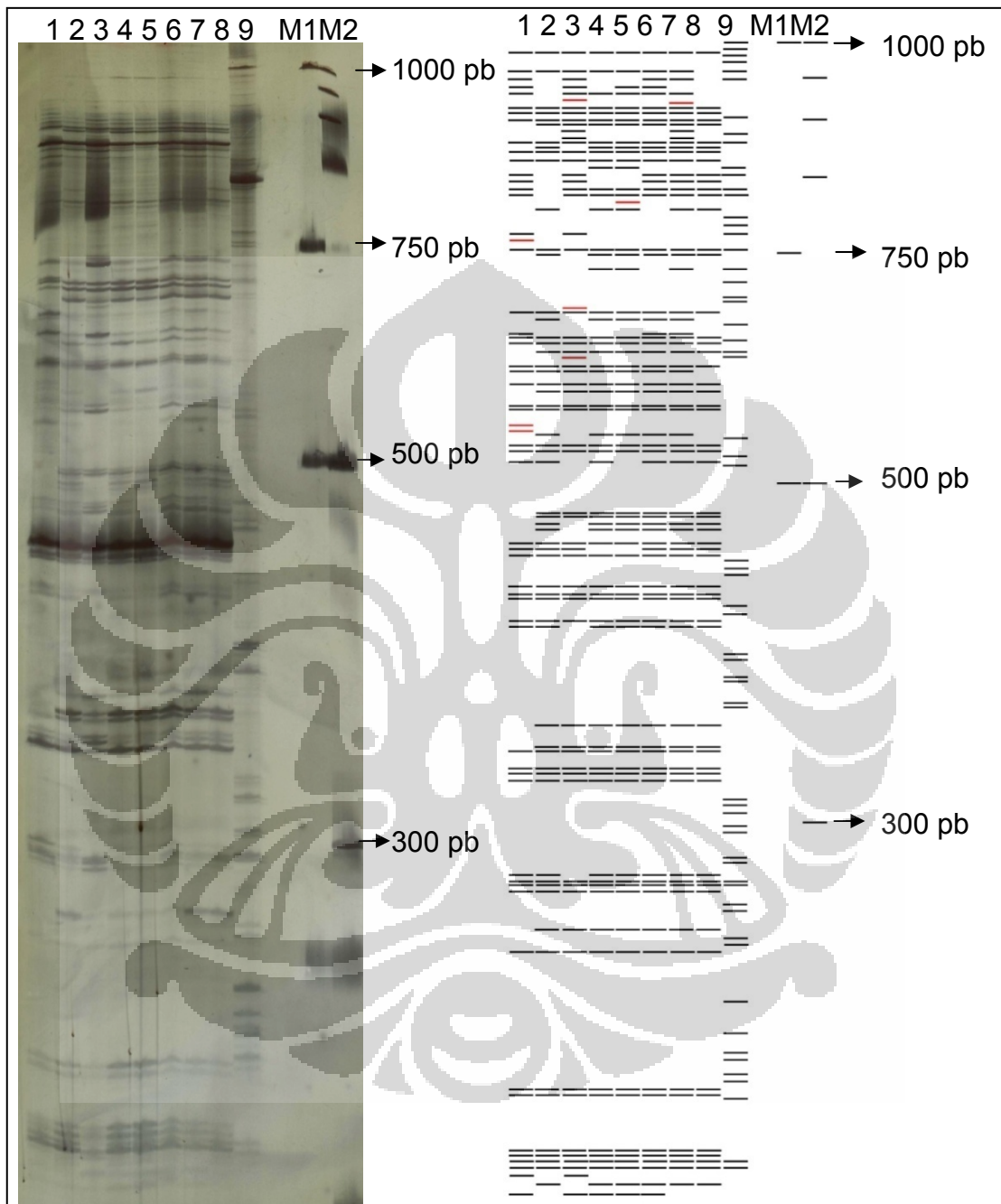
Gambar 24. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACT dan M-CAC



Gambar 25. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACT dan M-CAG



Gambar 26. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACT dan M-CTA

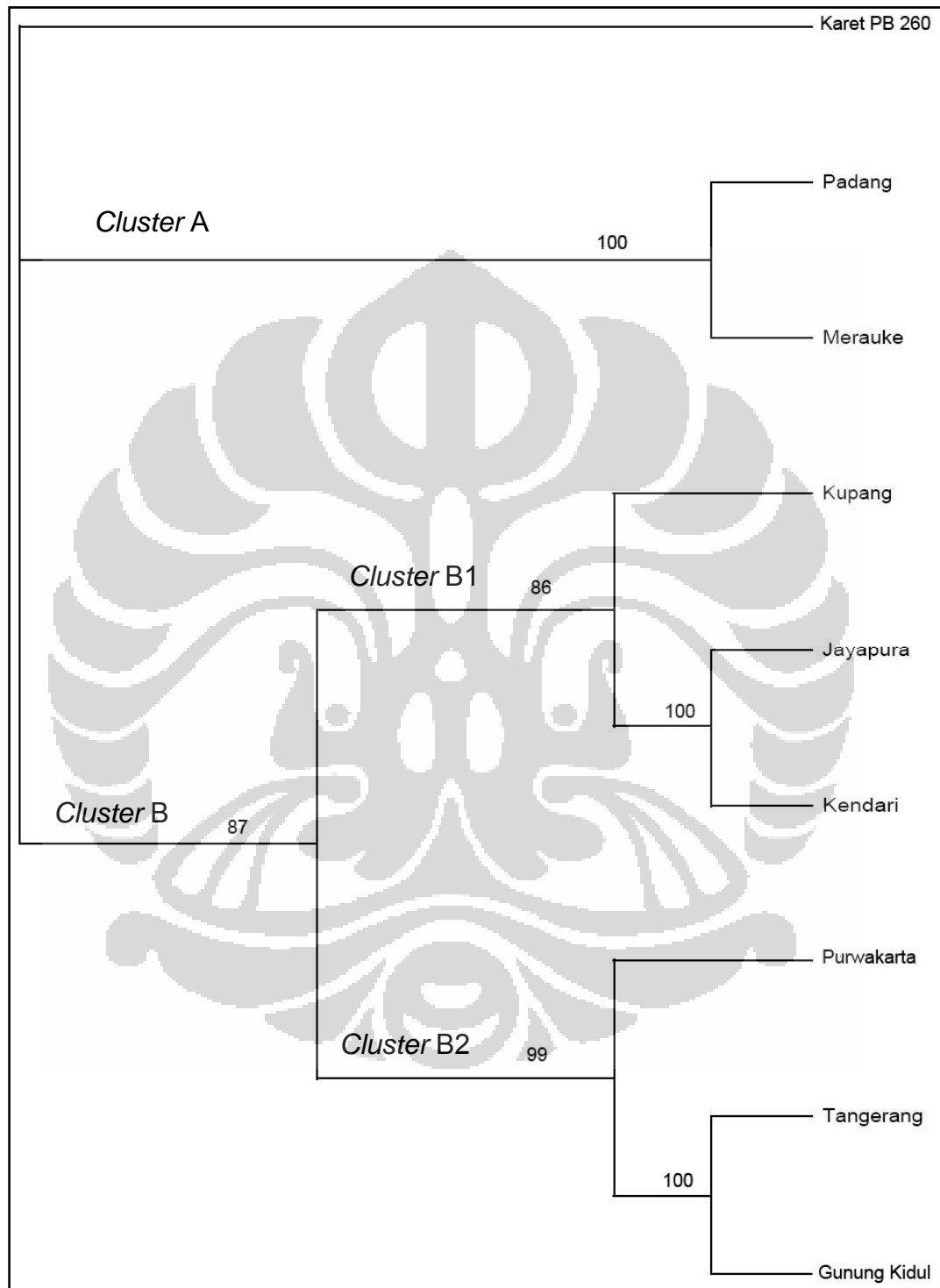


Gel poliakrilamida 6%, 40 W, 3 jam 40 menit

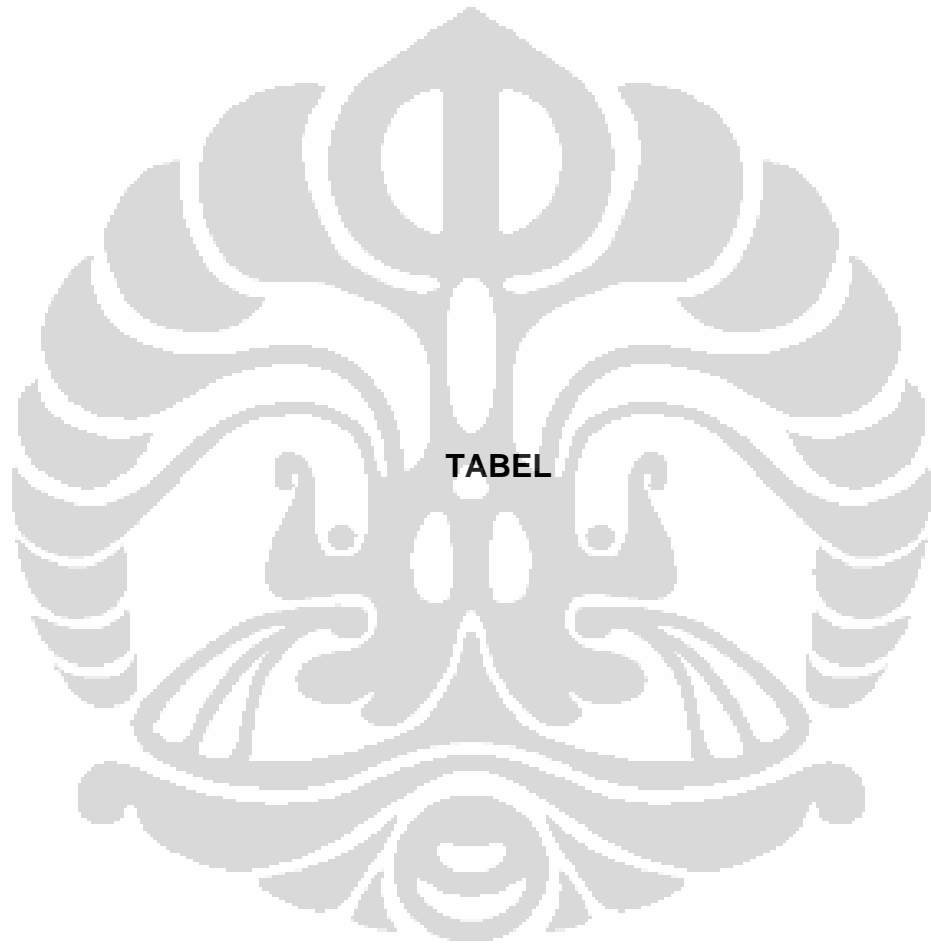
Keterangan:

M1= 1 kb *ladder*, M2= 50 bp *ladder*, 1= Padang (3); 2= Kupang; 3= Merauke (3);
 4= Jayapura; 5= Kendari (1); 6= Tangerang; 7= Gunung Kidul (1); 8= Purwakarta; 9= Karet
 PB 260. Garis merah= pita spesifik. Angka dalam kurung adalah jumlah pita spesifik

Gambar 27. Hasil elektroforesis gel poliakrilamida dan interpretasi pasangan primer E-ACT dan M-CTG



Gambar 28. Dendrogram hasil pita-pita AFLP dengan nilai *bootstrap* pada setiap cabang



Tabel 1

Perbandingan DNA jarak pagar hasil isolasi dengan marka λ HindIII ukuran 23.130 pb dan konsentrasi DNA sampel Padang, Kupang, Jayapura, Merauke, Kendari, Gunung Kidul, Tangerang, dan Purwakarta.

Baris	Sampel	Persentase volume (%)	Ukuran pb	Konsentrasi DNA (ng/ μ l)
1	λ HindIII	100,000	23.130	39,74
		29,538	9.416	16,18
		28,204	6.557	11,27
		14,313	4.361	7,49
		10,977	2.322	3,99
		10,162	2.027	3,48
2	Padang	54,046		42,96
3	Kupang	53,460		42,49
4	Jayapura	122,830		97,62
5	Merauke	56,338		44,78
6	Kendari	54,504		43,32
7	Gunung Kidul	79,137		62,90
8	Tangerang	40,846		32,46
9	Purwakarta	76,823		63,44

Tabel 2

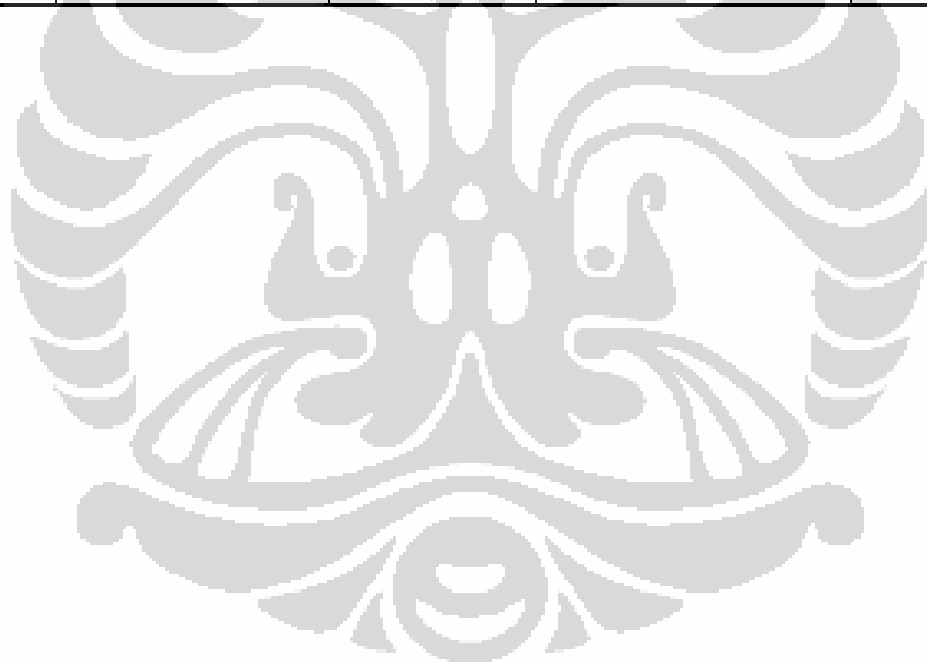
Total DNA hasil isolasi per gram berat daun

Sampel	Konsentrasi (ng/ μ l)	Berat daun (g)	Total DNA per 200 μ l (ng)	Total DNA per gram berat daun (ng)
Padang	42,96	0,73	8.592	11.769,86
Kupang	42,49	0,64	8.498	13.278,13
Jayapura	97,62	0,8	19.524	24.405
Merauke	44,78	2,45	8.956	3.655,51
Kendari	43,32	1	8.664	8.664
G.Kidul	62,9	0,63	12.580	19.968,25
Tangerang	32,46	0,5	6.492	12.984
Purwakarta	63,44	0,82	12.688	15.473,17
Total	429,97			110.197,92
Rata-rata	53,75			13.774,74

Tabel 3

Pengenceran genom jarak pagar menjadi 14 ng/ μ l

No.	Sampel	Konsentrasi awal (ng/ μ l)	Volume sampel (μ l) + <i>buffer</i> TE (μ l)	Volume akhir (μ l)
1	Padang	42,96	163+337	500
2	Kupang	42,49	165+335	500
3	Jayapura	97,62	72+428	500
4	Merauke	44,78	156+344	500
5	Kendari	43,32	162+338	500
6	Gunung Kidul	62,90	111+389	500
7	Tangerang	32,46	216+284	500
8	Purwakarta	63,44	110+390	500



Tabel 4

Jumlah pita DNA berdasarkan sampel dan primer

Pasangan primer		Padang	Kupang	Merauke	Jayapura	Kendari	Tangerang	G.kidul	Purwakarta	Total
E-AAG	M-CAC	57	51	61	40	33	59	59	47	407
E-AAG	M-CAG	74	66	75	54	42	72	72	63	518
E-AAG	M-CTA	97	110	108	101	80	116	113	110	835
E-AAG	M-CTG	31	34	36	31	30	26	36	41	265
E-ACA	M-CAC	95	109	101	100	87	107	105	109	813
E-ACA	M-CAG	72	95	73	88	81	91	92	90	682
E-ACA	M-CTA	78	78	79	66	57	85	80	82	605
E-ACA	M-CTG	76	81	60	78	71	83	84	77	610
E-ACG	M-CAC	27	39	27	28	38	33	36	32	260
E-ACG	M-CAG	24	42	28	42	34	31	36	24	261
E-ACG	M-CTA	53	72	76	75	68	76	71	72	563
E-ACG	M-CTG	27	29	32	24	23	31	34	36	236
E-ACT	M-CAC	87	60	86	56	43	82	90	90	594
E-ACT	M-CAG	70	68	61	72	67	75	76	71	560
E-ACT	M-CTA	108	94	104	91	81	99	104	100	781
E-ACT	M-CTG	57	59	63	64	65	67	70	59	504
Total		1.033	1.087	1.070	1.010	900	1.133	1.158	1.103	8.494

Tabel 5

Jumlah baris yang umum, bersifat polimorfis, dan persentase baris polimorfis dari 16 pasangan primer

Pasangan Primer		Jumlah baris	Jumlah baris yang mengandung pita umum	Jumlah baris yang mengandung pita polimorfis	Persentase baris polimorfis (%)
E-AAG	M-CAC	74	17	57	77,03
E-AAG	M-CAG	95	29	66	69,47
E-AAG	M-CTA	126	61	65	51,59
E-AAG	M-CTG	46	14	32	69,57
E-ACA	M-CAC	118	70	48	40,68
E-ACA	M-CAG	126	32	94	74,60
E-ACA	M-CTA	97	41	56	57,73
E-ACA	M-CTG	108	30	78	72,22
E-ACG	M-CAC	62	10	52	83,87
E-ACG	M-CAG	64	7	57	89,06
E-ACG	M-CTA	104	26	78	75,00
E-ACG	M-CTG	41	16	25	60,98
E-ACT	M-CAC	102	39	63	61,76
E-ACT	M-CAG	97	35	62	63,92
E-ACT	M-CTA	126	68	58	46,03
E-ACT	M-CTG	82	37	45	54,88
Total		1.468	532	936	
Rata-rata		91,75	33,25	58,5	63,76

Tabel 6

Jumlah pita DNA spesifik berdasarkan pasangan primer dan sampel

Pasangan Primer		Padang	Kupang	Merauke	Jayapura	Kendari	Tangerang	G.Kidul	Purwakarta
E-AAG	M-CAC	1		3					
E-AAG	M-CAG	7		6					
E-AAG	M-CTA	2			1				
E-AAG	M-CTG								
E-ACA	M-CAC					3	1		1
E-ACA	M-CAG	5		12					
E-ACA	M-CTA	3				2			
E-ACA	M-CTG	9		2					
E-ACG	M-CAC	3	1	3		4		1	1
E-ACG	M-CAG		1	4			1		1
E-ACG	M-CTA	1		3		2			2
E-ACG	M-CTG	2						1	1
E-ACT	M-CAC	3							
E-ACT	M-CAG	10		1					
E-ACT	M-CTA	5				2			1
E-ACT	M-CTG	3		3		1		1	
Total		54	2	37	1	14	2	3	7

Tabel 7

Ukuran pita spesifik seluruh sampel dan pasangan primer (dalam pb)

Pasangan Primer		Padang	Kupang	Merauke	Jayapura	Kendari	Tangerang	G.kidul	Purwakarta
E-AAG	M-CAC	870		851 661 515					
E-AAG	M-CAG	791 574 533 500 407 336 260		919 863 849 724 499 390					
E-AAG	M-CTA	637 628			757				
E-ACA	M-CAC					673 599 516	650		598
E-ACA	M-CAG	818 776 732 674 592		808 796 795 792 767 765 746 708 671 669					

Tabel 7 (lanjutan)

				662 378				
E-ACA	M-CTA	788 546 541				778 721		
E-ACA	M-CTG	798 791 778 776 765 582 474 468 362		831 759				
E-ACG	M-CAC	435 286 282	772	974 964 318		735 725 677 672	216	210
E-ACG	M-CAG		344	420 351 318 172		1.066		288
E-ACG	M-CTA	925		947 778 776		710 675		509 503
E-ACG	M-CTG	418 343					532	551

Tabel 7 (lanjutan)

E-ACT	M-CAC	680 629 602						
E-ACT	M-CAG	841 832 739 731 703 700 697 624 546 197		936				
E-ACT	M-CTA	783 758 757 548 315				762 349		380
E-ACT	M-CTG	778 572 565		870 703 648		785		868



Lampiran 1

 Perhitungan konsentrasi DNA sampel jarak pagar

Tujuan:

Menentukan konsentrasi DNA hasil isolasi sampel jarak pagar untuk proses AFLP

Rumus:
$$\chi = \frac{a \times b \times c}{d \times e}$$

Keterangan: χ = konsentrasi DNA

a = ukuran marka yang dijadikan acuan (23.130 pb)

b = μg penanda DNA

c = % volume

d = total ukuran marka λ HindIII

e = μl DNA sampel

Contoh perhitungan:

Konsentrasi DNA sampel Padang

Diketahui: $a = 23.130 \text{ pb}$

$b = 4 \mu\text{l} \times 83,33 \text{ ng}/\mu\text{l} = 333,32$

$c = 54,046\%$

$d = 48.502 \text{ pb}$

$e = 2 \mu\text{l}$

Sehingga $\chi = 42,96 \text{ ng}/\mu\text{l}$

Konsentrasi DNA sampel yang lain ditampilkan dalam Tabel 1.

Lampiran 2

Pengenceran genom sampel jarak pagar menjadi 14 ng/μl

Tujuan:

Menyamakan konsentrasi DNA hasil isolasi sampel jarak pagar menjadi 14 ng/ μl

Rumus: $M1 \times V1 = M2 \times V2$

Keterangan: M1 = konsentrasi sampel genom jarak pagar

V1 = volume sampel

M2 = konsentrasi akhir (14 ng/μl)

V2 = volume akhir (500 μl)

Contoh perhitungan:

Sampel Padang

Diketahui: M1 = 42,96 ng/μl

M2 = 14 ng/μl

V2 = 500 μl

Sehingga V1 = 162,94 μl (163 μl)

V2 = 163 μl (sampel) + 337 μl (buffer TE)

= 500 μl

Pengenceran sampel sampel yang lain ditampilkan dalam Tabel 3.

Lampiran 3

Komposisi reaksi digesti sampel genom jarak pagar
dengan enzim *EcoRI* dan *MseI*

Bahan	Volume (μ l)
5x buffer reaksi	5
<i>EcoRI</i> dan <i>MseI</i>	2
Sampel	18
Total	25

Lampiran 4

Komposisi reaksi ligasi sampel genom jarak pagar
hasil digesti dengan enzim *EcoRI* dan *MseI*

Bahan	Volume (μ l)
Larutan adapter ligasi	24
Enzim T4 DNA ligase	1
Sampel	25
Total	50

Lampiran 5

Komposisi reaksi preamplifikasi

Bahan	Volume (μ l)
10x PCR buffer (Mg^{2+})	5
Campuran primer preamplifikasi	26
Enzim Long PCR	0,5
2 mM dNTP	2,5
Sampel	16
Total	50

Lampiran 6

Kombinasi primer *EcoRI* dan *Msel*

		Primer <i>Msel</i>			
		M-CTA	M-CAC	M-CTG	M-CAG
Primer <i>EcoRI</i>	E-ACA	E-ACA M-CTA	E-ACA M-CAC	E-ACA M-CTG	E-ACA M-CAG
	E-ACT	E-ACT M-CTA	E-ACT M-CAC	E-ACT M-CTG	E-ACT M-CAG
	E-AAG	E-AAG M-CTA	E-AAG M-CAC	E-AAG M-CTG	E-AAG M-CAG
	E-ACG	E-ACG M-CTA	E-ACG M-CAC	E-ACG M-CTG	E-ACG M-CAG

Keterangan :

E-NNN : Primer ujung pemotongan *EcoRI*

M-NNN : Primer ujung pemotongan *Msel*

Lampiran 7

Komposisi reaksi amplifikasi selektif

Campuran 1

Bahan	Volume (μl)
Primer <i>EcoRI</i>	5
Primer <i>MseI</i>	45
Total	50

Campuran 2

Bahan	Volume (μl)
10x PCR buffer (Mg^{2+})	20
Enzim Long PCR	1
ddH ₂ O	79
Total	100

Bahan	Volume (μl)
Campuran 1	5
Campuran 2	10
ddH ₂ O	2
Amplikon	3
Total	20