

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
E. Ruang Lingkup Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Evolusi Vertebrata dan Burung Maleo Senkawor	5
B. Distribusi dan Habitat Burung Maleo	8
C. Jumlah Populasi dan Daerah Habitat Bertelur Maleo Senkawor	11
D. Identifikasi Sex dan Penanda Molekuler Determinasi Sex Burung Maleo ...	19
E. Molekuler Kloning dengan Vektor Plasmid	23
F. Model Homologi 3D Protein dengan SWISS-Model	26
BAB III. LANDASAN TEORI DAN HIPOTESIS	29
A. Landasan Teori	29
B. Hipotesis	31
BAB IV. METODE PENELITIAN	32
A. Waktu dan Tempat Penelitian	32
B. Bahan Penelitian	32
B.1. Bahan Sampel	32
B.2. Bahan Kimia	32
C. Alat Penelitian	33

D. Prosedur Kerja.....	34
D.1. Penyediaan Sampel	34
D.1.1. Jumlah Sampel.....	34
D.2. Design Primer Set (InSex-F dan Insex-R)	34
D.3. Analisis Determinasi Seks dengan Molekuler Sexing.....	35
D.3.1. Isolasi DNA	35
D.3.2. Uji Kuantitatif dan Kualitatif Isolasi DNA	35
D.3.3. Amplifikasi ORF Gen <i>CHD1-Z/W</i> untuk Determinasi Seks... 35	
D.4. Analisis Konstruk pada Kloning dengan Vektor Plasmid.....	36
D.4.1. Ligasi pJET1.2/ <i>blunt</i> pada Gen <i>CHD1-Z/W</i>	36
D.4.2. Transformasi Hasil Ligasi pada Sel Kompeten <i>E.Coli</i>	36
D.4.3. <i>Screening</i> Koloni Sel Transformasi	37
D.5. Analisis Sekuensing.....	37
D.6. Analisis Bioinformatik (<i>In Silico</i>)	38
D.6.1. Data Variasi Intraspesifik dan Interspesifik.....	38
D.6.2. Data Model Homologi 3-D Protein CHD1	38
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
A. Kloning ORF gen <i>CHD1-Z/W</i> Transforman pada <i>E.Coli</i>	39
B. Analisis <i>In-silico</i> Variasi Intraspesifik dan Interspesifik Gen <i>CHD1-Z/W</i> ..43	
C. Analisis <i>In-silico</i> Struktur Model Homologi 3-D Protein CHD1	48
D. Determinasi Seks Amplifikasi ORF Gen <i>CHD1-Z/W</i>	50
D.1. Primer 2550F dan 2718R.....	53
D.2. Primer 2561F dan 2728R.....	55
D.3. Primer 2917F dan 3088R.....	56
D.4. Primer InSex-F dan InSex-R.....	57
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
A. Kesimpulan.....	60
B. Saran.....	60
RINGKASAN	61
SUMMARY.....	65
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Dasar evolusi vertebrata menunjukkan jenis kelompok hewan aves	5
Gambar 2. Burung <i>Macrocephalon maleo</i> S. Müller, 1846 dan sarang bertelur di dalam tanah Taman Nasional Bogani Nani Wartabone	6
Gambar 3. Pohon filogeni kelompok burung Megapodiidae	7
Gambar 4. Garis <i>Wallace</i> dan kepulauan di dalam wilayah <i>Wallace</i>	9
Gambar 5. Peta daerah persebaran burung Maleo Senkawor (<i>Macrocephalon maleo</i>) di Indonesia	10
Gambar 6. Peta daerah distribusi peneluran <i>Macrocephalon maleo</i> di pulau Sulawesi	13
Gambar 7. Peta daerah peneluran maleo (<i>Nesting grounds</i>) di Sulawesi Utara	16
Gambar 8. a. Macam bentuk telur, b. Bentuk telur pada Maleo Senkawor (<i>oval</i> dan <i>conical</i>).	17
Gambar 9. Proses penetasan pada burung <i>Macrocephalon maleo</i> dengan sistem <i>Ex-situ</i> management	18
Gambar 10. Kontruksi daerah penanda gen <i>CHD-1</i>	20
Gambar 11. Determinasi seks heterogametik dan homogametik	21
Gambar 12. Tahapan dasar klon dengan vektor plasmid	24
Gambar 13. Tipe DNA <i>ends</i> yang dihasilkan pemotongan enzim restriksi	25
Gambar 14. Peta kontrak kloning vektor pJET 1.2/ <i>blunt</i> dan sekuen DNA pada daerah MCS	26
Gambar 15. Diagram tahapan pada perbandingan struktur model homologi	27
Gambar 16. Jenis struktur protein	28
Gambar 17. Hasil transformasi ke dalam <i>Escherichia coli</i> DH-5a	41
Gambar 18. Visualisasi seleksi klon positif dengan PCR koloni	42
Gambar 19. Perbedaan basa nukleotida pada spesies <i>Macrocephalon maleo</i> S. Müller 1846.	45
Gambar 20. Konstruksi pohon filogenetik dengan metode <i>Maximum Parsimony</i>	47
Gambar 21. Struktur model homologi 3-D protein CHD-1	49
Gambar 22. Konstruksi primer avian sexing	51
Gambar 23. Alignment Design primer set InSexF/InSex-R	52
Gambar 24. Hasil amplifikasi gen <i>CHD1-Z/W</i> dengan primer 2550F/2718R	54
Gambar 25. Hasil amplifikasi gen <i>CHD1-Z/W</i> dengan primer 2561F/2728R	55
Gambar 26. Hasil amplifikasi gen <i>CHD1-Z/W</i> dengan primer 2917F/ 3088R	56
Gambar 27. Hasil amplifikasi gen <i>CHD1-Z/W</i> dengan primer InSex-F/InSex-R pada spesies Maleo Senkawor	57
Gambar 28. Hasil amplifikasi gen <i>CHD1-Z/W</i> dengan primer InSex-F/InSex-R pada spesies burung lainnya	58

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kelompok burung Megapodiidae	8
Tabel 2. Status habitat bertelur burung maleo di hutan (<i>inland nesting grounds</i>)	14
Tabel 3. Status habitat bertelur burung maleo di pantai (<i>coastal nesting grounds</i>)	15
Tabel 4. Set primer klon pJET1.2/ <i>blunt</i>	33
Tabel 5. Set primer molekular sexing pada gen <i>CHD1</i>	33
Tabel 6. Hasil analisis variasi intraspesifik ORF klon gen <i>CHD1-Z</i> dan <i>CHD1-W</i> dari Maleo Senkawor dengan aplikasi DnaSP	47
Tabel 7. Perbandingan komposisi asam amino asam dan basa dari sekuen Maleo Senkawor	48
Tabel 8. Determinasi seks pada spesies burung Maleo Senkawor	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Sampel	77
Lampiran 2. Komponen reagen dan kondisi PCR	79
Lampiran 3. <i>Contig</i> gen <i>CHD1-Z/W</i>	81
Lampiran 4. Sekuen asam amino Maleo Senkawor gen <i>CHD1-Z/W</i>	86
Lampiran 5. Posisi penyisipan gen <i>CHD1-Z/W</i> pada pJET1.2/ <i>blunt</i>	87
Lampiran 6. Analisis Polimorfisme dan Haplotipe dengan Aplikasi DnaSP	88

DAFTAR SINGKATAN

CHD	: Chromodomain Helicase DNA binding
SNPs	: Single Nucleotide Polymorphism
ORF	: Open Reading Frame
cDNA	: Complementary DNA
ds-DNA	: double-stranded DNA
GSD	: Genetic Sex Determination
STRs	: Short Tandem Repeat
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA
CE	: Capillary Electrophoresis
qPCR	: Real-time Quantitative PCR
HRM	: High-resolution Melting
PCE	: Phenol-Chloroform Extraction
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PDB	: Protein Data Bank
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance
LAF	: Laminar Air Flow
TNBNW	: Taman Nasional Bogani Nani Wartabone
IUCN	: International Union for Conservation of Nature Resources
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
CITES	: The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora