

**ANALISIS PERBEDAAN GEN WARNA RAMBUT LUTUNG
JAWA (*Trachypithecus auratus*) BERDASARKAN SEKUEN GEN
MELANOCORTIN-1 RECEPTOR (MC1R) DENGAN
METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION*
(PCR)**

SKRIPSI

**Oleh:
MUHAMMAD ABDILLAH
115130107111035**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

ANALISIS PERBEDAAN GEN WARNA RAMBUT LUTUNG
JAWA (*Trachypithecus auratus*) BERDASARKAN SEKUEN GEN
MELANOCORTIN-1 RECEPTOR (MC1R) DENGAN
METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION*
(PCR)

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:
MUHAMMAD ABDILLAH
115130107111035



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Analisis Perbedaan Gen Warna Rambut Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*)
Berdasarkan Sekuen Gen *Melanocortin-1 Receptor* (MC1R) dengan
Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**

**Oleh:
MUHAMMAD ABDILLAH
115130107111035**

Setelah dipertahankan didepan Majelis Penguji
pada tanggal.....
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

drh. Dyah Ayu Oktavianie, M.Biotech
NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kedokteran Hewan
Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Abdillah
NIM : 115130107111035
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul:

Analisis Perbedaan Gen Warna Rambut Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*)
Berdasarkan Sekuen Gen *Melanocortin-1 Receptor* (MC1R) dengan Metode
Polymerase Chain Reaction (PCR)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar – benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama – nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 23 Desember 2015
Yang menyatakan,

(MUHAMMAD ABDILLAH)
NIM. 115130107111035

**Analisis Perbedaan Gen Warna Rambut Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*)
Berdasarkan Sekuen Gen *Melanocortin-1 Receptor* (MC1R) dengan Metode
Polymerase Chain Reaction (PCR)**

ABSTRAK

Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) merupakan primata endemik Pulau Jawa dan ditemukan individu dewasa yang memiliki warna rambut hitam dan oranye. *Melanocortin-1 Receptor* (MC1R) merupakan gen penentu warna rambut dan kulit pada mamalia. Gen MC1R meregulasi melanosit untuk membentuk pigmen melanin yang kemudian pigmen tersebut menghasilkan eumelanin dan feomelanin. Individu yang memiliki eumelanin memiliki rambut berwarna hitam dibandingkan dengan individu yang memiliki feomelanin lebih memiliki rambut oranye hingga kemerahan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan perbedaan warna rambut Lutung Jawa berdasarkan sekuen gen MC1R dengan mengisolasi DNA pada folikel rambut lalu dilakukan uji kuantitas dan kualitas DNA, kemudian diamplifikasi menggunakan metode PCR dengan primer MC1R_F 5'-TCT ATGCACTGCGCTACCAC-3' dan MC1R_R 5'-CGTACAGCACAGCCATGAGT-3', dan dilanjutkan dengan sekuensing terhadap produk PCR serta analisis dilakukan dengan menggunakan *software BioEdit* dan NCBI BLAST. Hasil penelitian menunjukkan sampel O1 dan H2 memiliki perbedaan basa nukleotida *database genebank* MC1R pada NCBI. Perubahan Sampel O1 terdapat pada c.596G>A. Telah terjadi perubahan susunan kodon pembentuk asam amino p.166A>T pada daerah *transmembrane region* gen MC1R. Terjadinya perubahan asam amino p.166A>T (non-polar menjadi polar) diprediksi dapat menghambat sintesis eumelanin sehingga individu Lutung Jawa rambut oranye tetap mensintesis feomelanin. Pada sampel H2, c.560C>G terjadi perubahan susunan kodon asam amino p.187A>G (non-polar menjadi non-polar) pada daerah *extracellular loops* gen MC1R. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat perbedaan sekuen DNA dan asam amino antara Lutung Jawa rambut hitam dan oranye.

Kata Kunci: Eumelanin, Feomelanin, MC1R, Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*), PCR.

The Analysis of Hair Color Gene Differences of Javan Langur (*Trachypithecus auratus*) Based on Sequence of Melanocortin-1 Receptor (MC1R) with Polymerase Chain Reaction (PCR) Technique

ABSTRACT

Javan langur is an endemic primate in Java Island. There are two types of Javan langur; the black hair color and the orange hair color with freckles and fair skin. MC1R is an important gene to determine hair and skin color in mammals. MC1R regulates the melanocyte into melanin pigment to form melanin pigment produces eumelanin and pheomelanin. Individual with most eumelanin has brown or black hair and dark skin. On the other hand, the one with pheomelanin has orange-red hair with freckles and fair skin. This study was aimed to determine the differences of hair color Javan Langur based on sequence of MC1R gene. DNA was isolated inside the hair follicles and tested both qualitative and quantitative, and the DNA was amplified by PCR with primers MC1R_F of 5'-TCTATGCACTGC GCTACCAC-3' and MC1R_R of 5'-CGTACAGCACAGCCATGAGT-3'. Furthermore, sequences of the PCR product were analyzed using NCBI BLAST and *BioEdit* software. The results showed that the samples O1 and H2 have different nucleotide bases compared to MC1R Gene Bank database at NCBI. Sample O1 altered in c.596G>A. An alteration has occurred in the composition of the codon-forming amino acid p.166A> T (nonpolar into polar) in the transmembrane region of MC1R. This alteration was predicted could inhibit synthesis of eumelanin so that the orange hair Javan Langur still synthesize pheomelanin. An alteration of nucleotide (c.560C>G) also occurred in sample H2 which affected the codon of amino acid p.187A> G (non-polar to non-polar) in the extracellular loops of MC1R. This study concluded there are differences of DNA sequences and amino acid between Javan Langur with black hair color and orange hair color.

Keywords: *Eumelanin, Pheomelanin, MC1R, Javan Langur (Trachypithecus auratus), PCR*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, nikmat, dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul “**Analisis Perbedaan Gen Warna Rambut Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) Berdasarkan Sekuen Gen *Melanocortin-1 Receptor* (MC1R) dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**” dapat diselesaikan. Sholawat serta salam semoga tetap dicurahkan kepada Nabi Muhammad SAW. Naskah skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Atas terselesaikannya skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES dan drh. Dyah Ayu Oktavianie, M.Biotech selaku dosen pembimbing atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
2. Ibu Dyah Kinasih Wuragil, S.Si., MP dan drh. Ahmad Fauzi, M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan pengarahan dan masukan dengan kesabaran selama ujian Skripsi.
3. Dr. Agung Pramana W. M, M.Si selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya dan Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Universitas Brawijaya.
4. Bapak Iwan Kurniawan selaku Project Manager Javan Langur Center dan seluruh karyawan Javan Langur Center atas kesempatan dan kepercayaan yang diberikan kepada penulis.
5. Afwan Fitra yang telah memberikan ide untuk melakukan penelitian ini.
6. Keluarga penulis, Ayah, Ibu, dan Kakak-kakak tercinta yang selalu mengiringi lewat doa, mendukung dan memberi semangat penulis.
7. April Navratilova selaku teman seperjuangan penelitian, dan teman-teman Alip Naik Haji yang senantiasa mendukung.
8. Rekan-rekan penghuni *Student research room* di Biokim, Hilman Nur Mahdi, Mas Wawan, Della, Ichul, Gede, Wahyu, Adit, Mbak Dwi, Qur, Widya, dan Gilang, serta para staf Biosains Mas Anton, Mas Farid, Mbak Fina, Mbak Ninik, Mbak Rista NR,

Mbak Anita, dan Mbak Wahyu yang selalu memberikan masukan dan menuntun hingga penelitian ini selesai.

9. Keluarga Besar Centre for Orangutan Protection (COP), Animals Indonesia, Orangufriends, COP School Alumni, Keluarga besar Avenzoar 45, Keluarga besar UKM MAX!! IPB, Gallagher Family, Malang Guitar Community, Keluarga Camalia 13, dan keluarga besar Parasitologi PKH UB
10. Semua pihak yang telah turut berperan dalam penelitian dan penulisan skripsi ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu

Akhir kata penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis, dan semoga Skripsi ini dapat memberikan manfaat baik bagi penulis maupun pembaca.

Malang, 23 Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|----------------|
| HALAMAN JUDUL | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN | iv |
| ABSTRAK | v |
| ABSTRACT | vi |
| KATA PENGANTAR | vii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| DAFTAR ISTILAH DAN ARTI LAMBANG | xiv |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 3 |
| 1.3 Batasan Masalah..... | 3 |
| 1.4 Tujuan Penelitian..... | 4 |
| 1.5 Manfaat Penelitian..... | 4 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 Lutung Jawa..... | 5 |
| 2.2 Morfologi dan Klasifikasi Lutung Jawa..... | 6 |
| 2.3 Warna Rambut Lutung Jawa..... | 8 |
| 2.4 Gen Melanocortin-1 Receptor..... | 12 |
| 2.5 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)..... | 13 |
| 2.5.1 Teknik Dasar Amplifikasi PCR..... | 14 |
| 2.5.1.1 Denaturasi Untai Ganda DNA..... | 14 |
| 2.5.1.2 Primer <i>Annealing</i> | 15 |
| 2.5.1.3 DNA <i>Polymerase Extension</i> | 15 |
| 2.6 Sekuensing DNA..... | 16 |
| BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS | |
| PENELITIAN | 18 |
| 3.1 Kerangka Konseptual..... | 18 |
| 3.2 Bagan Kerangka Konseptual..... | 19 |
| 3.3 Hipotesis Penelitian..... | 20 |
| BAB 4 METODE PENELITIAN | 21 |
| 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian..... | 21 |
| 4.2 Alat dan Bahan..... | 21 |
| 4.3 Tahapan Penelitian..... | 22 |
| 4.4 Rancangan Penelitian..... | 22 |
| 4.5 Prosedur Kerja..... | 23 |
| 4.5.1 Pemilihan Lutung Jawa..... | 23 |
| 4.5.2 Pengambilan Sampel Folikel Rambut..... | 24 |

| | |
|---|-----------|
| 4.5.3 Isolasi DNA..... | 24 |
| 4.5.4 Uji Kuantitas dan Kualitas DNA..... | 25 |
| 4.5.4.1 Uji Kuantitas DNA..... | 25 |
| 4.5.4.2 Uji Kualitas DNA..... | 25 |
| 4.5.5 Desain Primer..... | 26 |
| 4.5.6 Proses <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)..... | 27 |
| 4.5.7 Uji Kualitas Produk PCR..... | 27 |
| 4.5.8 Purifikasi Produk PCR..... | 28 |
| 4.5.9 Sekuensing DNA..... | 28 |
| 4.5.10 Analisa Data..... | 28 |
| BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 30 |
| 5.1 Isolasi DNA Folikel Rambut Lutung Jawa..... | 30 |
| 5.2 Amplifikasi Gen MC1R dengan Metode PCR..... | 32 |
| 5.3 Sekuensing Gen MC1R..... | 35 |
| 5.4 Analisis Sekuen DNA dan Asam Amino Gen MC1R..... | 37 |
| 5.5 Regulasi Gen MC1R terhadap Perbedaan Warna Rambut Lutung Jawa..... | 43 |
| BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN..... | 47 |
| 6.1 Kesimpulan..... | 47 |
| 6.2 Saran..... | 47 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 48 |
| LAMPIRAN..... | 53 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|----------------|
| 2.1 Kategori tingkat umur <i>Trachypithecus auratus</i> | 7 |
| 4.1 Informasi individu Lutung Jawa..... | 23 |
| 5.1 Konsentrasi dan Kemurnian DNA Folikel Rambut Lutung Jawa..... | 30 |
| 5.2 Program PCR yang digunakan untuk amplifikasi gen MC1R..... | 32 |
| 5.3 Urutan oligo nukleotida primer gen MC1R..... | 32 |
| 5.4 Konsentrasi dan Kemurnian Purifikasi Produk PCR..... | 34 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|----------------|
| 2.1 Induk dan Bayi Lutung Jawa..... | 9 |
| 2.2 Perbedaan Warna Rambut Pada Individu Dewasa Lutung Jawa..... | 11 |
| 5.1 Hasil Elektroforesis DNA Total (Agarosa 1%)..... | 31 |
| 5.2 <i>Origin</i> Oligo Nukleotida Gen MC1R..... | 33 |
| 5.3 Hasil Elektroforesis Produk PCR (Agarosa 2%)..... | 33 |
| 5.4 Hasil Elektroforesis Purifikasi Produk PCR (Agarosa 2%)..... | 35 |
| 5.5 <i>Alignment</i> MC1R Nukleotida Sampel H2 (Query) terhadap Urutan Nukleotida dari Database (Sbjct)..... | 36 |
| 5.6 <i>Alignment</i> MC1R Nukleotida Sampel O1 (Query) terhadap Urutan Nukleotida dari Database (Sbjct)..... | 38 |
| 5.7 Penyejajaran Antara Sekuen DNA H2 dan O1 terhadap gen MC1R..... | 38 |
| 5.8 Penyejajaran Asam Amino Antara Sampel H2 dan O1 terhadap Gen MC1R..... | 39 |
| 5.9 Kodon Pembentuk Asam Amino Gen MC1R terhadap Sampel Lutung Jawa Rambut Oranye..... | 39 |
| 5.10 Kodon Pembentuk Asam Amino Gen MC1R terhadap Sampel Lutung Jawa Rambut Hitam..... | 40 |
| 5.11 Struktur Asam Amino Pembentuk Gen MC1R Lutung Jawa..... | 41 |
| 5.12 Regulasi Gen MC1R terhadap Warna Rambut Lutung Jawa..... | 44 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|---------|
| 1. Laik Etik..... | 54 |
| 2. Kerangka Operasonal Penelitian..... | 55 |
| 3. Desain Primer PCR..... | 56 |
| 4. Protokol Isolasi DNA <i>Qiagen DNeasy Blood and Tissue Kit</i> | 59 |
| 5. Hasil Uji Kuantitatif <i>Whole</i> DNA dan Hasil Purifikasi Produk PCR Menggunakan <i>Nanophotometer</i> | 60 |
| 6. Protokol Purifikasi Produk PCR..... | 61 |
| 7. Pembacaan Hasil Sekuensing Menggunakan <i>BioEdit Tools</i> | 62 |
| 8. BLAST NCBI..... | 64 |
| 9. Grafik Elekrtoferogram Hasil Sekeunsing..... | 65 |
| 10. Pohon Filogenetik Sampel dengan MC1R <i>Trachypitechus auratus</i> | 66 |

DAFTAR ISTILAH DAN ARTI LAMBANG

| <u>Simbol/singkatan</u> | Keterangan |
|-------------------------|---|
| % | Persen |
| ≥ | Lebih besar atau sama dengan |
| °C | Derajat Celsius |
| μL | Mikroliter |
| Å | Angstrom |
| AE | <i>Eluted buffer</i> |
| AL | <i>Lysis buffer</i> |
| ATL | <i>Animal Tissue Lysis</i> |
| AW | <i>Washing buffer</i> |
| BLAST | <i>Basic Local Alignment Search Tool</i> |
| bp | <i>Base Pair</i> |
| cAMP | <i>Cyclic Adenosine Monophosphate</i> |
| CDS | <i>Coding DNA Sequence</i> |
| cm | <i>Centimeter</i> |
| ddH ₂ O | <i>Double distilled water</i> |
| ddNTP | <i>Dideoxynucleotide triphosphate</i> |
| DNA | <i>deoxyribonucleic acid</i> |
| dNTP | <i>deoxyribonucleotide triphosphate</i> |
| dsDNA | <i>double stranded deoxyribonucleic acid</i> |
| EtBr | <i>Etidium Bromida</i> |
| g | gram |
| IUCN | <i>International Union for Conservation of Nature</i> |
| JLC | <i>Javan Langur Center</i> |
| kb | <i>Kilobase</i> |
| kg | Kilogram |
| m | meter |
| M | Molar |
| MC1R | <i>Melanocortin-1 Receptor</i> |
| MC1R_F | <i>Melanocortin-1 Receptor Forward</i> |
| MC1R_R | <i>Melanocortin-1 Receptor Reverse</i> |
| Mg | Magnesium |
| mm | Milimeter |
| NCBI | <i>National Center for Biotechnology Information</i> |
| nm | Nanometer |
| PCR | <i>Polymerase Chain Reaction</i> |
| pmol | <i>Picomol</i> |
| RNA | <i>Ribonucleic acid</i> |
| rpm | <i>Revolutions per minute</i> |

| | |
|------------|-------------------------------------|
| SK | Surat Keputusan |
| <i>Taq</i> | <i>Thermus aquaticus</i> |
| TBE | <i>Tris/Borate/EDTA</i> |
| TNBTS | Taman Nasional Bromo Tengger Semeru |