

SKRIPSI

**MOLECULAR SEXING PADA ELANG JAWA (*Nisaetus bartelsi* Stresemann, 1924) dan ELANG BRONTOK (*Nisaetus cirrhatus* Gmelin, 1788)
HASIL SITAAN BKSDA DI YOGYAKARTA**

Disusun oleh:
Lince Ria Sitohang
NPM : 130801420



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017

MOLECULAR SEXING PADA ELANG JAWA (Nisaetus bartelsi Stresemann, 1924) dan ELANG BRONTOK (Nisaetus cirrhatus Gmelin, 1788)
HASIL SITAAN BKSDA DI YOGYAKARTA

SKRIPSI

Diajukan kepada Program Studi Biologi Fakultas Teknobiologi
Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh derajat S-1

Disusun oleh:
Lince Ria Sitohang
NPM : 130801420



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan judul

MOLECULAR SEXING PADA ELANG JAWA (*Nisaetus bartelsi* Stresemann, 1924) dan ELANG BRONTOK (*Nisaetus cirrhatus* Gmelin, 1788) HASIL SITAAN BKSDA DI YOGYAKARTA

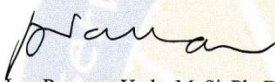
Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Lince Ria Sitohang
NPM: 130801420

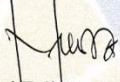
Telah diuji dan dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada hari Senin, tanggal 11 September 2017
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

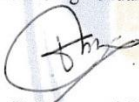
Pembimbing Utama,


(Ir. Ign. Pramana Yuda, M. Si. Ph. D)

Anggota Tim Penguji


(Nelsiani To'bungan, S.Pd, M.Sc)

Pembimbing Pendamping,


(Dr. E. Mursyanti, M.Si)

Yogyakarta, 29 September 2017

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,


(Drs. B. Boy Rahardjo Sidharta, M. Sc.)

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Lince Ria Sitohang

NPM : 130801420

Judul Skripsi : *Molecular Sexing Pada Elang Jawa (Nisaetus Bartelsi Stresemann, 1924) dan Elang Brontok (Nisaetus Cirrhatus Gmelin, 1788) Hasil Sitaan BKSDA Di-Yogyakarta.*

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan dalam skripsi ini telah saya sertakan penulisannya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata saya terbukti melanggar pernyataan saya di atas, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, 11 September 2017

Yang menyatakan



Lince Ria Sitohang

130801420

KATA PENGANTAR

Segala puji dan segala syukur penulis sampaikan kepada Tuhan Yesus Kristus, karena kasih dan kemurahannya penulis dapat melaksanakan penelitian di *Wildlife Laboratory, Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Thailand* pada bulan Februari hingga Maret 2017. Terima kasih atas ramat dan hikmatNya, penulis telah menyelesaikan naskah skripsi dengan segala baik. Penelitian dan naskah skripsi ini sekaligus menjadi tugas akhir dan syarat kelulusan untuk menyelesaikan studi S-1 di Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

Dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan naskah skripsi penulis menyadari banyak diberi bantuan dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Teknobiologi Universitas atma Jaya Yogyakarta atas bantuan dan dukungannya selama penulis belajar di Fakultas ini, dan atas kesediaanya untuk memberi penulis kesempatan untuk melakukan penelitian di *Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Thailand*.
2. Ir. Ign. Pramana Y, M.Si. Ph.D Selaku Dosen Pembimbing Utama. Terimakasih telah bersedia meluangkan waktu, dan pikiran serta memberikan doa, ilmu, dukungan, pengarahan, dan masukan selama masa bimbingan kepada penulis.

3. Dr. E. Mursyanti, M.Si Selaku Dosen Pembimbing Pendamping. Terimakasih banyak atas dukungan untuk terus belajar, terima kasih telah memberikan pengarahan, dukungan serta semangat yang selalu diberikan kepada penulis, dan terimakasih atas doa yang selalu diberikan.
4. Nelsiani To'bungan, S.Pd, M.Sc Selaku Dosen Penguji. Terimakasih telah memberikan arahan, masukan, kritik dan saran kepada penulis untuk kesempurnaan skripsi ini.
5. Professor Worawidh Wajjwalku. Terimakasih atas kebaikan selama penelitian di laboratorium di Thailand. Terimakasih atas pengetahuan luas yang telah dibagikan, terimakasih atas pengalaman naik kereta api saat ke air terjun, terimakasih atas daging babi yang selalu membuat ketagihan.
6. Rekan-rekan kerja di *Wildlife Laboratory*, Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Thailand, Pi Nid, Pi Faii, Pi Aomam, Pi Bow, Pi Pueng, Pi Ploy, Pi Pun dan dr. Art. Terimakasih atas asupan gizi, ilmu, bimbingan, dukungan serta pengalamann selama melaksanakan penelitian.
7. Semua Dosen, Staff Tata Usaha, dan Laboran. Terima kasih atas ilmu dan terima kasih atas bantuan serta kemudahan yang telah diberikan.
8. Mangandar Sitohang dan Rossinde Siahaan sebagai Orang tua dan panutan penulis. Terima kasih atas cinta kasih yang tulus, kesabaran, tidak pernah lelah dalam mendidik, pengorbanan, dan uang jajan yang selalu diberikan. Terimakasih buat doa, kekuatan, dan kerja keras tanpa sebuah keluh kesah.

9. Terima Kasih untuk Bilman Sitohang, Jhonson Sitohang, Lentina Sitohang, Ramses Sitohang, sebagai Kakak penulis. Terimakasih telah menjadi motivator dan semangat agar penulis tetap berprestasi.
10. Yehezkiel Lois Pangestu. Kekasih, motivator pribadi, sang calon pendamping wisuda yang tanpa henti selalu memberikan dukungan dan semangat. Nasihat dan saran yang ia berikan adalah hal yang menolong dan membuat penulis tersadar untuk berusaha lebih baik dan bekerja lebih keras dari sebelumnya. Kalimat penenang yang ia berikan adalah yang membuat saya bangkit dan selalu bersemangat membuat skripsi. *Thank you for being who you are and for being with me.*
11. Vivi Indriasi dan Trifonia Javalin. Terima kasih sahabat telah memberikan dukungan dan semangat tanpa henti.
12. Febriyanti Vera, Vallery Athalia, Anna Puspa, Cesilia Hotnita, dan Novia Aviani. Teman seperjuangan penelitian di Thailand dan Indonesia, terima kasih atas kebersamaan, bantuan, semangat dan canda tawa yang berarti bagi penulis.
13. Desy Kadang, Gladys Welma, Amelia PErgiwa, Maria Sahu, Eunike Priscilla, Krisna Dewantara, Angevia Merici, Hauw Angelica, Felixia Amanda, Monica Ratnasari, Watimena Nababan, Alphonsus Yospy, Vinsentsius Lonarsim, D. Wiyata (Ade Puspita, Vidya Setya, Leni Intani), FTB 2013, KKN 70 Unit U Kelompok 101, SIPITUAMA Yogyakarta, UKM Renang UAJY, dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan doa dan dukungan selama masa studi dan penelitian penulis.

Masih banyak kekurangan yang disadari dalam penulisan dan penyusunan naskah ini. Oleh karena itu, penulis menerima saran, kritik, masukan, dan koreksi yang bersifat membangun sehingga naskah skripsi ini menjadi lebih baik lagi dan dapat menambah ilmu pengetahuan penulis di masa yang akan datang.

Yogyakarta, 11 September 2017

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGAJUAN	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Keaslian Penelitian.....	6
C. Rumusan Masalah Penelitian.....	8
D. Tujuan Penelitian	8
E. Manfaat Penelitian	8
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
A. Konservasi Burung.....	9
a. Faktor-faktor Ancaman	9
b. Upaya Konservasi	10
c. Burung Pemangsa.....	11
1. Elang Jawa (<i>Nisaetus bartelsi</i> Stresemann, 1924)	12
2. Elang Brontok (<i>Nisaetus cirrhatus</i> Gmelin, 1788).....	14
B. Metode Identifikasi Jenis Kelamin	15
a. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	16
b. Gen <i>CHD</i> (<i>chromo-helicase DNA binding</i>)	18
C. Uji Kuantitatif dan Kualitatif	20
D. Sekuensing	21
E. Hipotesis	24

III. METODE PENELITIAN.....	25
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	25
B. Teknik Sampling.....	25
C. Alat dan Bahan.....	26
D. Tahap Penelitian dan Cara Kerja	27
1. DNA Release.....	27
2. Uji Kuantitatif	27
3. Amplifikasi DNA	28
4. Identifikasi Jenis Kelamin.....	29
5. Sekuensing	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
A. Kualitas dan Kuantitas DNA Hasil Isolasi.....	34
B. Amplifikasi	35
C. Sekuensing Sekuens Gen <i>CHD-Z</i> dan <i>CHD-W</i> Elang Jawa dan Elang Brontok	41
V. SIMPULAN	46
A. SIMPULAN	46
B. SARAN	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Urutan basa primer identifikasi jenis kelamin burung Elang Jawa dan Elang Brontok.....	20
Tabel 2. Data sampel Elang Jawa dan Elang Brontok.....	26
Tabel 3. Komposisi master mix Taq polimerase <i>Direct Animal</i>	28
Tabel 4. <i>Setting Thermalcycler</i> siklus tiga tahap.....	29
Tabel 5. Komposisi master mix Taq polimerase <i>Hot Start</i>	31
Tabel 6. Hasil pengukuran konsentrasi dan kuantitas DNA.....	34
Tabel 7. Hasil pengukuran konsentrasi dan kuantitas DNA dilusi 1:10.....	35
Tabel 8. Keseluruhan hasil primer.....	41
Tabel 9. Komposisi basa nukleotida sampel Elang Jawa dan Elang Brontok.....	42
Tabel 10. Gen Z Elang Jawa dan Elang Brontok yang memiliki kemiripan tinggi berdasarkan BLAST	42
Tabel 11. Gen W Elang Jawa yang memiliki kemiripan tinggi berdasarkan BLAST	43
Tabel 12. Gen W Elang Brontok yang memiliki kemiripan tinggi berdasarkan BLAST	43

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Elang Jawa (<i>Nisaetus bartelsi</i> Stresemann, 1924)	13
Gambar 2. Elang Brontok (<i>Nisaetus cirrhatus</i> Gmelin, 1788).....	15
Gambar 3. Siklus <i>Polymerase Chain Reaction</i> melalui 3 tahap	17
Gambar 4. Hasil potongan pita pada gel agarosa.....	31
Gambar 5. Hasil visualisasi produk PCR sampel dengan primer P2/P8.....	36
Gambar 6. Hasil visualisasi produk PCR sampel dengan primer 2561/2728	37
Gambar 7. Hasil visualisasi produk PCR sampel dengan primer 2550F/2718R ..	38
Gambar 8. Hasil visualisasi produk PCR sampel dengan primer 1237L/1272H..	40
Gambar 9. Perbandingan hasil sekuens gen <i>CHD-Z</i> Elang Jawa dan Elang Brontok dengan data sekuen di NCBI.....	44

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Jadwal Pelaksanaan Penelitian	52
Lampiran 2. Hasil Sekuensing Forward Urutan DNA Gen <i>CHD</i> Menggunakan Primer 2550F/2718R.....	53
Lampiran 3. Hasil Chromatogram DNA Gen <i>CHD</i> Menggunakan Primer 2550F/2718R	55

INTISARI

Penentuan jenis kelamin pada burung Elang Jawa (*Nisaetus bartelsi* Stresemann, 1924) dan Elang Brontok (*Nisaetus cirrhatus* Gmelin, 1788) sangat penting dalam program konservasi dan pembiakan untuk meningkatkan populasi di habitatnya. Penentuan jenis kelamin sangat sulit karena burung ini termasuk burung monomorfik, sehingga perlu pendekatan molekuler untuk menentukan jenis kelamin. Tujuan penelitian ini untuk menentukan jenis kelamin Elang Jawa dan Elang Brontok yang berasal dari hasil sitaan Balai Konservasi Sumberdaya Alam (BKSDA) di Kota Yogyakarta dengan metode *molecular sexing*, mengetahui primer yang paling efektif untuk mengidentifikasi jenis kelamin dan karakterisasi sekuen gen *CHD-W* dan gen *CHD-Z*. Penelitian ini menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan Taq polimerase *Direct Animal* dan *Hot Start*. Primer yang digunakan sejumlah empat pasang, yaitu primer P2/P8, primer 2550F/2718R, primer 1237L/1272H, dan primer 2561/2728, yang mengamplifikasi gen *CHD* (*chromo helicase DNA binding*).

Sampel DNA diperoleh dari 6 individu, yaitu dua sampel Elang Jawa, dan empat sampel Elang Brontok. Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh hasil bahwa *molecular sexing* dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis kelamin Elang Jawa dan Elang Brontok berdasarkan gen *CHD* dengan hasil empat sampel berupa individu betina dan dua sampel berupa individu jantan. Primer yang paling efektif untuk mengidentifikasi jenis kelamin adalah pasangan primer 2550F/2718R dan primer 2561/2728 yang mengamplifikasi 100% sampel ditunjukkan dengan adanya pita DNA tunggal (ZZ) pada jantan dan adanya pita DNA ganda (ZW) pada betina. Ukuran gen *CHD* menggunakan primer 2550F/2718R memiliki ukuran DNA pada kromosom *CHD-Z* dengan panjang 372 – 490 bp, dan *CHD-W* dengan panjang 640 – 758 bp serta ukuran gen *CHD* menggunakan primer 2550F/2718R memiliki ukuran DNA pada kromosom *CHD-Z* dengan panjang 638 – 725 bp dan *CHD-W* dengan panjang 444 – 450 bp.