

perpustakaan.uns.ac.id

digilib.uns.ac.id

**STUDI KERAGAMAN GENETIK TANAMAN SIRSAK
(*Annona muricata* L.) DI JAWA BERDASARKAN PENANDA
MOLEKULER RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD)**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:
Sri Mulyani
NIM. M 0409057

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2013**

commit to user

PENGESAHAN

SKRIPSI

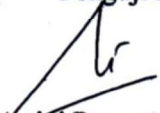
**STUDI KERAGAMAN GENETIK TANAMAN SIRSAK
(*Annona muricata* L.) DI JAWA BERDASARKAN PENANDA
MOLEKULER *RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA* (RAPD)**

Oleh:
Sri Mulyani
NIM. M 0409057


Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 07 JUN 2013
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta, Juli 2013

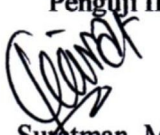
Penguji I


Dr. Artini Pangastuti, M.Si.
NIP. 19750531 200003 2 001

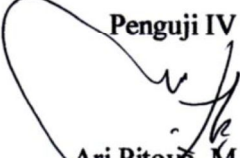
Penguji II


Dr. Ari Susilowati, M.Si.
NIP. 19690428 199702 2 006

Penguji III


Suratman, M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Penguji IV



Ari Pitoyo, M.Si.
NIP. 19780129 200501 1 001

Mengesahkan,

Dekan FMIPA

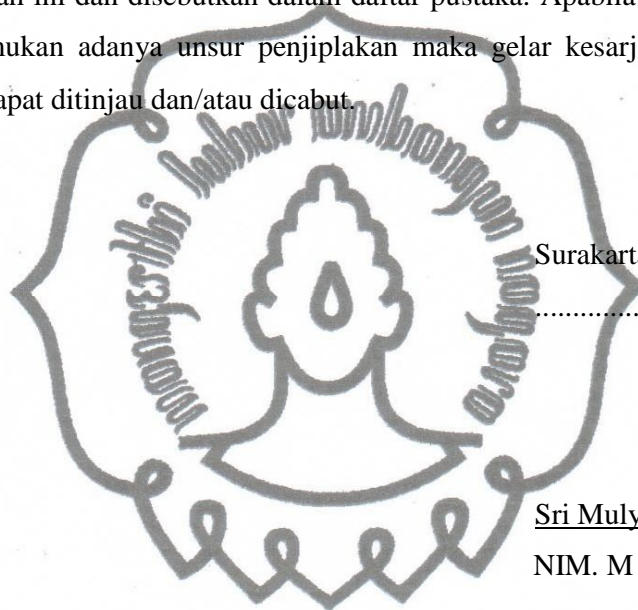

Prof. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc. (Hons), Ph.D.
NIP. 19610223 198601 1 001

Ketua Jurusan Biologi


Dr. Agung Budiharjo, M.Si.
NIP. 19680823 200003 1 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/atau dicabut.



Surakarta,

Sri Mulyani

NIM. M 0409057

**STUDI KERAGAMAN GENETIK TANAMAN SIRSAK
(*Annona muricata* L.) DI JAWA BERDASARKAN PENANDA
MOLEKULER RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD)**

SRI MULYANI

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Sebelas Maret, Surakarta

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman genetik dan hubungan kekerabatan tanaman sirsak di Jawa berdasarkan penanda molekuler *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD).

Pengambilan sampel daun sirsak sejumlah 10 tanaman per lokasi dilakukan secara acak (*purposive random sampling*) di beberapa lokasi di Pulau Jawa yaitu Jawa Tengah (Sukoharjo dan Karanganyar), Jawa Timur (Ngawi dan Pacitan), Yogyakarta (Kulonprogo dan Gunung Kidul) dan Jawa Barat (Bogor). Analisis RAPD dilakukan dengan ekstraksi DNA menggunakan metode *Hexadecyltrimethylammonium Bromide* (CTAB), kemudian dilakukan uji kualitas dan kuantitas DNA, seleksi primer RAPD, optimasi DNA dengan PCR dan separasi DNA hasil PCR dengan elektroforesis horizontal. Pita DNA hasil amplifikasi yang diperoleh kemudian dianalisis keragamannya secara deskriptif. Untuk menghitung jarak genetik digunakan analisis gerombol (*cluster analysis*) menggunakan metode *Unweighted Pair Group with Arithmetic Average* (UPGMA) yang ada dalam program POPGENE 1.32. Pengelompokan ini akan menampilkan hubungan kekerabatan genetik antarpopulasi tanaman sirsak dalam bentuk dendrogram yang dihasilkan dalam program *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* (NTSYS) versi 2.00.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keragaman RAPD pada populasi tanaman sirsak di Jawa dengan menggunakan 6 jenis primer (A18, A20, P10, P11, P04 dan P06) menghasilkan 152 pita DNA polimorfik (100% dari 152 pita DNA yang dapat diamati). Keragaman genetik tertinggi diperoleh pada populasi Karanganyar dengan nilai rata-rata keragaman genetik (h) sebesar $0,0525 \pm 0,1095$ sedangkan keragaman genetik terendah pada populasi Pacitan dengan nilai rata-rata keragaman genetik (h) sebesar $0,0418 \pm 0,1079$. Dendrogram hubungan kekerabatan berdasarkan penanda RAPD menunjukkan bahwa populasi Karanganyar dan Pacitan memiliki hubungan kekerabatan paling dekat dengan nilai jarak genetik 0,0244 sedangkan hubungan kekerabatan terjauh yaitu dari populasi Sukoharjo dan populasi Gunung Kidul dengan nilai jarak genetik sebesar 0,0410.

Kata kunci: keragaman genetik, sirsak, Jawa, RAPD.

commit to user

**GENETIC DIVERSITY STUDY OF THE SOURSOP PLANT
(*Annona muricata* L.) IN JAVA BASED ON RANDOM AMPLIFIED
POLYMORPHIC DNA (RAPD) MOLECULAR MARKER**

SRI MULYANI

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
Sebelas Maret University, Surakarta

ABSTRACT

This study aimed to determine the genetic diversity and relationship of soursop plants in Java based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) molecular marker.

The collection of soursop leaf samples was done by purposive random sampling with 10 individuals representing a population in Java include Central Java (consist of Sukoharjo and Karanganyar), East Java (consist of Ngawi and Pacitan), Yogyakarta (consist of Kulonprogo and Gunung Kidul) and West Java (only Bogor). RAPD analysis was done by using a Hexadecyltrimethylammonium Bromide (CTAB) DNA extraction method and then continued by the quality and quantity of DNA testing, primer selection, optimization DNA by PCR and separation PCR product with horizontal electrophoresis. DNA band amplification results which were obtained then analyzed descriptively. The cluster analysis using Unweighted Pair Group with Arithmetic Average (UPGMA) method which available in POPGENE 1.32 program was used to calculate the genetic distance. Genetic relationship clustering of the soursop plant among population obtained a dendogram using the Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (NTSYS) program version 2.00.

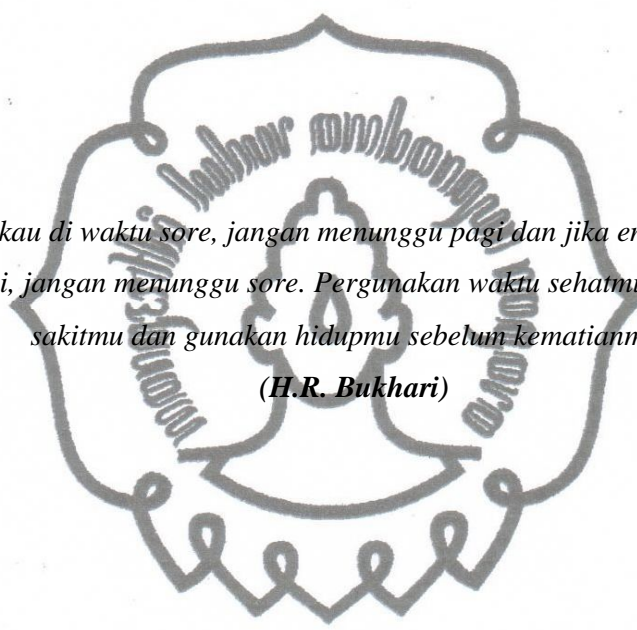
The results showed that RAPD diversity of soursop populations in Java using 6 types of primer (A18, A20, P10, P11, P04 and P06) produced 152 polymorphic DNA bands (100%) of 152 DNA bands can be observed. Highest genetic diversity produced on Karanganyar population with genetic diversity average value (h) was $0,0525 \pm 0,1095$ where as shortest genetic diversity on Pacitan population with genetic diversity average value (h) was $0,0418 \pm 0,1079$. Dendogram of the relationship based RAPD marker showed that the population of Karanganyar and Pacitan have nearest relationship with genetic distance value was 0,0244 where as the population of Sukoharjo and Gunung Kidul have farthest relationship with genetic distance value was 0,0410.

Keywords: genetic diversity, soursop, Java, RAPD

MOTTO

“...sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (urusanmu), tetaplah bekerja keras (urusan yang lainnya) dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap”

(Q.S. Al Insyirah: 6-7)



“Jika engkau di waktu sore, jangan menunggu pagi dan jika engkau berada di waktu pagi, jangan menunggu sore. Pergunakan waktu sehatmu sebelum waktu sakitmu dan gunakan hidupmu sebelum kematianmu”

(H.R. Bukhari)

PERSEMBAHAN



- Skripsi ini kupersembahkan untuk:*
- ❖ *Bapak dan Ibu Slamet Raharjo serta adikku Soni Agus Setyawan atas doa dan kasih sayang yang tak terhingga.*
 - ❖ *Kedua dosen pembimbing Suratman, M.Si dan Ari Pitoyo, M.Sc terima kasih atas proyek yang telah diberikan.*
 - ❖ *Almamater tercinta*

commit to user

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum wr.wb.

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberi limpahan rahmat dan hidayah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Studi Keragaman Genetik Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) di Jawa berdasarkan Penanda Molekuler *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD)”. Penyusunan skripsi ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam melakukan penelitian maupun penyusunan skripsi ini, penulis telah mendapatkan bimbingan, bantuan dan saran dari berbagai pihak yang sangat berguna dan bermanfaat secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc. (Hons.), Ph.D. selaku Dekan FMIPA UNS yang telah memberikan ijin penelitian untuk keperluan skripsi.
2. Dr. Agung Budiharjo, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA UNS yang telah memberikin ijin untuk keperluan skripsi dan memberikan motivasi selama penelitian maupun penyusunan skripsi.
3. Suratman, M.Si. selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan banyak bimbingan dan motivasi selama pelaksanaan penelitian hingga terselesaikannya penyusunan skripsi ini.

commit to user

4. Ari Pitoyo, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan banyak bimbingan dan motivasi selama pelaksanaan penelitian hingga terselesaikannya penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Artini Pangastuti, M.Si. selaku Dosen Penelaah I dan Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan arahan dan bimbingan selama penelitian, penyusunan skripsi dan pelaksanaan studi.
6. Dr. Ari Susilowati, M.Si. selaku Dosen Penelaah II yang telah banyak memberikan arahan dan bimbingan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
7. Ayah dan Ibu serta keluarga besar penulis yang tak henti-hentinya mencurahkan dorongan, semangat, kasih sayang dan motivasi kepada penulis.
8. Nina Kurnianingrum, S.Si., Nina Astreani, M.Si., Ahmad Fathoni, M.Eng., Andriyani, Atik Dwi Ningsih, A.Md., Ida Maya Sukma, S.Si., dan Ade Nan Suryani terima kasih atas motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
9. Antonius Y.P.B.C. Widyatmoko terima kasih atas bantuannya dalam analisis data.
10. Sahabatku Isna Jati A., Puput N., S. Ratnadewi, Sovia S.L., Ida R.S., Siti Rohmahwati, Meutia, Aken, Lilis, Ratna, Diki K., M. Yanuar, Alan, Nugroho, dan sahabatku Biologi 2009 terima kasih untuk jalinan persahabatan, semangat dan motivasi yang kalian berikan serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuannya.

Penulis menyadari penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu masukan berupa saran dan kritik yang membangun dari pembaca akan

commit to user

sangat membantu. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan penulis sendiri pada khususnya.

Surakarta, Juni 2013

Penyusun



commit to user

DAFTAR ISI

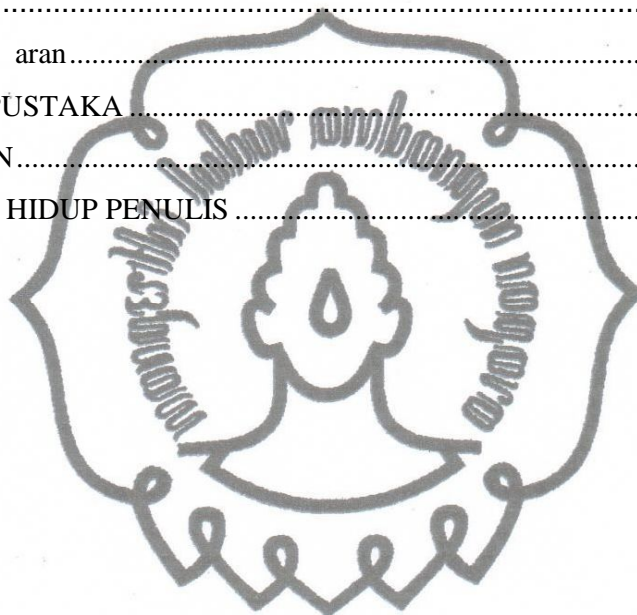
	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	I
HALAMAN PERSETUJUAN.....	Ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	Iii
ABSTRAK.....	Iv
ABSTRACT.....	V
HALAMAN MOTTO.....	Vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	Vi
	i
KATA PENGANTAR.....	Vi
	ii
DAFTAR ISI.....	Xi
DAFTAR TABEL.....	Xi
	ii
DAFTAR GAMBAR.....	Xi
	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	X
	v
DAFTAR SINGKATAN.....	X
	vi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A.....	L
atar Belakang Masalah.....	1
B.....	P
erumusan Masalah.....	4
C.....	T 4

commit to user

ujian Penelitian	
D.....	M
manfaat Penelitian	5
BAB II. LANDASAN TEORI	6
A.....	T
injauan Pustaka	6
1.....	S
sirsak (<i>Annona muricata</i> L.)	6
a.....	K
klasifikasi	6
b.....	N
nama Daerah	6
c.....	D
daerah Asal dan Persebaran	7
d.....	H
habitat Sirsak.....	7
e.....	M
morfologi Sirsak.....	8
f.....	K
komposisi Kandungan Kimia/Nutrisi	10
g.....	M
manfaat Sirsak	10
2.....	K
keragaman Genetik Tanaman	11
3.....	R
Random Amplified Polymorphic DNA (DNA)	12
4.....	H
hubungan Kekerbatan	16
B.....	K
kerangka Pemikiran	18
BAB III. METODE PENELITIAN.....	20

A.....	W	
aktu dan Tempat Penelitian		20
B.....	B	
ahan dan Alat		20
C.....	C	
ara Kerja		21
1.....	P	
engambilan Sampel.....		21
2.....	E	
kstraksi DNA		22
3.....	U	
uji Kualitas dan Kuantitas DNA		23
4.....	S	
eleksi Primer		24
5.....	O	
ptimasi PCR dan Amplifikasi DNA		25
6.....	S	
eparasi DNA Hasil PCR dengan Elektroforesis		25
D.....	A	
nalisis Data		26
1.....	A	
nalisis Keragaman Genetik		26
2.....	A	
nalisis Hubungan Kekerabatan.....		27
BAB IV. HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN		29
A.....	E	
kstraksi, Uji Kualitas dan Kuantitas DNA		29
B.....	S	
eleksi Primer RAPD.....		32
C.....	K	
eragaman Genetik Hasil <i>Random Amplified Polymorphic</i>		34

DNA (RAPD)
D..... H
 ubungan Kekerabatan..... 49
BAB V. PENUTUP..... 53
 A..... K
 esimpulan 53
 B..... S
 aran..... 53
DAFTAR PUSTAKA..... 54
LAMPIRAN..... 62
RIWAYAT HIDUP PENULIS..... 64



DAFTAR TABEL

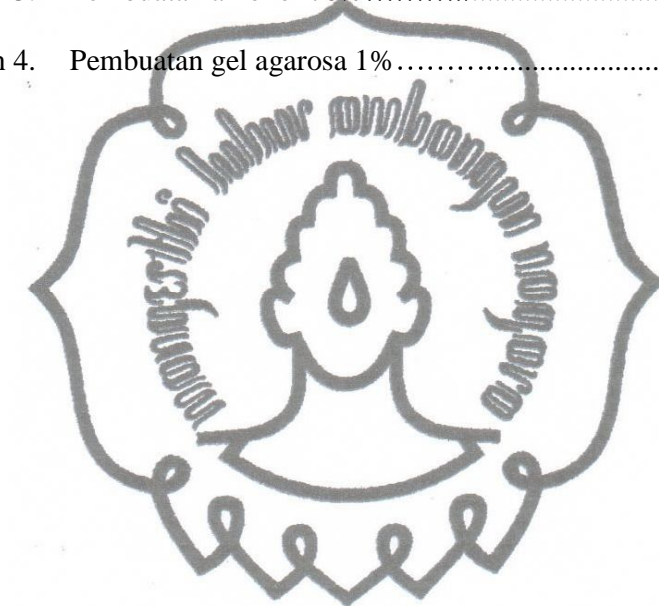
		Halaman
Tabel 1.	Kandungan zat gizi pada buah sirsak (setiap 100 g)	10
Tabel 2.	Lima belas jenis primer RAPD dan susunan basa yang digunakan dalam seleksi primer	25
Tabel 3.	Rasio kemurnian DNA tanaman sirsak di Jawa	31
Tabel 4.	Enam jenis primer RAPD, susunan basa, ukuran pita DNA dan kandungan G+C (%) hasil seleksi	33
Tabel 5.	Persentase jumlah pita DNA polimorfik dan monomorfik	34
Tabel 6.	Ukuran Pita DNA yang dihasilkan oleh 6 jenis primer RAPD.....	34
Tabel 7.	Rata - rata keragaman genetik pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan 6 jenis primer RAPD.....	35
Tabel 8.	Rata - rata keragaman genetik pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer A18.....	38
Tabel 9.	Rata - rata keragaman genetik pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer A20	40
Tabel 10.	Rata - rata keragaman genetik pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer P10	42
Tabel 11.	Rata - rata keragaman genetik pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer P11	44
Tabel 12.	Rata - rata keragaman genetik pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer P04.....	46
Tabel 13.	Rata - rata keragaman genetik pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer P06	48
Tabel 14.	Jarak genetik (<i>genetic distance</i>) antar populasi tanaman sirsak berdasarkan Nei's Gene Diversity (1972).....	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi sirsak	9
Gambar 2. Bagan alir kerangka pemikiran penelitian.....	19
Gambar 3. Profil DNA genom tanaman sirsak hasil ekstraksi.....	30
Gambar 4. Lima belas jenis primer RAPD hasil seleksi pada suhu 37°C.....	33
Gambar 5. Pola pita DNA pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer A18.....	37
Gambar 6. Pola pita DNA pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer A20.....	39
Gambar 7. Pola pita DNA pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer P10.....	41
Gambar 8. Pola pita DNA pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer P11.....	43
Gambar 9. Pola pita DNA pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer P04.....	45
Gambar 10. Pola pita DNA pada populasi tanaman sirsak di Jawa menggunakan primer P06.....	47
Gambar 11. Dendogram hubungan kekerabatan tanaman sirsak di Jawa menggunakan 6 jenis primer RAPD.....	50

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Tabel pengukuran faktor lingkungan abiotik tanaman sirsak di Jawa.....	62
Lampiran 2. Pembuatan ekstraksi CTAB.....	62
Lampiran 3. Pembuatan alkohol 70%.....	63
Lampiran 4. Pembuatan gel agarosa 1%.....	63



DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Keanjangan
AFLP	<i>Amplification Fragment Length Polymorphism</i>
<i>Buffer TE</i>	<i>Buffer Tris EDTA</i>
<i>Buffer TAE</i>	<i>Buffer Tris Acetic EDTA</i>
CTAB	<i>Hexadecyltrimethylammonium Bromide</i>
CIAA	<i>Chlorofom Isoamyl Alcohol</i>
DNA	<i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
ISSR	<i>Intersimple Sequence Repeat</i>
NTSYS	<i>Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RAPD	<i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
SSR	<i>Simple Sequence Repeats</i>
UPGMA	<i>Unweighted Pair Group with Arithmatic Average</i>

