

**PENGARUH SUHU ANNEALING PADA PROGRAM PCR TERHADAP
KEBERHASILAN AMPLIFIKASI DNA UDANG JARI
(*Metapenaeus elegans*) LAGUNA SEGARA ANAKAN CILACAP
JAWA TENGAH**

SKRIPSI

Oleh:
AYU LUDYASARI
NIM. 09620007



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014**

**PENGARUH SUHU ANNEALING PADA PROGRAM PCR TERHADAP
KEBERHASILAN AMPLIFIKASI DNA UDANG JARI
(*Metapenaeus elegans*) LAGUNA SEGARA ANAKAN CILACAP
JAWA TENGAH**

SKRIPSI

Oleh:
AYU LUDYASARI
NIM. 09620007



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014**

**PENGARUH SUHU ANNEALING PADA PROGRAM PCR TERHADAP
KEBERHASILAN AMPLIFIKASI DNA UDANG JARI
(*Metapenaeus elegans*) LAGUNA SEGARA ANAKAN CILACAP
JAWA TENGAH**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

**Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Oleh:

**AYU LUDYASARI
NIM. 09620007**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014**

**PENGARUH SUHU ANNEALING PADA PROGRAM PCR TERHADAP
KEBERHASILAN AMPLIFIKASI DNA UDANG JARI
(*Metapenaeus elegans*) LAGUNA SEGARA ANAKAN CILACAP
JAWA TENGAH**

SKRIPSI

Oleh:
AYU LUDYASARI
NIM. 09620007

Telah Disetujui oleh:
Tanggal: 14 November 2014

DosenPembimbing I,

Dr. Retno Susilowati, M. Si
NIP. 19671113 199402 2 001

DosenPembimbing II,

Dr. H. Munirul Abidin, M. Ag
NIP.19720420 200212 1 003

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 2003 12 2 002

**PENGARUH SUHU ANNEALING PADA PROGRAM PCR TERHADAP
KEBERHASILAN AMPLIFIKASI DNA UDANG JARI
(*Metapenaeus elegans*) LAGUNA SEGARA ANAKAN CILACAP
JAWA TENGAH**

SKRIPSI

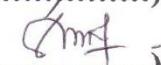
Oleh:
AYU LUDYASARI
NIM. 09620007

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)**

Tanggal, 24 November 2014

Susunan Dewan Penguji :

- | | | |
|-------------------------|--|---------------------|
| 1. Penguji Utama | : Dr. drh. Bayyinatul M., M. Si | Tanda tangan |
| | NIP. 19710919 200003 2 001 | |
| 2. Ketua Penguji | : Kholifah Holil, M. Si | |
| | NIP. 19751106 200912 2 002 | |
| 3. Sekretaris | : Dr. Retno Susilowati, M. Si | (.....) |
| | NIP. 19671113 199402 2 001 | |
| 4. Anggota | : Dr. H. Munirul Abidin, M. Ag | (.....) |
| | NIP. 19720420 200212 1 003 | |



**Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Jurusan Biologi,**



PERSEMBAHAN

Saya persembahkan karya besar ini kepada:

Ibuku tercinta "Mastutik", Bapakku tercinta "Achmad Jaini", dan adikku tercinta "Dwi Cahya Prastyaa Rini" terimakasih atas kasih sayang, cinta, do'a dan motivasi yang kalian berikan selama ini demi kesuksesanku, Love you forever.

Seluruh keluarga besarku di Kediri " Tante Awin, Om Uun, dan ponakan kecilku Weni" keluarga Puwosari " Mbak Yuli, Cacak Karto, dan ponakan jagoanku Ifan, spesial untuk Dwi Putra, Ibu Riati dan Bapak Juri" keluaga Jakarta " Kokong, Senek, Tante Heni" terimakasih atas do'a, dan motivasi yang telah kalian berikan dan keluaga Cilacap "Mang Roni, Mba Tri, Hilwan", terimakasih atas do'a, dan motivasi yang telah kalian berikan selama pengambilan sampel udang jari di Cilacap.

Dosen-dosen yang telah meluangkan waktu, membimbing, memberikan semangat dan telah banyak menyalurkan ilmu untukku, baik materi maupun mental, terutama Ibu "Retno Susilowati", terimakasih Bu, semua pesan dan motivasimu untukku takkan pernah ku lupakan.

Teman-teman seperjuanganku selama penelitian ini "Arya, Mar'a, Asif, Rukmana, Cita", terimakasih atas dukungannya, bantuannya, takkan pernah kulupakan "Perjuangan dan Kebersamaan" bersama kalian selama dilaboratorium.

Sahabat-sahabat tersayang "Arum, Ani, Heni, Rista, Yusria, Finka, Asnal, Mbak Luluk, Hamid, Bang Riko, Claudia, Ria, Deva, Yongki, Wahyu" dan semua teman-teman Biologi angkatan 2009 bersama kalian yang penuh kenangan, terimakasih telah menemani hari-hariku, semuanya yang telah ikhlas memberikan bantuan baik berupa semangat, nasihat serta sarannya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dan semoga silaturahmi kita selalu terjalin, takkan kulupakan kalian semua.

مَنْ جَدَّ وَ جَدَّ

“Barang Siapa yang bersungguh-sungguh pasti akan berhasil”
Keindahan sesungguhnya dalam sebuah perjuangan bukan pada hasilnya.
Tapi kenikmatan-kenikmatan yang timbul dari proses perjuangan tadi.

*Kedamaian, Ketenangan dan Ketelitian Dalam Bertindak
Akan Mengarahkan Pada Keputusan Yang Tepat*

**SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ayu Ludyasari
NIM : 09620007
Fakultas / Jurusan : Sains dan Teknologi / Biologi
Judul Penelitian : Pengaruh Suhu *Annealing* pada Program PCR terhadap Keberhasilan Amplifikasi DNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) Laguna Segara Anakan Cilacap Jawa Tengah

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 24 November 2014
yang membuat pernyataan,



Ayu Ludyasari
NIM. 09620007

KATA PENGANTAR



Assalamualaikum Wr. Wb

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, atas segala limpahan rahmat taufiq dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya yang telah mengawali upaya menegakkan cita-cita Islam di muka bumi ini. Penulis menyadari banyak pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Untuk itu, irungan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M. Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M. P, selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Ulfa Utami, M. Si, selaku Dosen Wali, karena atas bimbingan, pengarahan dan kesabarannya penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dengan baik.
5. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si dan Kholifah Holil, M. Si, selaku dosen penguji proposal dan ujian skripsi, atas saran dan masukan baik ketika ujian proposal maupun ujian skripsi.
6. Dr. Retno Susilowati, M. Si, selaku Dosen Pembimbing Biologi, karena atas bimbingan, pengarahan dan kesabarannya kepada penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.

7. Dr. H. Munirul Abidin, M. Ag, selaku Dosen Pembimbing Agama, karena atas bimbingan, pengarahan dan kesabarannya kepada penulisan skripsi ini dapat terselesaikan
8. Segenap civitas akademika Jurusan Biologi, terutama seluruh dosen, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
9. Seluruh laboran Biologi (Mas Mail, Mas Shaleh, Mbak Lil, Mbak Retno, Mas Basar dan Mas Zulfan) yang telah memberi ilmu-ilmu baru ketika di laboratorium.
10. Seluruh pihak yang telah membantu dan memberikan dukungannya hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis mengharapkan semoga skripsi ini memberikan khasanah pengetahuan untuk kemajuan pendidikan. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca umumnya. Amin ya Robbal' alamiin...

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb

Malang, 24 November 2014

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PENGAJUAN | ii |
| HALAMAN PERSETUJUAN | iii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iv |
| PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN..... | v |
| MOTTO | vi |
| PERSEMBAHAN..... | vii |
| KATA PENGANTAR..... | viii |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR GAMBAR | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| ABSTRAK | xxi |
| | |
| BAB I. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 8 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 8 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 8 |
| 1.5 Batasan Masalah | 9 |
| | |
| BAB II. KAJIAN PUSTAKA | 10 |
| 2.1 Udang Jari (<i>Metapenaeus elegans</i>) | 10 |
| 2.1.1 Tinjauan Umum Udang Jari (<i>Metapenaeus elegans</i>) | 10 |
| 2.1.2 Klasifikasi Udang Jari (<i>Metapenaeus elegans</i>) | 11 |
| 2.1.3 Morfologi dan Anatomi Udang Jari (<i>Metapenaeus elegans</i>) | 12 |
| 2.1.4 Siklus Hidup | 16 |
| 2.2 Keragaman Genetik | 18 |
| 2.2.1 Keragaman Fenotip dan Genotip | 19 |
| 2.3 Gen dan DNA (<i>Deoxyribonucleic Acid</i>) | 20 |
| 2.4 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)..... | 23 |
| 2.4.1 Langkah PCR..... | 25 |

| | |
|---|-----------|
| 2.4.2 Siklus PCR | 26 |
| 2.4.2.1 Denaturasi..... | 26 |
| 2.4.2.2 Primer dan <i>Annealing</i> | 27 |
| 2.4.2.3 Ekstension | 30 |
| 2.4.3 Komponen PCR | 30 |
| 2.5 Metode Ekstraksi DNA | 31 |
| BAB III. METODE PENELITIAN | 33 |
| 3.1 Rancangan Penelitian | 33 |
| 3.2 Variabel Penelitian | 33 |
| 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian | 34 |
| 3.4 Sampel | 34 |
| 3.5 Alat dan Bahan | 34 |
| 3.5.1Alat | 34 |
| 3.5.2 Bahan | 34 |
| 3.6 Prosedur Penelitian..... | 35 |
| 3.7 Kerangka Operasional Penelitian | 36 |
| 3.7.1 Ekstraksi DNA..... | 36 |
| 3.7.2 Analisa PCR | 37 |
| 3.7.3 Pengukuran Kuantitas DNA dengan Spektrofotometer..... | 38 |
| 3.7.4 Elektroforesis..... | 39 |
| 3.8 Analisa Data | 40 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 41 |
| 4.1 Uji Kuantitas DNA Udang Jari (<i>Metapenaeus elegans</i> De Man, 1907) Laguna Segara Anakan Cilacap Jawa Tengah dengan Spektrofotometer..... | 41 |
| 4.2 Karakter Genetik Udang Jari (<i>Metapenaeus elegans</i> De Man, 1907) Laguna Segara Anakan Cilacap Jawa Tengah..... | 44 |
| 4.3 Optimasi Amplifikasi PCR daerah kontrol DNA Udang Jari (<i>Metapenaeus elegans</i> De Man, 1907) Laguna Segara Anakan Cilacap Jawa Tengah menggunakan primer COIL dan COIH | 48 |

| | |
|--------------------------------|-----------|
| BAB V. PENUTUP | 55 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 55 |
| 5.2 Saran | 55 |
| DAFTAR PUSTAKA | 56 |
| LAMPIRAN-LAMPIRAN | 61 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|------------|---|----|
| Gambar 2.1 | <i>Metapenaeus elegans</i> (De Man, 1907)..... | 12 |
| Gambar 2.2 | Morfologi udang jari (<i>Metapenaeus elegans</i>)..... | 14 |
| Gambar 2.3 | Alat kelamin pada udang jari (<i>Metapenaeus elegans</i>)..... | 16 |
| Gambar 2.4 | Siklus hidup udang jari (<i>Metapenaeus elegans</i>)..... | 18 |
| Gambar 2.5 | Struktur basa DNA..... | 25 |
| Gambar 2.6 | Siklus tunggal PCR..... | 28 |
| Gambar 3.1 | Kerangka Operasional Penelitian | 38 |
| Gambar 4.1 | Elektroforegram hasil eksiraksi DNA total udang jari (<i>Metapenaeus elegans</i> De Man, 1907) Laguna Segara Anakan Cilacap Jawa Tengah dengan menggunakan metode Elektroforeis gel Agarose | 47 |
| Gambar 4.2 | Elektroforegram hasil PCR dari ekstraksi DNA genom udang jari (<i>Metapenaeus elegans</i>) dengan Primer COIL dan COIH | 51 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|------------|---|----|
| Lampiran 1 | Data dan Analisis Karakter Genetik Udang Jari <i>(Metapenaeus elegans</i> De Man, 1907)..... | 61 |
| Lampiran 2 | Skema Kerja Ekstraksi DNA Udang Jari <i>(Metapenaeus elegans)</i> | 64 |
| Lampiran 3 | Skema Kerja Pengukuran Kuantitas DNA Udang Jari <i>(Metapenaeus elegans)</i> | 65 |
| Lampiran 4 | Skema Kerja Amplifikasi PCR DNA Udang Jari <i>(Metapenaeus elegans)</i> | 66 |
| Lampiran 5 | Dokumentasi Penelitian..... | 67 |

ABSTRAK

Ludyasari, Ayu. 2014. Pengaruh Suhu Annealing pada Program PCR Terhadap Keberhasilan Amplifikasi DNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans* De Man, 1907) Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah. Pembimbing Biologi: Dr. RetnoSusilowati, M.Si. Pembimbing Agama: Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag.

Kata Kunci : Udang Jari (*Metapenaeus elegans*), Annealing, PCR

Penurunan ekosistem yang terjadi di Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah telah mengakibatkan masalah terhadap penurunan jumlah produksi Udang Jari (*Metapenaeus elegans*). Menurunnya jumlah produksi Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) juga akan mempengaruhi keragaman genetik yang dianggap penting karena sumberdaya genetik merupakan kunci penting bagi suatu individu untuk bertahan hidup sampai generasi yang akan datang. Informasi mengenai keragaman genetik digunakan sebagai dasar seleksi genotip yaitu DNA. Analisis DNA semakin terbantu dengan adanya amplifikasi PCR yang memanfaatkan cara replikasi DNA. Namun keberhasilan amplifikasi PCR dipengaruhi oleh suhu *annealing* yang optimal dalam proses penempelan primer. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu *annealing* pada program PCR terhadap keberhasilan amplifikasi DNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans*).

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 individu udang jari (*Metapenaeus elegans*) bagian kaki jalan dan ekor yang diambil dari hasil tangkapan dari Laguna Segara Anakan, Cilacap, Jawa Tengah. Sampel tersebut diekstraksidan diamplifikasi dengan metode PCR. Parameter penelitian adalah kadar kemurnian DNA pada absorbansi A_{260/280}, ukuran DNA total (bp) hasil ekstraksi, ukuran mtDNA (bp) hasil PCR.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu *annealing* mempengaruhi keberhasilan amplifikasi PCR yaitu suhu 44°C. Pengaruh tersebut ditunjukkan dari kadar kemurnian DNA pada absorbansi A_{260/280} berkisar antara 1,65-2,07 µg/µl dan dari hasil elektroforesis berupa pita DNA total Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) yang didapatkan berukuran 12000 bp dan pita tunggal mtDNA berukuran 950 bp dan sedikitnya *smear* yang terbentuk.

ABSTRACT

Ludyasari, Ayu. 2014. The Annealing Temperature Effect on the Success of the Programme Against PCR Amplification of DNA Finger Shrimp (*Metapenaeus elegans* De Man, 1907) Segara Anakan, Cilacap, Central Java. Biology Lecturer: Dr. RetnoSusilowati, M.Sc. and Religion Lecturer: Dr. H. MunirulAbidin, M.Ag.

Keywords: Shrimp Finger (*Metapenaeus elegans*), Annealing, PCR

The Ecosystem decline occurring in Segara Anakan, Cilacap, Central Java, has resulted in the problem of the decline in the number of shrimp production Finger (*Metapenaeus elegans*). Decreasing the amount of shrimp production Finger (*Metapenaeus elegans*) will also affect the genetic diversity that are considered important because of genetic resources is an important key for an individual to survive to the next generation. Information on genetic diversity is used as a basis for selection, namely DNA genotyping. DNA analysis further helped by the PCR amplification method that utilizes DNA replication. But the success of PCR amplification is influenced by the optimal annealing temperature in the annealing process. Therefore, this study aimed to determine the effect of annealing temperature in the PCR program to successful DNA amplification Shrimp Finger (*Metapenaeus elegans*).

This research is a descriptive study. The sample used in this study was 5 individual finger shrimp (*Metapenaeus elegans*) road legs and tail section were taken from the catch of Segara Anakan, Cilacap, Central Java. The sample is extracted and amplified by PCR. Parameters of the study is the purity of DNA in absorbance A_{260/280}, the size of the total DNA (bp) extraction results, the size of mtDNA (bp) PCR results.

Based on the results of the study indicate that the annealing temperature affects the success of PCR amplification as temperature 44°C. The influence of the purity of the DNA shown in absorbance A_{260 / 280} ranged from 1.65 to 2.07 g / ml and the results of electrophoresis in the form of DNA bands Finger total shrimp (*Metapenaeus elegans*) were obtained measuring tape 12000 bp and 950 bp sized single mtDNA and at least smear formed.

مختصر البحث

لودياساري ، أيو. 2014. تأثير التلدين درجة الحرارة على نجاح برنامج مكافحة PCR التضخيم من فنجر DNA الروبيان (ايليغانس ميتافينيوس) ديرمان، 1907 سجرا الفلاحون، سيلاكاب، جاوة الوسطى. المشرف دة البيولوجيا: الدكتورة ريتنا سويسلاوتيا لمجستير والمشرف الدين: الدكتورة الحاج منير العابدين الماجستير.

الكلمات الرئيسية : فنجر الروبيان (ايليغانس ميتافينيوس) ، التلدين ، PCR تدهور النظم البيئية التي تحدث في سجرا الفلاحون، سيلاكاب، جاوة الوسطى، قد أدى إلى مشكلة انخفاض في عدد من إنتاج الجموري (ايليغانس ميتافينيوس) . خفض كمية فنجر إنتاج الروبيان (ايليغانس ميتافينيوس) سوف تؤثر أيضا على التنوع الجيني التي تعتبر مهمة للملامارات الوراثية هو مفتاح مهم للفرد من أجل البقاء إلى الجيل التالي. يتم استخدام المعلومات على التنوع الوراثي كأساس للاختيار، وهي التنميط الجيني . DNA ساعد تحليل الحمض النووي من جراء أسلوب التضخيم PCR التي تستخدم تكرار الحمض النووي. ولكن نجاح PCR التضخيم يتتأثر درجة حرارة الصلب المثلث في عملية الصلب. وبالتالي، فإن هذه الدراسة تهدف إلى تحديد تأثير درجة الحرارة الصلب في برنامج PCR لنجاح التضخيم DNA الروبيان (ايليغانس ميتافينيوس).

هذا البحث هو دراسة وصفية. وكانت العينة المستخدمة في هذه الدراسة 5 فرد من الروبيان الإصبع (ايليغانس ميتافينيوس) الساقين الطرق وذيل أحذت من صيد سجرا الفلاحون، سيلاكاب، جاوة الوسطى. يتم استخراج العينة وتضخيمه من قبل PCR. المعلومات من هذه الدراسة هو نقاء من الحمض النووي في الامتصاصية A₂₆₀ / 280، حجم DNA الكلي (بي بي) النتائج استخراج، وحجم mt DNA النتائج (bp).

وبناء على نتائج الدراسة تشير إلى أن درجة الحرارة الصلب يؤثر على نجاح PCR التضخيم درجة الحرارة 44 ° . تأثير نقاء DNA هو مبين في الامتصاصية A₂₆₀ / 280 تراوحت 1,65 - 2,07 ز / مل ونتائج الكهربائي في شكل عصابات DNA فنجر إجمالي الروبيان (ايليغانس ميتافينيوس) تم الحصول على قياس الشريط 12000 سنة مضت و 950 نقطة أساس و mt DNA واحد الحجم وعلى الأقل تشويه شكلت.