



ISOLASI FRAGMEN PUTATIVE GEN *CARBONIC ANHYDRASE* PADA TANAMAN BAYAM RAJA (*Amaranthus viridis* L.) DENGAN PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

SKRIPSI

**Diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan
Untuk menyelesaikan Program Sarjana pada
Program Studi Agronomi Jurusan Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Jember**

Oleh

**Mochamad Irfan Faizin
NIM. 021510101121**

**JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2007**

SKRIPSI

ISOLASI FRAGMENT PUTATIVE GEN *CARBONIC ANHYDRASE* PADA TANAMAN BAYAM RAJA (*Amaranthus viridis* L.) DENGAN PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Oleh

Mochamad Irfan Faizin

NIM. 021510101121

Pembimbing

Pembimbing Utama : Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS.

Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Kacung Hariyono, MS.

PENGESAHAN

Karya ilmiah (Skripsi) berjudul **Isolasi Fragmen Putative Gen *Carbonic Anhydrase* pada Tanaman Bayam Raja (*Amaranthus viridis* L.) Dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)** telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Pertanian pada:

Hari : Rabu
Tanggal : 27 Juni 2007
Tempat : Fakultas Pertanian

Tim Penguji
Ketua,

Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, M.S.
NIP. 132 095 706

Anggota I,

Anggota II,

Dr. Ir. Kacung Hariyono, MS.
NIP. 132 135 201

Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D.
NIP. 132 207 406

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati, MS.
NIP. 130 531 982

RINGKASAN

Isolasi Fragmen Putative Gen *Carbonic Anhydrase* pada Tanaman Bayam Raja (*Amaranthus viridis* L.) Dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*); Mochamad Irfan Faizin, 021510101121; 2007; 21 halaman; Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Bayam raja (*Amaranthus viridis* L.) merupakan tanaman dikotil yang mempunyai tipe fotosintesis C₄ (NAD-ME) dan termasuk dalam famili *amaranthaceae*. *Carbonic anhydrase* (*Carbonate dehydratase*, CA; EC.4.2.1.1) merupakan suatu enzim yang mengandung Z_n dan berfungsi mengkatalis reaksi bolak-balik dari HCO₃⁻ menjadi CO₂. *Carbonic anhydrase* merupakan enzim yang pertama dalam siklus asam C₄ untuk merubah CO₂ menjadi HCO₃⁻ dalam sel mesofil (Hatch, 1987). Penelitian ini bertujuan untuk mencari fragmen putative gen *Carbonic anhydrase* pada tanaman bayam raja (*Amaranthus viridis* L.) yang mempunyai tipe fotosintesis C₄ dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Penelitian ini dilaksanakan di Pusat Penelitian Biologi Molekul Universitas Jember pada bulan Juli 2006 sampai Mei 2007. Bahan-bahan yang digunakan adalah daun tanaman bayam raja, N₂ cair, enzim AMV-RT (Roche), *Taq DNA polymerase* (PCR Core Kit dari Roche), dan *marker 1 kb plus DNA ladder* (Fermentas). Peralatan yang digunakan adalah *sentrifuge*, *microsentrifuge*, PCR *thermocycler*, elektroforesis (BIO-Rad), *spectrophotometer*, *mini transiluminator*, satu set SDS-PAGE dan kamera polaroid.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total RNA berhasil diisolasi dari daun bayam dengan menggunakan metode fenol yaitu kemurnian RNA 1,909 dan konsentrasi 15,76 µg/µl. Total RNA digunakan untuk pembuatan sscDNA sebagai *template* dalam proses PCR. Berdasarkan dari hasil PCR didapatkan fragmen putative gen *Carbonic Anhydrase* pada tanaman bayam raja (*Amaranthus viridis* L.) dengan ukuran 375 bp.

SUMMARY

Isolation of Putative Fragment of Carbonic Anhydrase Gene from King Spinach (*Amaranthus Viridis* L.) Using PCR (Polymerase Chain Reaction); Mochamad Irfan Faizin, 021510101121; 2007; 21 pages; Department of Agronomy, Faculty of Agriculture Jember University.

King spinach (*Amaranthus viridis* L.) is dicot plant which type of photosynthesis is C₄ (NAD-ME) and it grouped in family of *amaranthaceae*. Carbonic anhydrase (Carbonate dehydratase, CA; EC.4.2.1.1) is an enzyme that contain Zn and its function is for reversible catalyze of HCO₃⁻ to CO₂. Carbonic anhydrase is first enzyme in C₄ acid cycle for changing CO₂ to be HCO₃⁻ in the mesophyl cells (Hatch, 1987). The aim of this research in to obtain putative fragment of Carbonic anhydrase gene from King Spinach (*Amaranthus viridis* L.) which have type of photosynthesis C₄ using PCR (Polymerase Chain Reaction).

Research has been carried out in Centre research for Biology Molecular Jember University, from July 2006 up to May 2007. The materials used are leaf of King spinach, liquid nitrogen, Enzyme AMV-RT (Roche) *Taq* DNA polymerase (PCR Core Kit from Roche), marker 1 kb plus DNA ladder (Fermentas). The equipment used is centrifuge, microcentrifuge, PCR thermocycler, electrophoresis (BIO-Rad), spectrophotometer, mini transiluminator, SDS-PAGE chamber and camera Polaroid.

Results of the experiment showed RNA total is successful isolated from leaf of King Spinach using phenol method with purity of RNA 1.9 and concentration 15.76 ug/ul. This RNA is used in forming of single strand of cDNA as template in PCR processing. According to the results of PCR, it has been obtained putative fragment of Carbonic anhydrase gene from King Spinach (*Amaranthus viridis* L.) with size of 357 bp.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ **Isolasi Fragmen Putative Gen *Carbonic Anhydrase* pada Tanaman Bayam Raja (*Amaranthus viridis* L.) Dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**”. Penelitian ini didanai oleh Proyek Fundamental DIKTI I Tahun anggaran 2006.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ayahanda Abdul Hadi, Ibunda Sri Utami Ningsih, serta adik-adikku Arie Fintarti dan Dian Nirmala Sari serta Tutut Indri Hapsari, SP atas segala pengorbanan, semangat dan doa yang telah diberikan.
2. Dr. Ir. Didik Pudji Restanto, MS. sebagai Dosen Pembimbing Utama, Dr. Ir. Kacung Hariyono, MS. sebagai Dosen Pembimbing Anggota I, dan Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D. sebagai Dosen Pembimbing Anggota II yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam menyelesaikan skripsi.
3. Prof. Dr. Ir. Endang Budi Trisusilowati, MS. sebagai Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
4. Keluarga besar Biologi Molekul Universitas Jember, Teman-teman Agro 2002, dan semua pihak yang telah memberikan motivasi hingga penulisan skripsi ini selesai.

Penulis mengharapkan saran serta kritik dari semua pihak demi kesempurnaan karya ilmiah ini. Semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi pihak-pihak yang terkait dalam mengembangkan ilmu pengetahuan.

Jember, Juli 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
RINGKASAN	iv
SUMMARY	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 <i>Carbonic Anhydrase</i>	3
2.2 Peranan <i>Carbonic Anhydrase</i>	4
2.3 Lokasi <i>Carbonic Anhydrase</i>	4
2.4 Aktivitas <i>Carbonic Anhydrase</i>	5
BAB 3. METODE PENELITIAN	7
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	7
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	7
3.3 Metode	7
3.3.1 Elektroforesis SDS-PAGE	7

3.3.2	Isolasi Total RNA	8
3.3.3	Desain Primer	9
3.3.4	Isolasi <i>Complementary</i> DNA	9
3.3.4.1	Pembuatan ss-cDNA	9
3.3.4.2	PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).....	9
3.3.5	Elektroforesis	10
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	11
4.1	Elektroforesis SDS-PAGE	11
4.2	Isolasi Total RNA	12
4.3	Desain primer	13
4.4	Polymerase Chain Reaction	14
BAB 5.	SIMPULAN	17
DAFTAR PUSTAKA	18

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
2.2	Perbedaan siklus fotosintesis C ₃ dan C ₄ serta letak lokasi <i>Carbonic anhydrase</i>	4
4.1	Elektroforesis SDS-PAGE	11
4.2	Isolasi Total RNA	12
4.3	Desain primer	13
4.4	<i>Polymerase Chain Reaction</i>	14