

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: Analisis Mikrosatelit Bagi spesiesBambu di SabahIjazah: Sarjana Muda Sains dengan KepujianSESI PENGAJIAN: 2000Saya ERNAWATY SUHAIH

(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/Sarjana/Doktor Falsafah)* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. **Sila tandakan (/)

☐

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

☐

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

☒

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh

ernawaty
(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: NO 41,
Lorong G, TamanRidgeview 12, Kepyuan (88200)

Nama Penyelia

Tarikh: 26/3/04

Tarikh: _____

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

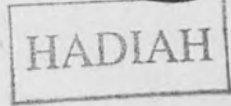
** Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

@ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



228011

4000005469



ANALISIS MIKROSATELIT BAGI SPESIES BAMBU DI SABAH

ERNAWATY SUHAILI

**TESIS INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN DARIPADA
SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS DENGAN
KEPUJIAN**

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

FEBUARI 2004

PERPUSTAKAAN UMS



1400005469

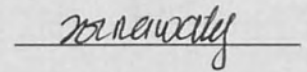


UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

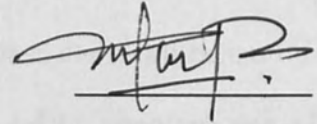
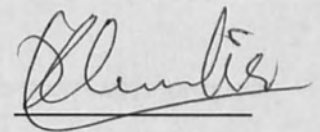
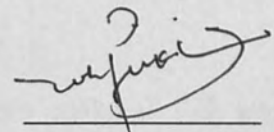
Saya akui bahawa karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah saya jelaskan sumbernya.

13 FEBUARI 2004



(ERNAWATY SUHAILI)

HS2000-4171

PERAKUAN PEMERIKSA**Tandatangan****1) PENYELIA****Dr. Vijay Kumar****2) PEMERIKSA – 1****Dr. Lee Ping Chin****3) PEMERIKSA – 2****Miss Teoh Peik Lin****4) DEKAN****Prof. Madya Dr. Amran Ahmed**

PENGHARGAAN

Bismillahirrahmanirrahim...

Syukur alhamdulillah ke hadrat illahi, kerana dengan berkatnya, maka laporan disertasi ini dapat diselesaikan. Ribuan terima kasih diucapkan kepada penyelia, Dr. Vijay Kumar dengan bantuan serta tunjuk ajar yang telah beliau curahkan. Jasa dan bakti beliau tidak dapat saya lupakan. Begitu juga kepada Miss Teoh Peik Lin selaku penolong penyelia yang juga banyak mencurahkan ilmu kepada saya.

Ucapan terima kasih juga saya tujukan kepada pensyarah-pensyarah program bioteknologi serta kakitangan Institut Penyelidikan Bioteknologi Universiti Malaysia Sabah.

Ucapan terima kasih juga saya tujukan kepada pembantu makmal di atas keprihatinan beliau. Disini juga saya ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada Amus, syam, kak c,t, fest, joe, bas, jen dan Godon di atas pertolongan dan panduan yang sudi di kongsi kepada saya. Kepada Rizal, terima kasih diatas sokongan dan dorongan yang di berikan dan amat saya hargai.

Akhir sekali, kepada ayah, emak, angah dan amy serta keluarga yang lain terima kasih kerana memahami situasi dan dorongan yang diberikan yang diberikan sepanjang tempoh pengajian ini. Doa kalian mengiringi perjuangan saya ini. Pada yang terlibat secara langsung dan tidak langsung terima kasih semuanya.

ERNAWATY SUHAILI

2004



ABSTRAK

Variasi dan perhubungan genetik di antara tiga populasi *Bambusa* yang di kumpul dari kawasan geografi yang berasingan di Sabah iaitu Tambunan, Ranau dan Penampang di analisis menggunakan penanda DNA mikrosatelit. Enam lokus di kaji iaitu 45HDZ007, 45HDZ016, 45HDZ028, 45HDZ052, 45HDZ075 dan 45HDZ0199 dari spesies bambu *Hapalemur griseus* telah digunakan. Penggunaan primer ini dijangka akan mengamplifikasikan satu produk PCR pada kedudukan 198-268 bp. Setelah pengoptimaan program PCR dan kepekatan larutan di lakukan kesemua primer yang digunakan tidak dapat mengamplifikasikan DNA spesies *Bambusa*. Oleh itu, untuk mendapatkan penanda mikrosatelit kajian di teruskan dengan membuat pemencilan mikrosatelit lokus bagi spesies *Bambusa* dari sampel kawasan Poring, Ranau. Kaedah 5' *anchored* di gunakan untuk membuat pemencilan mikrosatelit lokus *Bambusa* dengan menggunakan primer LR1 dan LR7. Transformasi juga di jalankan dengan menghasilkan koloni biru putih. Plasmid yang di perolehi di hantar untuk penjujukan DNA. namun pada penghantaran pertama plasmid tidak dapat dijujukan kerana terdapat kontaminasi. Penjujukan kedua dijalankan dengan menggunakan satu sampel dan lokus mikrosatelit diperolehi walaupun jujukan DNA yang diperolehi adalah pendek.



ABSTRACT

The variation and genetic relationship among three population of *Bambusa* collected from different geographical regions of Sabah which is Tambunan, Ranau and Penampang were analyzed using microsatellite loci. Six loci examined from *Hapalemur griseus* species that is 45HDZ007, 45HDZ016, 45HDZ028, 45HDZ052, 45HDZ075 and 45HDZ0199. The six primer was expected to amplify at 198-268bp PCR product. Although optimization have been performed for PCR program and the concentration of PCR reaction, all the microsatellite loci cannot amplified DNA for *Bambusa* species showed. To obtain microsatellite loci for *Bambusa* species, this work continues to isolate locus microsatellite from *Bambusa* using the sample from Poring, Ranau. 5' anchored PCR method was used to isolate microsatellite loci for *Bambusa* species. Degenerate primer LR1 and LR7 used in PCR method. After sending six samples for sequencing, first trial of sequencing showed negative result, then one sample showed microsatellite loci in the DNA sequencing for the second trial of sequencing.



KANDUNGAN

Muka Surat

PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI SINGKATAN	xii
SENARAI SIMBOL DAN UNIT	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif kajian	2
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	
2.1 Taxonomi dan habitat bambu	3
2.2 Bambu di Sabah, morfologi dan pertumbuhan	4
2.3 Spesis <i>Bambusa</i> yang terdapat di Sabah (Dransfield, 1992)	6
2.4 Kepentingan bamboo dan nilai komersial.	8
2.5 Penanda Mikrosatelit	9
2.5.1 Kebaikan dan keburukan penanda mikrosatelit	10
2.6 Mikrosatelit dan populasi genetik	11
2.6.1 Persamaan Hardy-Weinberg, frekuensi alel dan heterozygositi	12
2.7 Analisa mikrosatelit dalam bambu	13
2.7.1 Konsep tindakbalas berantai polymerase (PCR)	14



2.7.2	Gel elektroforesis dan data analisis	15
2.8	Pemencilan Lokus Mikrosatelit	
2.8.1	5' anchored PCR	16

BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH

3.1	Persampelan	17
3.2	Penyediaan sampel DNA	
3.2.1	Pengekstrakan DNA menggunakan kaedah manual	19
3.2.2	Pengekstrakan DNA menggunakan <i>Clontech kit</i>	22
3.3	Kaedah PCR (Polymerase Chain Reaction) bagi analisis Mikrosatelit Bambu.	
3.3.1	Pemilihan primer	23
3.3.2	Pencairan Primer	25
3.4	Kaedah PCR baci pemencilan Primer bagi spesis <i>Bambusa</i>	26
3.5	Kaedah elektroforesis	27
3.6	Pengklonan dan transformasi produk PCR	28
3.7	Pengekstrakan plasmid menggunakan <i>Alkaline Lysis Miniprep</i>	29
3.8	Penjujukan DNA	31

BAB 4 KEPUTUSAN

4.1	Penyediaan sampel DNA	32
4.2	Hasil Tindakbalas Rantai Pplimerase (PCR) untuk penyaringan enam Jenis primer dari spesis <i>Hapalemur griseus</i>	34
4.2.1	Pengoptimuman DNA	36
4.2.2	Pengoptimuman suhu penganilan (<i>annealing</i>)	38
4.3	Hasil tindakbalas berantai polymerase untuk pemencilan lokus mikrosatelit bagi spesis <i>Bambusa</i>	39
4.3.1	Pengoptimuman $MgCl_2$	40
4.4	Pengklonan dan transformasi	41
4.5	Pengekstrakan Plasmid	42
4.6	Penjujukan DNA	44

BAB 5 PERBINCANGAN

5.1	Pengekstrakan DNA	45
5.2	Analisis Hasil PCR	47
5.2.1	Pengoptimuman Suhu T_m (<i>annealing</i>)	48
5.2.2	Pengoptimuman $MgCl_2$	49
5.2.3	Templat DNA	49
5.3	Pengklonan dan transformasi	50
5.4	Plasmid miniprep dan pengekstrakan Plasmid	52
5.5	Penjujukan DNA	53

BAB 6 KESIMPULAN	55
------------------	----

RUJUKAN	56
---------	----

LAMPIRAN A	61
------------	----

SENARAI JADUAL

	Halaman
Jadual 3.1 Kawasan dan saiz sample bagi spesis <i>Bambusa</i> yang digunakan dalam kajian.	18
Jadual 3.2 Saiz pelekatan primer dan suhu pelekatan pada templat DNA	24
Jadual 3.3 Jujukan Primer dan motif didalam setiap lokus	25
Jadual 3.4 Peratusan agarose dan kriteria elektroforesis yang digunakan dalam proses elektroforesis	28
Jadual 4.1 Kaedah yang digunakan semasa pengekstrakan	32
Jadual 4.2 Program PCR bagi primer LR1 dan LR7	41
Jadual 4.3 Bilangan dan peratus koloni putih biru bagi M13 <i>Forward</i> (LR7)	41

SENARAI RAJAH

	Halaman
Rajah 3.1 Proses Pengekstrakan DNA yang diperkenalkan oleh Dellaporta <i>et.al.</i> , 1983	21
Rajah 4.1 Hasil pengekstrakan DNA dengan menggunakan kaedah Clontech Kit plant extraction	33
Rajah 4.2 Hasil pengekstrakan DNA dengan menggunakan kaedah Dellaporta <i>et. al.</i> , 1983	33
Rajah 4.3 Hasil PCR menggunakan suhu <i>annealing</i> yang berbeza	35
Rajah 4.4 Hasil PCR menggunakan 2µl DNA pada suhu <i>annealing</i> berbeza	36
Rajah 4.5 Hasil PCR menggunakan 3µl DNA pada suhu <i>annealing</i> yang berbeza	37
Rajah 4.6 Hasil PCR menggunakan suhu penganilan 47°C dan 3µl DNA	38
Rajah 4.7 Hasil PCR menggunakan jumlah isipadu yang berbeza iaitu 10µl Dan 20µl pada suhu penganilan 59°C	39
Rajah 4.8 Hasil PCR menggunakan jumlah isipadu yang berbeza iaitu 20µl dan 30µl pada suhu penganilan 59°C	40
Rajah 4.9 Hasil pengklonan dan transformasi koloni putih biru pada LB agar selepas 10 jam	42
Rajah 4.10 Hasil pengekstrakan plasmid pada percubaan pertama	43
Rajah 4.11 Hasil pengekstrakan plasmid pada percubaan kedua	43
Rajah 4.12 Hasil Penjujukan DNA	44

SENARAI SINGKATAN

Bp	Pasangan bes
CTAB	Cetyl trimethylammonium bromide
ddH ₂ O	"Double distilled water"
dH ₂ O	Air suling
DNA	Asid deoksiribonukleik
dATP	Deoksiadenosina trifosfat
dCTP	Deoksisitosina trifosfat
EDTA	Asid ethylenediamine tetraasetik
EtBr	"Ethidium bromide"
G	Gram
L	Liter
MgCl ₂	Magnesium klorida
Min	Minit
mM	Mili Molar
OD	Serapan
PCR	Tindakbalas rantai polimerase
RAPD	"Random Amplified Polymorphism DNA"
RFLP	Pembatasan pemanjangan fragmen polimorfisma
RNA	Asid Ribonukleik
S	Saat
SDS	Sodium DodecylSulphate
Sp	Spesies
STR	"Short Tandem Repeat"
<i>Taq Polymerase</i>	<i>Thermus aquaticus</i> DNA polymerase
%	Peratus



SENARAI SIMBOL DAN UNIT

G	gram
ng	nanogram
L	Liter
kb	kilobes
μ g	Mikrogram
μ l	Mikroliter
Mb	Megabes
M	Molar
MW	Jisim molekul (molecular weight)
V	Voltan
$^{\circ}$ c	Darjah Celcius
%	Peratus
mM	Milimolar

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Bambu tergolong dibawah kumpulan *Gramineae* iaitu salah satu famili bagi rumput. Terdapat 1000-1500 spesis bambu di dunia. Diantara spesis yang popular ialah spesis *Bambusa* dimana terdapat lebih dari 37 spesis ditemui diserata dunia dan kebanyakannya ditemui di asia. *Bambusa* adalah spesis bambu yang hidup di kawasan lapang di tanah rendah mahupun tinggi.

Bambu merupakan satu tumbuhan yang penting dalam sejarah perkembangan manusia. Pada masa dahulu bambu digunakan sebagai bahan untuk membuat rumah dan juga senjata. Namun pada masa kini bambu telah mula diberi perhatian di sesetengah negara terutamanya Asia untuk tujuan kormesial. Oleh itu beberapa penyelidikan semakin pesat dijalankan bagi memperbaiki tumbuhan bambu supaya ianya boleh digunakan secara lebih meluas lagi. Ini bermakna pemahaman yang lebih mendalam mengenai struktur genetik bambu adalah perlu untuk memahami variasi genetik bagi satu populasi.



Perkembangan didalam biologi molekul telah membawa kepada satu teknik yang dikenali sebagai mikrosatelit. Mikrosatelit merupakan salah satu penanda genetik yang digunakan untuk memahami struktur genetik dalam suatu spesis kerana ia mempunyai kebolehan untuk menyediakan maklumat genetik bagi satu populasi dalam satu spesis tertentu. Mikrosatelit boleh ditemui pada hampir semua genom organisma.

1.2 Objektif Kajian.

- a- Untuk membuat penyaringan primer dari spesis *Hapalemur griseus* untuk mengamplifikasikan DNA *Bambusa*
- b- Untuk memencilkan lokus mikrosatelit bagi spesis *Bambusa*
- c- Untuk menganggarkan jarak genetik bagi dua spesis *Bambusa* di tiga populasi berlainan iaitu Ranau, Tambunan dan Penampang.

BAB 2

ULASAN RUJUKAN

2.1 Taxonomi Dan Habitat Bambu

Bambu tergolong dibawah famili rumput iaitu *Gramineae* dan berada dibawah subfamili *Bambusoideae*. Bambu adalah segenis tumbuhan yang hidup kekal jika tidak dimusnahkan. Bambu juga sejenis tumbuhan kayu yang tergolong dalam kumpulan angiosperm dan monokotiledon.

Terdapat 60-70 genera dan lebih 1,200-1,500 spesis bambu di dunia. (Wang dan Shen, 1971). Kira-kira separuh dari spesis bambu terdapat di Asia dan kebanyakannya tumbuh di kawasan Indo-Burma. Bambu memerlukan iklim yang panas, lembab untuk tumbuh. Bambu didapati tumbuh dengan banyak di kawasan tropik dan sesetengah jenis bambu juga terdapat di sekitar iklim yang bermusim seperti negara Jepun, Chile dan Amerika Syarikat (Grasser dan Liese, 1971).

Bambu tumbuh di pelbagai habitat seperti di tanah tinggi ataupun rendah. Kesemua jenis tanah adalah sesuai bagi pertumbuhan bambu kecuali tanah yang

beralkali dan bambu tidak akan tumbuh di padang pasir. Bambu di Malaysia dilihat boleh tumbuh pada ketinggian 3,000 meter dari paras laut dan pH tanah diantara 5.0 - 6.5

2.2 Bambu Di Sabah , Morfologi Dan Pertumbuhan

Terdapat sembilan genera bambu yang terdapat di Sabah. *Thyrsostachys (T.siamensis)* merupakan satu genera yang diperkenalkan dari nagara lain iaitu dari negara Thailand. Diantara kumpulan genera yang terdapat di Sabah ialah *Bambusa* (enam spesis), *Dendrocalamus* (satu spesis), *Gigantochloa* (dua spesis), *Dinochloa* (sembilan spesis) , *Schizostachyum* (tujuh spesis), *Racemobambos* (enam spesis), *Yushania* (satu spesis) dan *Sphaerobambos* (satu spesis) (Dransfield, 1991).

Bambu di Sabah di temui tumbuh kebiasaannya di kampung-kampung dan juga hutan. Bambu di anggap sebagai tanaman kampung oleh orang-orang tempatan. Bambu banyak ditanam di tepi-tepi sungai,tepi jalan dan juga di sawah padi di kebanyakan kawasan. Diantara kawasan di mana bambu banyak di temui adalah di Daerah Tambunan, Keningau, Tenom, Ranau, Beluran, Tamparuli dan Penampang.

Bambu di bahagikan kepada dua bahagian utama iaitu rizom dan batang. Bahagian rizom adalah bahagian yang terdapat di bawah tanah. Terdapat dua jenis rizom iaitu *pachymorp* dan *leptomorph*. Di sabah kebanyakan bambu mempunyai

rizom jenis *pachymorp* kerana ianya bersesuaian dengan keadaan iklim di Sabah (Dransfield, 1991) .

Bahagian batang bambu bagi spesis yang terdapat di Sabah kebanyakan adalah lurus dan tumbuh dengan tegak dan mempunyai hujung berayun. Terdapat juga pokok bambu yang tumbuh secara *zig zag*. Saiz bagi batang pokok bambu adalah berdasarkan spesis tertentu. Oleh itu, batang pokok bambu merupakan bahagian yang paling penting dalam mengenalpasti spesis bambu tersebut. Di Sabah bambu dari spesis *Gigantochloa* adalah bambu yang mempunyai saiz batang yang paling besar sekali (Dransfield, 1992)

Morfologi lain bagi bambu ialah pucuk muda, pelepah buluh, dan daun bambu. Pucuk muda bambu dikenali sebagai rebung dan menjadi sumber makanan di Sabah.

Bambu merupakan spesis yang cepat tumbuh dan tempoh pertumbuhan berlaku adalah bergantung dengan spesis. Batang bambu mampu tumbuh sepuluh hingga dua puluh batang setiap tahun dan memanjang kira-kira lima belas sehingga 18 sentimeter setiap empat hingga 6 bulan. Kematangan bambu adalah pada umur tiga tahun dan pada umur ini barulah batang bambu sesuai untuk ditebang (Abd.Latif, 1990).

Terdapat lebih dari sembilan spesis bambu terdapat di Sabah. Antara spesis yang cukup popular dan mempunyai banyak kegunaan ialah spesis *bambusa*. Terdapat banyak kawasan di Sabah menanam spesis *Bambusa* ini terutamanya

dikawasan Tambunan dan Ranau. Batang spesis *Bambusa* ini kebiasaanya digunakan untuk membina jambatan dan pagar bagi kawasan kampung kerana batangnya yang besar dan keras. Habitat bagi spesis ini adalah di tepi sungai dan kawasan lapang di tanah rendah (Dransfield, 1992).

2.3 Spesis *Bambusa* Yang Terdapat Di Sabah (Dransfield, 1992)

Terdapat tiga puluh tujuh spesis *Bambusa* di Asia. Kebanyakan spesis *bambusa* hidup di kawasan tropik. Di Sabah spesis *Bambusa* tumbuh di kawasan terbuka di tanah rendah dan tinggi tetapi lebih di temui di tempat lembab seperti di tebing sungai.

Bambusa blumeana merupakan bambu yang di kenali sebagai Tongkungan dalam bahasa Kadazan, Dusun dan bambu duri dalam bahasa Melayu. Ciri-ciri utama bagi bambu adalah setinggi 20 meter dan diameter sepuluh sentimeter. Di Sabah, bambu dari spesis ini di temui di tepi sungai di kampung-kampung seperti Tambunan, Keningau dan Tenom .

Bambusa heterostachya yang di kenali sebagai Buluh Telang ataupun buluh galah mempunyai panjang batang kira-kira tujuh meter dan berdiameter tiga hingga enam sentimeter. Di Sabah bambu jenis ini boleh ditemui di kawasan ladang kelapa sawit kerana ianya digunakan sebagai pengait kelapa sawit yang mayang di kawasan ini.

Bambusa multiplex yang dikenali sebagai buluh Cina diperkenalkan dari Negara China. *Bambusa multiplex* digunakan sebagai tumbuhan perhiasan di Sabah yang dikenali sebagai buluh pagar. Batang bambu jenis ini adalah diantara batang bambu yang terkecil dimana diameter batang ialah diantara 1.5 sehingga 2.5 sentimeter dan tinggi diantara dua hingga tujuh meter.

Bambusa tuldooides merupakan salah satu jenis bambu yang sukar ditemui di Sabah. Ia merupakan bambu yang paling kecil sekali dan pada kebiasaannya ia ditanam sebagai hiasan di dalam pasu bunga dan tinggi pokok bambu adalah diantara lima puluh sentimeter.

Bambusa vulgaris dikenali sebagai bambu kuning atau lebih dikenali sebagai buluh tanalang atau tambalang di Sabah. Buluh kuning ditemui tumbuh di tepi sungai dan mempunyai panjang batang sepuluh hingga dua puluh meter dan diameter batang adalah empat hingga sepuluh sentimeter. Di Sabah terdapat dua jenis *Bambusa vulgaris* iaitu hijau dan kuning. *B. vulgaris* yang berwarna kuning digunakan sebagai tanaman hiasan manakala yang berwarna hijau digunakan dalam membuat jambatan, *B. vulgaris* yang berwarna hijau tumbuh secara spontan di tepi-tepi jalan, tepi sungai dan di kawasan sawah padi.

Terdapat satu lagi spesis bambu yang ditemui di Kudat dimana batang bambu sepanjang tujuh meter dan diameter batang tiga sentimeter. Bambu ini kelihatan seperti *Bambusa mutabilis* dari Selatan China. Setakat ini belum terdapat

nama yang spesifik diberikan kepada bambu jenis ini dan masih di bawah penyelidikan sejak tahun 1972 lagi (Dransfield, 1992) .

2.4 Kepentingan Bambu Dan Nilai Komersial.

Bambu merupakan salah satu bahan binaan tertua yang digunakan untuk membuat rumah di seluruh dunia. Batang bambu merupakan bahagian yang paling penting sekali dalam beberapa industri seperti perabot kraftangan dan alat musik. Di Asia, bambu banyak digunakan dalam pembinaan jambatan dan alat-alat perkakas rumah (Byung, 1998).

Selain itu, pucuk bambu yang muda penting sebagai sumber makanan di Asia. Pada masa sekarang, terdapat beberapa buah negara yang mengekstrak dari beberapa bahagian tumbuhan ini untuk dijadikan ubat untuk penyakit kulit dan penyakit asma. Abu bambu juga digunakan sebagai pengilat barang kemas dan digunakan dalam industri bateri elektrik (Munjeri, 1992).

Diantara negara-negara yang giat menjalankan ekonomi berdasarkan bambu ini adalah seperti Taiwan, Indonesia, Korea dan Jepun. Industri yang banyak menggunakan bambu ini ialah pembuatan perabot dan juga perhiasan dalaman rumah. Ini bermakna bambu juga merupakan tumbuhan penting dalam kegiatan ekonomi semasa disamping dengan kayu-kayan yang lain (Byung, 1998).

Untuk mempertingkatkan dan memperbaiki fisiologi bambu ini, penyelidikan haruslah dijalankan dengan memahami variasi genetik spesis bambu. Untuk memahami variasi genetik bambu, struktur genetik bambu harus difahami terlebih dahulu. Terdapat beberapa kaedah didalam genetik molekul yang dapat membantu memahami struktur genetik bambu dan salah satunya ialah penggunaan mikrosatelit sebagai penanda genetik dan ini merupakan satu kaedah yang paling sesuai digunakan berbanding penanda genetik yang lain.

2.5 Penanda Mikrosatelit

Mikrosatelit merupakan salah satu penanda genetik yang digunakan untuk memahami struktur genetik dan populasi dalam satu spesis. Mikrosatelit terdiri dari jujukan yang ringkas yang dikenali sebagai motif jujukan tunggal tidak lebih dari enam bes (Hancock, 1999).

Mikrosatelit boleh wujud dalam bentuk di-, tri-, tetra- nukleotida. Contoh dinukleotida sebagai contoh $(GA)_n$ dan $(CAG)_n$ bagi trinukleotida. Mikrosatelit juga boleh terdiri lebih daripada satu pasang nukleotida (Litt dan Luty, 1989) yang dikenali sebagai jujukan ringkas (Tautz, 1989) dan pengulangan tandem pendek (STRs) (Edward *et al.*, 1991).

Mikrosatelit didapati wujud hampir pada semua genom dalam organisma hidup dimana frekuensi yang dikenalpasti adalah tinggi. Di dalam genom manusia

poly(A)/poly(T) adalah jujukan ulangan yang biasa dijumpai (Beckmann and Weber, 1992; Stallings, 1992; Hancock, 1996).

2.5.1 Kebaikan Dan Keburukan Penanda Mikrosatelit

Mikrosatelit mempunyai polimorfisma yang tinggi kerana ia berupaya menyediakan variasi alel oleh itu ia amat bersesuaian untuk digunakan bagi membina peta genetik bagi pelbagai organisma termasuk manusia (Valdes *et al.*, 1993).

Selain itu mikrosatelit merupakan penanda genetik yang kodominan dimana ia dapat membezakan lokus heterozigot dan homozigot. Ini bermakna mikrosatelit amat berguna bagi ujian genetik populasi terutamanya bagi spesis dimana variasi alozim adalah rendah (Estoup *et al.*, 1995).

Walaupun terdapat keburukan didalam penggunaan mikrosatelit sebagai penanda genetik. Dalam pembinaan primer bagi mikrosatelit dalam sesuatu spesis memerlukan perbelanjaan yang besar. Namun setelah ianya dapat dibina mikrosatelit merupakan kaedah yang sangat sesuai yang digunakan kerana ianya murah berbanding dengan penanda genetik yang lain.

RUJUKAN

- Abdul Latif Mohmod, Wan Tarmeze Wan Arifin dan Fauziah Ahmad , 1990. Anatomical features and mechanical properties of three Malaysian Bamboos. *Journal of Tropical Forest Science* (2), 227-234
- Ammirato, P. V., 1984. *Hand book pf plant cell culture*, New York, Mac Milan publishing (3).151-167
- Birnboim, H. C., 1983. *A rapid alkaline extraction method for the isolation of plasmid DNA*. *Methods Enzymol*(100),243-255.
- Bottema, C. D. K., Sarkar, G., Cassady, J. D., Li, S. Dutton, C.M. dan Sommer, S. S., 1992. Polymerase chain reaction amplification of specific alleles: a general method of detection of mutation, polymorphism, and haplotypes. Dlm: Wu, R. (pnyt.), 1995. *Recombinant DNA MethodologyII*. Academic Press, Inc., California, 693-705.
- Cheah, P. K., 2001. *Microsatellite Markers as a Tool for Population Studies in Mystus nemurus*. Disertasi Bachelor sains, Universiti Putra Malaysia (Tidak diterbitkan).
- Dellaporta, S. L., Wood, J. dan Hicks, J.B., 1983. *A plant DNA minipreparation: version II*. *Plant Molecular Biology Report*,1(4),19-21
- Demeke, T., Adams, R. P., 1992. *The effect of plant polysaccharides and buffer additives of PCR*. *BioTechniques* (12),332-334.



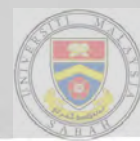
- DeWoody, J.A dan Avise, J.C., 1999. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animal. *Journal Of Fish Bbiology* (56), 461-463.
- Dransfield, S., 1992. *The Bamboo of Sabah*. Forest department of biological science Purdue University, West Lafayette Indiana. 112-131
- Edward, A., Civitello, A., Hammond, H.A. dan Caskey, C.T., 1992. DNA typing and genetic mapping with trimetric and tetrametric tandems repeats. *American Journal Human Genetics*. 49, 746-756.
- Estoup, A.L., Garney, M., Solinag dan Conuet, J. M., 1995. Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera*) population: hierchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics* 140, 679-695
- Fink, K., 2002. *Eppendorf Products and Application For The Laboratory 2002*. Eppendorf AG., German. 141-170.
- Hartwell, L. H., Hood, L., Goldberg, M. L., Reynolds, A.E., Silver, L. M. dan Veres, R. C., 2003. *Genetics: From Genes To Genomes*. The McGraw-Hill Companies, Inc., USA. 32-699
- Hor, L. C., 2001. *Microsatellite as DNA Level Markers In Cultivated Mungbean (Vigna radiste) and Wild Vigna (Vigma trinervia)*. Disertasi Bachelor Sains, Universiti Putra Malaysia (Tidak diterbitkan). 1-31.
- Hsiao, J. Y dan Diseberg, L. H., 1994. Population genetic of *Yushania nitakayamensis Bambusoideae poaceae* in Taiwan. *Molecular Ecology* 3, 201-203.



- Huvel, A., Baloud, K., Bierne, N. dan Boudry, P., 2001. Microsatellite analysis of 6 hours old embryo reveals no preferential intraspecific fertilization between cupped oyster *Crassostrea* and *Crassostrea angulata*. *Marine Biotechnology Journal* **10**, 153-448.
- Gielis, J., 1998. Possibilities dan direction. *Upstream of fundamental research in bamboo*, 1-17.
- Goldstein, D.B dan Schlotterer, C., 2001. *Microsatellite evolution and application*. Oxford University Press, New York. 116-132.
- Gonser, R., Donnelly, O., Nicholson, G. dan Di Rienzo, A., 1999. Microsatellite mutation and interferences about human demography. *Genetic Journal* **154**, 1793-1807.
- Grosser, D. dan Liese, W., 1973. Present status problems of bamboo classification. *Journal of the Arnold Arboretum* **54**, 293-308.
- Hartl, D. L. dan Clark, A. G., 1989. *principles of population genetics*. Sinauer Associates, Inc. Publisher. 16-19
- Karcher, S. J., 2000. *Molecular biology a project approach*. Department of biological science Purdue University, West Afayette Indiana. 21-25
- Kaufman, P. B., Zhang, H.H., Wu, W. dan Welsh, M.j., 1995. *Method in gene biotechnology*. New York. 29-64
- Kutil, B.L. dan William, C. G., 2001. Triplet repeat microsatellite shared hard and soft pines. *The journal of heredity* **92**(4), 415-417.



- Lai, C.C dan Hsiao, J. Y., 1996. Genetic variation of *Phyllostachys pubesens* (*Bambusoideae poaceae*) in Taiwan based on DNA polymorphism. *Botanical bulletin of academia sinica* **38**, 145-152.
- Langlais, G., 1998. Bamboo in Europe Future Prospect. *Collection of Bamboo journal*, 123-135.
- Leroy, J.X, Leon, K dan Branchard, M. 2002. Olan genomic instability detected by microsatellite primer. *Journal of biotechnology* **4**(3), 142-148.
- Liese, W., 1998. *The anatomy of bamboo culm*. International network for Bamboo and Rattan, New York. 38-52.
- Litt, M. dan Luty, J.A., 1989. A hyper variable microsatellite revealed by in vitro amplification of a di nucleotide repeat within the cardiac acting gene. *American journal of human* **44**, 397-401.
- Matsumaya, T. dan Akihama, T., 1993. DNA fingerprinting in citrus cultivars. *Techniques on gene diaognosis and breeding in fruit trees*. Fruit Tree research station Ibaraki, 26-30.
- McClure, F.A., 1966. *Bamboos, a Fresh Prespective*. Harvard University Press, Cambridge, 347.
- Munjeri, D., 1998. Tradional techniques of bamboo in modern life. *The bamboo: facts and Feats*, 183-269.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetic* **89**, 583-590.



- Pang, S.W.Y., Ritland, C. dan Cheng, K.M., 1999. Japanese quail microsatellite loci amplified with chicken specific primers. *Animal genetic* **30**,195-199
- Pandey, R.N., Adams, R.P., Flournoy, L.E., 1996. *Inhibition of random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) by plant polysaccharides*. Plant Mol. Biol. Repr.(**14**),17-22.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S. dan Scarf., S.J., 1988. Primer directed enzymatic amplification of DNA with thermistable DNA polymerase. *Science* **4**,87-491
- Sambrook, J., Fritsch E.F., Maniatis T.,1989. *Molecular cloning; a laboratory manual*, 2nd edition., Cold Spring Harbor. Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
- Shriver, M.D., Jin, L. Chackraborty,R. dan Boerwinkle,L.E., 1993.VNTR allele frequency distruction under stepwise mutational mosel. *Genetic* **134**,983-993.
- Tautz, D., 1989. Hyper variability of simple sequence a general source for polymorphic DNA marker. *Nuclei acid research* **17**,6463-7100.
- Toth, G., Gaspari, Z. dan Jurka,J., 2000.Microsatellite on different eukaryotic genomes:survey and analysis. *Genome research* **10**,967-981.
- Wang, T.T dan Chen, M.Y., 1971. Studies on bamboo flowering in Taiwan. *Technical bulletin of experiment forestry* , 87.
- Webwer, J.L. dan May, P.E., 1989. Abundant class of human DNA polymorphism, which can be typed using the polymerase chain reaction. *American journal of human genetics* **44**, 338-396.
- Wong, K.M., 1995. *The morphology, anatomy, biology and classification of peninsular Malaysian Bamboos*.University of Malaya, Malaysia.

