

**ANALISIS KEKERABATAN MARGA-MARGA
PADA SUKU EUPHORBIACEAE
BERDASARKAN SIKUEN DNA DAERAH ITS**

SKRIPSI

*Diajukan Untuk Memenuhi Sebagian Dari Syarat Memperoleh Gelar Sarjana
Sains Program Studi Biologi*



Oleh
ASTRY AGUSTHINA MUCHTAR
034469

**JURUSAN PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA
DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA
2008**

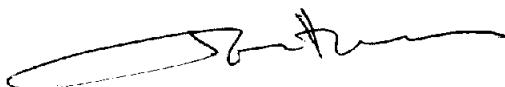
LEMBAR PENGESAHAN

Analisis Kekerabatan Marga-Marga Pada Suku Euphorbiaceae Berdasarkan Sikuen DNA Daerah ITS

Oleh

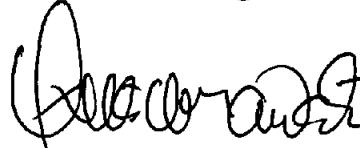
Astry Agusthina Muchtar
NIM. 034469

Pembimbing I



Dr. Topik Hidayat
NIP. 132 169 279

Pembimbing II

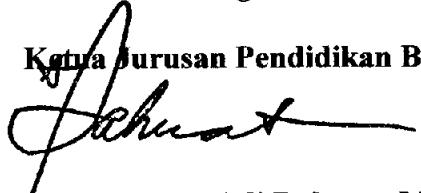


Diah Kusumawaty, M.Si
NIP. 132 297 043



Mengetahui,

Ketua Jurusan Pendidikan Biologi



Dr. rer.nat. Adi Rahmat, M.Si.
NIP. 131 975 879

*Kita boleh saja merasa kecewa saat penelitian kita gagal
Tapi kita tidak akan pernah tau sampai kita mencobanya
Karena Kemenangan kita yang paling besar
Bukanlah karena kita tidak pernah jatuh
Melainkan karena kita selalu berusaha bangkit setiap kali kita jatuh.*

-CONFUSIUS-

Ku persembahkan karya ini untuk

GURU GURUKU TERCINTA

*Berjuta ilmu dan tauladan mengiringi hingga kini
Hanya doa yang dapat terungkapkan Semoga Rahmat dan
Hidayah Allah SWT selalu menyertai hingga akhir masa.
Semoga Allah memberikan balasan di SyurgaNya kelak. Amiin.*

PERNYATAAN

“Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul **Analisis Kekerabatan Marga-Marga Pada Suku Euphorbiaceae Berdasarkan Sikuen DNA Daerah ITS** ini dan seluruh isinya adalah benar-benar karya saya sendiri. Saya tidak melakukan pengutipan atau penjiplakan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika keilmuan yang berlaku. Atas pernyataan ini saya siap dikenakan sanksi yang dijatuhkan kepada saya apabila kemudian ditemukan adanya pelanggaran terhadap keilmuan dalam karya saya ini”.

Bandung, Februari 2008
Yang Membuat Pernyataan



Astry Agusthina Muchtar



ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai hubungan kekerabatan antar marga dalam suku Euphorbiaceae berdasarkan urutan basa nukleotida daerah *Internal Transcribed spacer* (ITS). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan kekerabatan 8 marga dalam suku Euphorbiaceae. Berdasarkan analisis gel hasil PCR dan analisis urutan basa nukleotida diperoleh perkiraan ukuran daerah ITS yaitu 557pb-646pb yang terdiri dari ITS1 (192pb-265pb), gen 5,8S (162pb-163pb) dan ITS2 (158pb-218pb). Analisis filogenetik menggunakan metode parsimoni menunjukkan bahwa marga-marga dari suku Euphorbiaceae terbagi menjadi 2 kelompok utama. Kelompok pertama terdiri dari *Antidesma bunius*, *Claoxylon polot*, *Ricinus communis*, *Manihot esculenta*, *Aleurites molucana*, *Codiaeum variegatum*. Kelompok kedua terdiri dari *Sauvagesia androgynus* dan *Phyllanthus niruri*. Kelompok 1 merupakan monofiletik dengan dukungan nilai bootstrap yang rendah yaitu sebesar 58%. *Sauvagesia androgynus* dan *Phyllanthus niruri* merupakan kelompok monofiletik dengan dukungan nilai bootstrap 100%. Dengan demikian *Sauvagesia androgynus* yang memiliki kekerabatan paling dekat dengan *Phyllanthus niruri* dapat dijadikan sebagai salah satu tumbuhan alternatif yang diduga memiliki fungsi yang sama yaitu sebagai imunomodulator.

Kata kunci : "Internal Transcribed Spacer", Filogenetik, Euphorbiaceae, PCR.

KATA PENGANTAR

Puji serta Syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah menganugerahi semangat dan keinginan yang kuat sehingga penulis dapat menyelesaikan semua proses dalam penyusunan skripsi ini.

Skripsi yang berjudul 'Analisis Kekerabatan Marga-Marga Pada Suku Euphorbiaceae berdasarkan Sikuen DNA Daerah ITS' ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Pendidikan Indonesia dengan waktu sekitar 4 bulan. Selama proses penelitian dan penulisan skripsi ini banyak sekali pihak yang turut membantu sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik, karena itu penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya semoga bantuan rekan-rekan dapat mendatangkan berkah dan mendapat balasan yang jauh lebih baik.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang tulus kepada beberapa pihak, diantaranya :

1. Bapak Dr. Topik Hidayat selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan masukan selama penelitian dan penulisan skripsi.
2. Ibu Hj. Diah Kusumawaty, M.Si selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak membantu selama proses penelitian, memberikan banyak ilmu dan pengetahuan yang sangat bermanfaat dalam pelaksanaan penelitian hingga penulisan skripsi.
3. Bapak Dr. rer. nat. Adi Rahmat, M. Si selaku Ketua Jurusan Pendidikan Biologi dan selaku Dosen Wali. Terimakasih atas

bimbingannya selama penulis menjalani perkuliahan di Universitas Pendidikan Indonesia.

4. Bapak Rahardian Deden, S.Pd selaku Laboran di Laboratorium Mikrobiologi. Terimakasih atas bantuannya selama penelitian, terimakasih atas ilmu, kritik dan saran serta kebaikan dan kesabarannya.
5. Bapak Drs. H. Yusuf Hilmi Adisendjadja M.Sc, yang telah memberikan banyak inspirasi pada penulis agar dapat lebih menghargai dan memaknai sebuah karya.
6. Ibu Dra. Soesy Asiyah M.Si, yang telah banyak berbagi ilmu dan pengalaman yang dapat membangkitkan semangat penulis.
7. Bapak Drs. Saefudin M.Si yang telah memberi semangat di setiap kritikan yang disampaikan sehingga penulis dapat terus menyelesaikan penelitian ini.
8. Rekan kerja Dian Din Yati dan Dina, terimakasih atas kerjasama dan bantuannya selama penelitian, kita bisa ngekost bareng lain kali.
9. Untuk Kang : Soni, Guntur, Iman, Iwan, Usep, Isma dan semua team hore yang telah memberikan semangat dan bantuannya selama proses penelitian.
10. Teman-teman yang bekerja di Lab Mikro, Nano, Astri E, Dicky tambun, Ria, Becip, Petty Uni,Uli, Mirceu, Paul, Iroh, Jimi, dan semua teman-teman yang tidak adpat disebutkan satu per satu, terimakasih atas kebersamaan dan bantuan yang telah diberikan.

11. Teman-Teman di ITB, Teh Listya, Teh Izza, Anggi, Uwi yang telah memberikan informasi dan bantuannya selama penelitian.
12. Untuk Pak Intan yang telah berbagi ilmu di tengah kesibukannya.
13. Untuk mama, papa, teteh Ria, Mita dan Aa Irvin yang telah memberikan dukungan baik moril maupun materil selama proses pencapaian penyelesaian skripsi.

Semoga amal baik yang telah diberikan mendapat balasan yang berlipat ganda dari Allah SWT.

Bandung, September 2007

Penulis



Astry Agusthina Muchtar

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Pertanyaan Penelitian.....	4
D. Batasan Masalah.....	4
E. Tujuan Penelitian	5
F. Asumsi.....	5
G. Manfaaat Penelitian.....	5
BAB II SUKU EUPHORBIACEAE DAN ANALISIS	6
FILOGENETIK MOLEKULER	
A. Suku Euphorbiaceae.....	6
B. Analisis Filogenetik Molekuler.....	9
C. Daerah Internal Transcribe Spacer.....	13
D. Pemanfaatan Daerah ITS.....	15
D. Polymerase Chain Reaction.....	17
E. Elektroforesis.....	19
BAB III METODE PENELITIAN.....	21
A. Jenis Penelitian.....	21
B. Sampel Penelitian.....	21
C. Lokasi Penelitian.....	22
D. Alat dan Bahan.....	22

1. Alat.....	22
1. Bahan.....	23
E. Alur Penelitian dan Langkah Kerja.....	24
1. Sampel Tumbuhan.....	25
2. Isolasi DNA.....	25
3. Amplifikasi DNA.....	27
4. Elektroforesis.....	28
5. Sikuensing DNA.....	28
6. Analisis Data.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
A. Isolasi Genom.....	30
B. Amplifikasi Daerah ITS.....	31
C. Sikuens DNA Daerah ITS Suku Euphorbiaceae....	32
D. Penyejajaran Sikuen.....	35
E. Hubungan Filogenetik Suku Euphorbiaceae.....	40
F. Implikasi Taksonomi.....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
A. Kesimpulan	46
B. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN.....	51
RIWAYAT HIDUP.....	70

DAFTAR GAMBAR

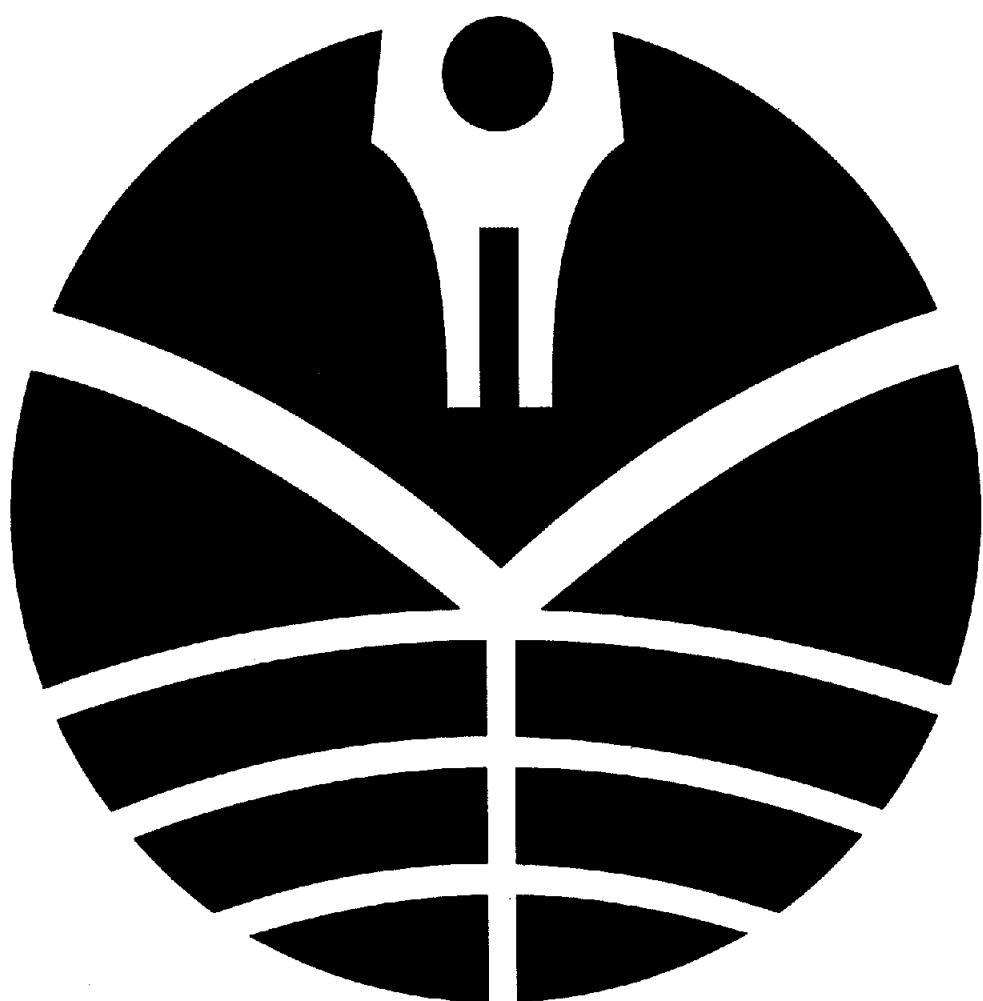
Gambar		Halaman
2.1	Pohon kekerabatan.....	12
2.2	Pohon "Rooted" dan Pohon "Unrooted".....	12
2.3	Organisasi nrDNA.....	14
2.4	Proses PCR.....	18
2.5	Elektroforesis.....	20
3.1	Alur penelitian.....	24
4.1	Foto gel hasil isolasi DNA.....	30
4.2	Foto gel hasil amplifikasi DNA.....	32
4.3	Hasil analisis kesamaan sikuens DNA.....	33
4.4	Hasil penyejajaran DNA.....	34
4.5	Hasil penyejajaran sampel DNA ITS.....	35
4.6	Pohon filogenetik suku Euphorbiaceae.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
3.1	Tumbuhan yang digunakan.....	21
3.2	Spesifikasi alat.....	22
3.3	Spesifikasi bahan.....	23
4.1	Variasi ukuran daerah ITS.....	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Hasil Sikuensing DNA Daerah ITS.....	51
2	Hasil Pencarian Motif Pada DNA Daerah ITS....	54
3	Foto Sampel Tumbuhan.....	59
4	Protokol Pembuatan Larutan Stok.....	61
5	Grafik Sikuen DNA Daerah ITS.....	65



DAFTAR PUSTAKA

- Adi, DS. (1988). *Ordo Dan Famili Tumbuhan Tinggi*. Bandung. Universitas Pendidikan Indonesia.
- APG. (2003). *An Update Of The Angiospermae Phylogeny Group Classification For The Orders And Flowering Plants : APG II*. Botanical Journal of the Linnean Society 141: 399-436.
- Anggraeni, S. Aryani, A. Diana, S. W, Koesmadji. Kusumawaty, D. Riandi. Sudargo, F & Suhara. (2007). *Pedoman Praktikum Genetika*. Bandung. Universitas Pendidikan Indonesia.
- Asmarayani, R. (2006). *Study Filogenetik Piper L. Berdasarkan Daerah Internal Transcribed Spacer DNA Ribosom Inti*. Tesis Program Studi Bioteknologi Sekolah Pasca Sarjana. Institut Teknologi Bandung: tidak diterbitkan.
- Backer, CA & van den Brink RCN. (1963). *Flora of Java: Volume I*. NVP Noordhoof, Groningen, The Netherlands.
- Baldwin, BG. Sanderson, MJ. Porer, JM. Wojciechowski, MF. Cambell, CS & Donoghue, MJ. (1995). *The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a Valuable Source of Evidence on Angiospermae Phylogeny*. Annals of Missouri Bot Grad 82: 247-277.
- Baverstock, PR & Johnson, SM. (1990). *Ribosomal RNA Nucleotides Sequences: A Comparison of Newer Methods Used For Its Determination, And Its Use in Phylogenetic Analysis*. Australian Systematic Botany 3:101-109.
- Clegg, MT & Durbin, ML. (1990). *Molecular Approaches to the Study of Plant Biosystematics*. Australian Systematics Botany 3: 1-8.
- Felsenstein, J. (1985). *Confidence Limit on Phylogenies: An Approach Using The Bootstrap*. Evolution 39:783-791.
- Hillis, DM. Moritz, C & Mable, BK. (1996). *Molecular Systematic 2nd Edition*. Massachusetts, USA: Sinauer Associates Inc.
- Imam, S. (2005). *Meniran Tanaman Pemacu Kekebalan Tubuh*. Nakita 348:4-5.
- John Kress, W. Prince, LM & Williams, KJ. (2002). *The Phylogeny And A New Classification Of The Gingers (Zingiberaceae): Evidence From Molecular Data*. American Journal Of Botany 89(11): 1682-1696.

- Jones, B.S & Luchinger, E.A (1987). Plant Systematics (Second Edition). New York: Mc Grow-Hill Book Company.
- Kathriarchchi, H. Samuel, R. Hoffman, P. Mlinarec, J. Wurdack, K.J. Ralimanana, H. Stuessy, TF & Chase, MW. (2006). *Phylogenetics of Tribe Phyllantheae (Phyllanthaceae; Euphorbiaceae sensu lato) Based on nrITS and Plastid matK DNA Sequence Data*. American Journal Of Botany 93:637-655.
- Kusumawaty, D. (1996). *Isolasi dan Karakterisasi Mikrosatelite pada Jati (Tectona grandis L.f.)*. Tesis Magister pada PPS ITS: tidak diterbitkan.
- Li, J. Bogle, LA & Klein, SA. (1999). *Phylogenetic Relationships of The Hamamelidaceae Inferred From Sequences Of Internal Transcribed Spacer (ITS) Of Nuclear Ribosomal DNA*. American Journal Of Botany 86(7): 1027-1037.
- Liston, AAR. William. Pinero, DR. Elena & Buylla, A. (1999). *Phylogenetics of Pinus (Pinaceae) Based on Nuclear Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer Region Sequences*. Journal Molecular Phylogenetics and Evolution 11: 95-109.
- Muir, G & Schlotterer C. (1999). *Limitation to the phylogenetic use of ITS sequences in closely related species and populations- a case study in Quercus petraea (Matt) Liebl*. European Union DGXII Biotechnology FW IV Research 11-17.
- Radjaram, A & Widjaya, B. (1993) "Formulasi Tablet Ekstrak Meniran". *Warta Tumbuhan Obat* 8: 12-13.
- Sharma, OP. (1993). *Plant Taxonomy*. Tata Mgrwa-Hill Publishing Company Limited, New Delhi.
- Slotta, TAB. (2000). *Phylogenetic Analysis of Iliamna (Malvaceae) Using the Internal Transcribed Spacer Region*. Thesis of Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Sudarsono. Ratnawati & Budiwati. (2005). *Taksonomi Tumbuhan Tinggi*. Malang. Universitas Negeri Malang
- Swofford, DL. (1998). *PAUP*4.0b10. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and other methods). Version 4*. Massachusetts, USA: Sinauer Associates Inc.
- Taufik, I. (2003). *Studi Filogenetik Suku Anacardiaceae Berdasarkan Daerah 'Internal Transcribed Spacer' (ITS)*. Thesis Pasca Sarjana, Institut Teknologi Bandung: tidak diterbitkan.

- Thompson, JD. Gibson, TJ. Plewniak, F. Jeanmougin, F & Higgins, DG. (1997). *The ClustalX-Windows Interface: Flexible Strategies For Multiple Alignment Through Sequence Alignment Aided By Quality Analysis Tools.* Nuclei Acids Res 25:4876-4882
- Topik, H. (2001). *Studi Filogenetik Molekular Pada Anancardiaceae Berdasarkan Variasi Urutan Daerah Internal Transcribed Spacer (ITS).* Thesis Pasca Sarjana, Institut Teknologi Bandung: tidak diterbitkan.
- Topik, H & Pancoro, A. (2006). *Sistematika dan Filogenetika Molekuler.* Makalah pada Kursus Singkat Aplikasi Perangkat Lunak PAUP dan MrBayes untuk Penelitian Filogenetika Molekuler. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Winarno, MW. Sundari, D & Paramita, DI. (1993). *Beberapa Informasi Penelitian Khasiat Keamanan dan Efek Fitokimia Tanaman Meniran (Phyllanthus niruri L.).* Warta Tumbuhan Obat 8: 24-25.
- Yuwono, T. (2006). *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction.* Yogyakarta. C.V Andi Offset.

