

**STUDI PENGUJIAN BEBERAPA METODE ISOLASI DNA
DARI SPESIMEN HERBARIUM *Rafflesia***

SKRIPSI

**Oleh :
HERI SANTOSO
NIM. 08620061**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2013**

**STUDI PENGUJIAN BEBERAPA METODE ISOLASI DNA
DARI SPESIMEN HERBARIUM *Rafflesia***

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:

**HERI SANTOSO
NIM.08620061**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2012**

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Heri Santoso

NIM : 08620061

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi

Judul penelitian : Studi Pengujian Beberapa Metode Isolasi DNA dari
Spesimen Herbarium *Rafflesia*

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

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

Malang, 11 April 2013

Penulis,

A handwritten signature in black ink is written over a green 6000 Rupiah stamp and a red DJP (Denda Janjikan Pajak) stamp. The green stamp includes the text 'METERAI TEMPEL', 'PAJAK MEMBANGUN PANGSA', 'TOL', 'CBCCFAAF000232718', and 'ENAM RIBU RUPIAH'. The red stamp has the letters 'DJP' in white.

Heri Santoso

NIM.08620061

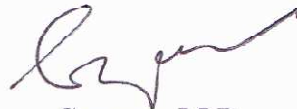
HALAMAN PERSETUJUAN
STUDI PENGUJIAN BEBERAPA METODE ISOLASI DNA
DARI SPESIMEN HERBARIUM *Rafflesia*

SKRIPSI

Oleh:
HERI SANTOSO
NIM.08620061

Telah disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I



Suyono, M.P

NIP. 19710622 200312 1 002

Dosen pembimbing II



Umaiyatus Syarifah, M.A

NIP. 19820925 200901 1 010

Tanggal, 04 April 2013



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd

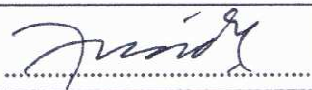
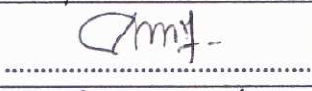
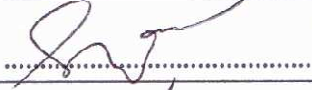
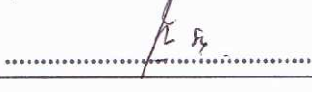
NIP. 19630114 199903 1 001

HALAMAN PENGESAHAN
STUDI PENGUJIAN BEBERAPA METODE ISOLASI DNA
DARI SPESIMEN HERBARIUM *Rafflesia*

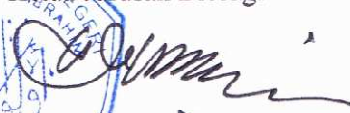
SKRIPSI

Oleh:
HERI SANTOSO
NIM.08620061

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Tanggal 11 April 2013

Penguji Utama:	<u>Dr. Evika Sandi Savitri, M.P</u> NIP. 19741018 200312 2 002	
Ketua Penguji:	<u>Dr. Retno Susilowati, M.Si</u> NIP. 19741113 199402 2 001	
Sekretaris Penguji:	<u>Suyono, M.P</u> NIP. 19710622 200312 1 002	
Anggota Penguji	<u>Umayyatus Syarifah, M.A</u> NIP.19820925 200901 1 010	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi


Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd
NIP.19630114199903 1 001



Halaman Persembahkan

Karya tulis ini saya persembahkan;
Sebagai bentuk syukur kepada Allah Swt. Atas karunia tiada
batasnya...

Kepada Nabi Muhammad Saw. Habibullah..

Kepada para sahabat nabi, para shalihin, habaib, masyayikh,
para kiyai penerus para nabi.

Kepada kedua orangtua yang memberikan dukungan sejati
selama ini

Kepada para cendekiawan atas perjuangannya membuka
IlmuNya

Teman-teman yang menjadikan hidup lebih berwarna

HALAMAN MOTTO

إِنَّمَا أَشْكُوا بَثِّي وَحُزْنِي إِلَى اللَّهِ

*"Sesungguhnya hanyalah kepada Allah aku mengadakan
kesusahan dan kesedihanku"*

Q.5 Yusuuf:86



KATA PENGANTAR



Assalamu 'alaikum Wr. Wb

Puji syukur bagi Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“STUDI PENGUJIAN BEBERAPA METODE ISOLASI DNA DARI SPESIMEN HERBARIUM *Rafflesia*”**. Shalawat serta salam tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Untuk itu, iringan do'a dan ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Drs. H. Sutiman Bambang Sumitro, S.U. DSc, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. H. Eko Budi Minarno M.Pd, selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Suyono, M.P, selaku Dosen Pembimbing yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Umayyatus Syarifah, M.A, selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Dr. Ridha Mahyuni, M.Si, Dr. Ary P. Keim, dan Dr. Hari Kartawinata atas diskusi berharganya kepada penulis saat penulis mengikuti kegiatan magang di lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
7. Dr. Agus Susatya, selaku dosen jurusan kehutanan Universitas Bengkulu atas diskusi berharganya serta bantuan dari beliau sehingga penulis dapat mengakses sampel herbarium *Rafflesia arnoldii*.
8. Sofiyanti M. Si, selaku peneliti *Rafflesia* Kebun Raya Bogor atas diskusi berharganya serta bantuan dari beliau sehingga penulis dapat mengakses sampel herbarium *Rafflesia patma*.
9. Dr. Tetty Chaidamsari, selaku peneliti utama di Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia atas diskusi berharganya.
10. Ayahanda dan Ibunda tercinta serta kakak penulis yang dengan sepenuh hati memberikan dukungan spiritual maupun materil sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
11. Yudho Hanggo Pramono, S.Si sekeluarga atas segenap bantuan kepada penulis selama berada di Bengkulu.

12. Teman-teman seperjuangan Biologi angkatan 2008 terimakasih atas motivasi, kerjasama, kekompakan dan kesabarannya sehingga penelitian ini bisa selesai sesuai harapan.
13. Segenap Staf Administrasi Jurusan Biologi yang telah memberikan dukungan, motivasi dan semangatnya. Semoga kesuksesan menyertai kalian.
14. Teman-teman kontrakan Ponpes 231 D atas kebersamaannya selama ini.
15. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang memberikan do'a, semangat, dukungan, saran dan pemikiran sehingga penulisan ini menjadi lebih baik dan terselesaikan.

Semoga Allah memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya. Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan dapat menjadi inspirasi bagi pembaca pada umumnya.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Malang, 4 April 2012

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Penelitian	7

BAB II KAJIAN PUSTAKA

2.1 Biologi <i>Rafflesia</i>	8
2.1.1 Morfologi <i>Rafflesia</i>	8
2.1.2 Sistematika dan Persebaran <i>Rafflesia</i>	9
2.1.3 Siklus Hidup dan Ekologi	12
2.2 Teknik Isolasi DNA	16
2.3 Uji Hasil Isolasi DNA	18
2.4 Herbarium	19

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian.....	21
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	21
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	
3.3.1 Alat Penelitian.....	22
3.3.2 Bahan Penelitian.....	22
3.4 Prosedur Kerja	
3.4.1 Protokol I.....	23
3.4.2 Protokol II	24
3.4.3 Protokol III	25
3.4.4 Protokol IV	26
3.5 Analisis Data	27

BAB IV PEMBAHASAN

4.1 Warna Isolat DNA dari Beberapa Spesimen <i>Rafflesia</i>	28
4.2 Berat dan Konsentrasi Akhir Isolat DNA dari Spesimen <i>Rafflesia</i>	30
4.3 Tingkat Kontaminasi Isolat DNA dari Beberapa Spesimen <i>Rafflesia</i>	33
4.4 Hasil Running Elektroforesis Isolat DNA.....	34
4.5 Kajian Keislaman	35

BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN-LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis-Jenis Rafflesia di Dunia	10
Tabel 3.1 Keterangan Spesimen Herbarium Rafflesia	21
Tabel 3.2 Bahan-bahan Penelitian.....	22
Tabel 4.1 Warna Isolat DNA	28
Tabel 4.2 Hasil Akhir Berat dan Konsentrasi DNA.....	30
Tabel 4.3 Tingkat Kontaminasi Isolat DNA	33

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul	Halaman
	Gambar 2.1 Penampangan Morfologi <i>Rafflesia</i>	8
	Gambar 2.2 Anatomi <i>Rafflesia</i>	9
	Gambar 2.3 Filogenetik <i>Rafflesia</i>	11
	Gambar 2.4 Rekonstruksi Siklus Hidup <i>Rafflesia</i>	13
	Gambar 2.5 Hasil Elektroforesis DNA	26
	Gambar 4.1 Grafik Kurva Pertumbuhan <i>Lactobacillus plantarum</i>	35

ABSTRACT

Santoso, Heri. 2013. **Study of Testing in Isolation Methods of DNA from Herbarium Specimens *Rafflesia***. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology The Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor: (I) Suyono, M.P. (II) Umayyatus Syarifah, M.A.

Keywords: DNA, DNA Isolation, Herbarium, *Rafflesia*

Rafflesia is an unique plant which very different to compare with higher plants. Nearly most of the species in the genus *Rafflesia* classified as rare plants with precarious status (endangered) (EN 3cd) according to the IUCN 1994 criteria in the number of individuals, populations and genetic diversity. Conservation *Rafflesia* constrained because of three main factors: biology, reproduction and population. Several attempts have been made in *Rafflesia* conservation efforts. One of the modern conservation efforts that can be applied is the storing technology of deoxyribonucleic acid or DNA. DNA storing is expected to maintain the biodiversity contained within a plant for hundreds of years. Collecting fresh material of *Rafflesia* is difficult, and not always possible to collect specimens. An alternative which can be used is isolation of DNA from herbarium specimens.

This research uses quantitative description method that aims to provide information about the testing methods of DNA isolation from herbarium specimens of *Rafflesia*. Four methods were tested are Promega Kit, DNA Plant Mini Kit, CTAB (Doyle and Doyle method, (1990) and the CTAB method Cota-Sanchez, (2006). Herbarium specimens collected are: *Rafflesia patma* (organ braktea) from Bogor Botanical Gardens - LIPI and *Rafflesia arnoldii* (braktea, discs and perigon) from collection of Forestry Departement the University of Bengkulu.

The results showed that the CTAB method of Doyle and Doyle, (1990) produced isolates DNA from specimen BrRp, BrRa, CaRa, PeRa with concentrations: 21.2 ng/mL, 127.3 ng/mL, 274.9 ng/mL and 65.0 ng/mL. CTAB method Cota-Shancez et. al., (2006) resulted in the concentration of DNA isolates BrRp, BrRa, CaRa and PeRa, respectively: 4.4 ng/mL, 64.3 ng/mL, 22.5 ng/mL and 29.1 ng/mL. Both methods produce DNA isolates containing protein contaminants. Isolates obtained from the results have not been clear enough to show the band.

ABSTRAK

Santoso, Heri. 2013. **Studi Pengujian Beberapa Metode Isolasi DNA dari Spesimen Herbarium *Rafflesia***. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) Suyono, M.P. (II) Umayatus Syarifah, M.A.

Kata Kunci: DNA, Isolasi DNA, Herbarium, *Rafflesia*

Rafflesia adalah tumbuhan unik yang sangat berbeda jika dibandingkan dengan tumbuhan tinggi pada umumnya. Hampir semua spesies dalam marga *Rafflesia* dikategorikan sebagai tumbuhan langka dengan status genting (*endangered*) (EN 3cd) sesuai dengan kriteria IUCN 1994 yang takson dan populasinya cenderung berkurang, baik dalam jumlah individu, populasi maupun keanekaragaman genetiknya. Konservasi *Rafflesia* terkendala karena tiga faktor utama yaitu biologi, reproduksi dan populasi. Beberapa usaha yang telah dilakukan dalam upaya konservasi *Rafflesia*. Salah satu upaya konservasi modern yang dapat ditempuh saat ini adalah dengan teknologi penyimpanan *deoxyribonucleic acid* atau DNA. Penyimpanan DNA diharapkan dapat mempertahankan kekayaan hayati yang terkandung di dalam suatu tumbuhan selama ratusan tahun. Mengumpulkan material segar *Rafflesia* adalah sulit, dan tidak selalu mungkin untuk mengumpulkan spesimen. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah isolasi DNA dari spesimen herbarium.

Penelitian ini menggunakan metode deskripsi kuantitatif yang bertujuan untuk memberikan informasi mengenai pengujian metode isolasi DNA dari spesimen herbarium *Rafflesia*. Tiga metode yang diujikan adalah Kit Promega, Kit Plant DNA Mini, CTAB (metode Doyle and Doyle, (1990) dan metode CTAB Cota-Sanchez, (2006). Beberapa spesimen herbarium berhasil dikoleksi adalah: *Rafflesia patma* (organ braktea) Kebun Raya Bogor-LIPI dan *Rafflesia arnoldii* (braktea, cakram dan perigon) koleksi Jurusan kehutanan Universitas Bengkulu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Metode CTAB Doyle and Doyle, (1990) menghasilkan isolat DNA dari spesimen BrRp, BrRa, CaRa, PeRa dengan konsentrasi berturut-turut: 21,2 ng/ μ L, 127,3 ng/ μ L, 274,9 ng/ μ L dan 65,0 ng/ μ L. Metode CTAB Cota-Shancez *et. al.*, (2006) menghasilkan konsentrasi isolat DNA BrRp, BrRa, CaRa dan PeRa masing-masing: 4,4 ng/ μ L, 64,3 ng/ μ L, 22,5 ng/ μ L dan 29,1 ng/ μ L. Kedua metode menghasilkan isolat DNA yang mengandung kontaminan protein. Hasil isolat yang diperoleh dari belum cukup memperlihatkan pita yang jelas.

المخلص

سنتوسو، هيري. 2013. اختبار دراسة لبعض طرق عزل الحمض النووي من عينات معشبة رافليسيا. أطروحة. قسم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة ولاية الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف: (I) سويونو، الماجستير (II) Umayyaton Syarifah

كلمات البحث: الحمض النووي والحمض النووي العزلة، معشبة، رافليسيا

رافليسيا هو النبات الفريدة التي هي مختلفة جدا بالمقارنة مع النباتات العليا بشكل عام. تقريبا جميع أنواع رافليسيا في تصنيفها على أنها نباتات نادرة مع حالة غير مستقرة (EN 3CD) (Endagered) وفقا لمعايير IUCN الأصناف (1994). السكان خفضت، سواء من حيث العدد من الأفراد، والسكان والتنوع الجيني. حفظ رافليسيا مقيدة بسبب ثلاثة عوامل رئيسية، وهي البيولوجيا والاستنساخ والسكان. وقد بذلت عدة محاولات في جهود المحافظة رافليسيا. واحدة من الجهود الحديثة الحفظ التي يمكن اتخاذها في هذا الوقت هو التخزين تكنولوجيا الحمض النووي. ومن المتوقع أن الحفاظ على التنوع البيولوجي الواردة في مصنع لمئات السنين تخزين الحمض النووي. رافليسيا جمع المواد الطازجة أمر صعب، وليس من الممكن دائما لجمع العينات. بديل واحد هو أن تفعل عزل الحمض النووي من العينات العشبية.

هذا البحث هو البحث الوصفي الكمي التي تهدف إلى تقديم معلومات عن طريقة اختبار عزل الحمض النووي من عينات معشبة رافليسيا. تم اختبار أربعة أساليب PROMEGA كيت، كيت DNA النبات البسيطة، CTAB، ودويل دويل (1990) وCTAB، Shanchez كوتا وآخرون. آل، (2006). بعض العينات التي تم جمعها معشبة تدار patma رافليسيا (الجهاز braktea) من بوجور الحديقة النباتية - معهد العلوم الإندونيسي ورافليسيا arnoldii (perigon وcakram، braktea) من قسم الأحياء، جامعة بنجكولو.

وأظهرت النتائج أن الأسلوب CTAB من دويل ودويل، (1990) أنتجت يعزل DNA من عينات BrRa، BrRp، الطريقة، بيرا مع تركيزات المتعاقبة: 21.2 نانوغرام / مل، 127.3 نانوغرام / مل، 274.9 نانوغرام / مل و65.0 نانوغرام / مل. CTAB طريقة كوتا-Shanchez وآخرون. AL، (2006)) أسفرت عن تركيز الحمض النووي يعزل BrRa، BrRp، طرق وبيرا، على التوالي: 4.4 نانوغرام / مل، 64.3 نانوغرام / مل، 22.5 نانوغرام / مل و29.1 نانوغرام / مل. كلا أساليب إنتاج العزلات التي تحتوي على الحمض النووي الملوثات البروتين. النتائج التي تم الحصول عليها من يعزل كلا الأسلوبين لم يتم أثبتت بما فيه الكفاية شريط واضح.