

ISSN: 2302-5617



MILAMORESA

Journal of Biological Sciences

Vol. IV No. 2 September 2017

ARTICLES

PENGARUH PERTUMBUHAN MISELIUM BEBERAPA JENIS JAMUR TIRAM (*Pleurotus spp.*) MELALUI PENAMBAHAN KALSIK : DOLOMIT DALAM MEDIA SERBUK GERGAJI

Hafizatur Rahma, . Nurmiati, Deddi Prima Putra, . Periadnadi

140-145



JENIS KUNANG-KUNANG (COLEOPTERA: LAMPYRIDAE) DI KAWASAN GUNUNG TUJUH, KABUPATEN KERINCI, PROVINSI JAMBI

Annisa Izmi Aulia, . Mairawita, Resti Rahayu

146-151



PEMANFAATAN SAMPAH ORGANIK KOTA SEBAGAI BAHAN DASAR PUPUK ORGANIK CAIR (POC) UNTUK PERTUMBUHAN *Lactuca sativa L.var. crispa* DENGAN SISTEM VERTIKULTUR

Eka Muliani, Zozy Aneloi Noli, . Periadnadi

152-158



POPULASI DAN KARAKTERISTIK HABITAT BURUNG KOAK KAOK (*Philemon buceroides*) DI TAMAN WISATA ALAM KERANDANGAN

Muhammad Hamdi Iswandi, Hilman Ahyadi, Islamul Hadi, I Wayan Suana

159-163



PERILAKU HARIAN ANAK GAJAH SUMATRA (*Elephas maximus sumatranus*) DI PUSAT KONSERVASI GAJAH (PKG) TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS LAMPUNG

Ni Kadek Febri Yanti, Ni Luh Watiniasih, Ida Bagus Made Suaskara

164-170



STRUKTUR KOMUNITAS EPIFAUNA DI AREAL PASCA BUDIDAYA RUMPUT LAUT PERAIRAN KUTUH KECAMATAN KUTA SELATAN KABUPATEN BADUNG BALI

Ida Bagus Lampita Prabawa, I Wayan Arthana, Endang Wulandari Suryaningtyas

171-177



HISTOLOGI TESTIS TIKUS (*Rattus norvegicus*) JANTAN YANG DIBERI TEPUNG DAUN LAMTORO (*Leucaena leucocephala Lamk. de Wit*) HASIL PERENDAMAN

A.A. Istri Mas Padmiswari, Ngurah Intan Wiratmini, I Wayan Kasa

178-183



THE EFFECT OF OFFERED FERMENTED RICE HULL IN RATION SUPPLEMENTED WITH PURPLE SWEET POTATO (*Ipomoea batatas L.*) LEAF ON LIPID PROFILE OF DUCK MEAT

T.G. Oka Susila, T.G. Belawa Yadnya, Ni Gusti Ketut Roni

184-188



JENIS-JENIS PARASIT PADA SAPI PERAH DI KOTA PADANG PANJANG SUMATERA BARAT

Resti Puttama Irsya, . Mairawita, Henny Herwina

189-195



ANALISIS VEGETASI HABITAT *Rafflesia gadutensis* Meijer. DI TAMAN HUTAN RAYA Dr. M. HATTA, KOTA PADANG

Yuliza Rahma, Suci Putri Arma, . Syamsuardi

196-201



PENGARUH PUPUK CAIR URINE SAPI TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI TANAMAN JAGUNG MANIS (*Zea mays L.*)

Darwin Habinsaran Pangaribuan, . Sarno, Muhammad Chandra Kurniawan

202-209



RAGAM ALEL DNA MITOKONDRIA MASYARAKAT SOROH PANDE DI BALI DENGAN METODE PCR-RFLP

Ni Putu Senshi Septiasari, I Ketut Junitha, Ni Nyoman Wirasiti

210-217

**OPTIMALISASI MEDIA ORGANIK UNTUK PERBANYAKAN ANGGREK HITAM (*Coelogyne pandurata Lindl.*) SECARA IN VITRO**

Ni Kadek Dwipayani Lestari, Ni Wayan Deswiniyanti

218-223

**ANALISIS BAKTERIOLOGI SAMPLE MINUMAN YANG DIAMBIL DARI AREA SEKITAR KAMPUS II SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN BALI**

Nadya Treesna Wulansari, Juli Marjati, Luh Ami Yuliantika, Ida Ayu Suptika Strisanti

224-230

**PENINGKATAN KUALITAS WARNA IKAN CUPANG (*Betta splendens*) Regan, 1910 MELALUI PAKAN YANG DIPERKAYA DENGAN TEPUNG UDANG REBON SEBAGAI SUMBER KAROTENOID**

Bunga Melati, . Efrizal, Resti Rahayu

231-236

**POTENSI *Bacillus sp. B3* SEBAGAI AGEN BIOKONTROL PENYAKIT LAYU BAKTERI YANG DISEBABKAN OLEH *Ralstonia sp.* PADA TANAMAN CABAI (*Capsicum annuum L.*)**

Diah Kharismawati Djereng, Retno Kawuri, Yan Ramona

237-246

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ALAMI PENCERNAAN IKAN PATIN SIAM (*Pangasius hypophthalmus*) SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK**

Awari Susanti, . Periadnadi, . Nurmiati

247-255

**PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG TAUGE DALAM FORMULASI PAKAN BUATAN TERHADAP RESPON KEMATANGAN TELUR TAHAP AKHIR IKAN LELE SANGKURIANG (*Clarias gariepinus var. Sangkuriang*)**

Della Faradila, . Efrizal, Resti Rahayu

256-262

**ISOLATION, SCREENING, AND CHARACTERIZATION OF PROBIOTICS (LACTIC ACID BACTERIA) ANTAGONISTIC AGAINST *Candida albicans***

Ida Ayu Ketut Ariningsih, Yan Ramona, Nyoman Semadi Antara

263-270

**PANJANG BATANG DAN KONSENTRASI ZAT PENGATUR TUMBUH ZEATIN BERPENGARUH TERHADAP PERTUMBUHAN VEGETATIF ANGGREK *Dendrobium sonia***

Ni Ketut Mas Suratniasih, Ida Ayu Astarini, I Gusti Ayu Sugi Wahyuni

271-278

[VIEW ALL ISSUES >](#)**INDEXED IN
DOAJ****Google
scholar****IPI**

J U R N A L M E T A M O R F O S A
Journal of Biological Sciences
ISSN: 2302-5697
[**http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa**](http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa)

**RAGAM ALEL DNA MITOKONDRIA MASYARAKAT *SOROH PANDE*
DI BALI DENGAN METODE PCR-RFLP**

**ALLEL VARIATIONS OF MITOCHONDRIAL DNA (mtDNA)
OF PANDE CLAN IN BALI WITH PCR-RFLP METHOD**

Ni Putu Senshi Septiasari*, I Ketut Junitha, Ni Nyoman Wirasiti

Program Studi Magister Ilmu Biologi, Program Pascasarjana Universitas Udayana

**Email: senshiseptia@gmail.com*

INTISARI

Masyarakat Bali mengelompokkan diri berdasarkan *soroh* atau garis keturunan tetapi bukti genetik pengelompokan tersebut belum diketahui. Salah satu *soroh*/ klan yang memiliki persebaran yang luas di seluruh Bali adalah *soroh*/ klan Pande. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ragam alel DNA mitokondria masyarakat *soroh* Pande di Bali dengan metode *Polymerase Chain Reaction-Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) yang berguna untuk kepentingan forensik. Sampel sel epitel mukosa mulut diambil dengan cara *purposive sampling* yang terdiri dari 35 sampel warga Pande. Tahapan penelitian meliputi ekstraksi DNA dengan metode fenol-kloroform yang telah dimodifikasi, amplifikasi DNA pada daerah D-loop DNA mitokondria (mtDNA), digesti produk PCR dengan lima macam enzim restriksi dan elektroforesis dengan menggunakan gel agarose 1 % dan PAGE 10%. Penelitian ini mendapatkan sembilan ragam alel. Digesti dengan enzim *Hae III*, *Hinf I*, *Mbo I* dan *Dde I* mendapatkan masing-masing dua tipe pemotongan sedangkan enzim *Hind III* tidak memiliki situs pengenalan pada daerah D-loop DNA mitokondria. Enzim Hind III tidak dapat digunakan untuk membedakan profil DNA antar individu karena bersifat monomorfik.

Kata kunci : Soroh Pande, DNA Mitokondria, PCR-RFLP, Ragam Alel

ABSTRACT

Bali is unique, because the community members are grouped by clan or lineage and they called “*soroh*” but the genetic evidence not declare yet. Pande clan is a clan that has a wide distribution in Bali. This research was conducted to determine the allele variations of mitochondrial DNA (mtDNA) from Pande Clan in Bali used *Polymerase Chain Reaction-Fragment Length Polymorphism* method (PCR-RFLP) for forensic database. Samples were taken by purposive sampling consisting of 35 people of Pande clan. DNA from mucosal swab was extracted using phenol-chloroform modified method, DNA amplification of D-loop region of mtDNA, PCR product digestion with five restriction enzymes and the electrophoresis was runed on 1 % of agarose gel and PAGE 10%. The amplification resulted in nine variations of allele. Two types of restriction fragment patterns was found each in digestion with enzyme *Hae III*, *Hinf I*, *Mbo I* dan *Dde I*. For a while the area mtDNA D-Loop not recognize in enzyme *Hind III*. The *Hind III* enzyme is monomorphic, so unuseful to distinguish individual DNA profile.

Keywords : Pande Clan, Mitochondrial DNA, PCR-RFLP, Allele variations

PENDAHULUAN

Adat lama dari sistem kekerabatan di Bali dipengaruhi oleh sistem klan dan sistem kasta. Klan merupakan kelompok-kelompok keturunan, di Bali lebih dikenal dengan nama *soroh*. Setiap *soroh* Meyakini warganya berasal dari satu leluhur atau kawitan (Bagus, 1999; Junitha, 2007). Masyarakat Bali mengikuti konsep kekerabatan *patrilineal* yaitu keturunannya akan mengikuti *soroh* ayahnya, maka setiap wanita yang menikah akan tinggal di tempat keluarga suami (*patrilokal*) dan keturunannya mengikuti klan/ *soroh* suami (Bagus, 1999). Salah satu *soroh* yang mudah dijumpai serta memiliki penyebaran hampir seluruh wilayah di Bali yaitu *soroh* Pande. Pada zaman dahulu *soroh* Pande merupakan golongan keluarga pengrajin (*mamande*) yang memiliki keahlian mengolah logam berupa perunggu dan besi yang dapat dijadikan untuk alat-alat keagamaan, keris, cangkul, pisau, tombak dan lainnya. Keahlian ini dijadikan sebagai mata pencaharian dan ditekuni secara turun-temurun oleh masyarakat keluarga Pande (Darmada dan Sutama, 2001).

Keberadaan warga Pande sangat mudah ditemui karena adanya *perapen* di setiap rumah warga Pande. *Perapen* merupakan tempat perapian yang digunakan untuk membuat alat-alat dari besi dan logam oleh warga Pande. Walaupun masa sekarang warga Pande tidak hanya menggeluti keahlian membuat benda-benda dari logam, tapi sebagian besar rumah warga Pande tetap memiliki *perapen* untuk dijadikan tempat pemujaan. Warga Pande cenderung tinggal secara berkelompok dalam suatu tempat yang ditunjukkan dengan adanya banjar Pande di desa-desa adat di Bali. Pola pengelompokan demikian diduga menimbulkan pola genetik yang khas pada warga Pande. Penelitian mengenai variasi genetik pada *soroh-soroh* di Bali dapat mengetahui pola-pola genetik yang khas pada *soroh* tertentu. Ragam pola alel dapat dijadikan sebagai *database* awal tentang variasi genetik pada masyarakat Bali yang dapat dimanfaatkan untuk kepentingan forensik.

Variasi genetik ditentukan dengan adanya lokus polimorfis yang telah dikenal sebagai

sumber atau alat untuk mengidentifikasi gen manusia. Penanda yang digunakan untuk studi populasi manusia meliputi analisa DNA autosomal, DNA kromosom Y dan DNA mitokondria (mtDNA). DNA autosomal dapat melihat kedua sisi penurun pembawa sifat yaitu dari ayah dan ibu, sedangkan DNA kromosom Y dan mtDNA hanya mewarisi salah satu sisi dari tertua. DNA kromosom Y hanya dimiliki oleh anak laki-laki yang diturunkan melalui sifat ayah, namun mtDNA hanya diturunkan oleh sisi ibu (Mastura, 2005). Pada kasus forensik penggunaan penanda DNA disesuaikan bukti yang didapatkan pada TKP (Tempat Kejadian Perkara) dan pembanding yang tersedia. Jika pada TKP ditemukan bukti berupa jaringan tubuh seperti darah, epitel, sperma dan sel akar rambut, maka penanda DNA autosomal dan DNA kromosom Y dapat digunakan. Apabila ditemukan bukti rambut dan tulang maka yang didapatkan hanyalah DNA mitokondria karena tanpa adanya nukleus penanda yang bisa digunakan adalah DNA mitokondria (Lutfig dan Richey, 2001; Isenberg dan Moore, 1999). Analisis mtDNA memiliki keuntungan karena mtDNA terdapat dalam jumlah yang banyak dalam sel manusia, memiliki laju mutasi yang tinggi, serta hanya diturunkan secara maternal tanpa ada rekombinasi dari tertua laki-laki (Doosti dan Payam, 2011). Analisis mtDNA juga dapat dilakukan untuk menentukan identitas seseorang dalam keperluan analisis forensik terutama untuk sampel pembanding yang kedua orang tuanya sudah tidak ada (Mastura, 2005).

Daerah *non coding displacement loop* (D-loop) mtDNA digunakan sebagai daerah target amplifikasi karena memiliki laju polimorfisme tertinggi dan metode RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) sebagai salah satu metode untuk mengetahui polimorfisme dalam mengkaji sejarah evolusi populasi manusia (garis keturunan/ silsilah) dan untuk mengetahui adanya mutasi (Siti *et al.*, 2013). Metode RFLP adalah metode analisis menggunakan enzim restriksi yang memotong urutan nukleotida khas pada lokasi tertentu yang berbeda sehingga dihasilkan fragmen yang panjangnya berbeda-beda (Theodore, 2000).

Penelitian analisis mtDNA pada daerah D-loop dengan menggunakan metode RFLP menemukan adanya variasi genetik pada suku bangsa di dunia seperti Caucasian, Asia Tenggara, India Selatan, Afrika, Eropa, Amerika dan Asia (Ballinger *et al.*, 1992; Torroni *et al.*, 1996; Watkins *et al.*, 1999; Xiao *et al.*, 2006 dan Doosti dan Payam, 2011). Penelitian serupa telah dilakukan oleh Candramila (2002) pada populasi masyarakat Betawi dan berhasil mendapatkan 5 haplotipe dari 8 macam enzim restriksi yaitu enzim *Hae* III, *Hinf* I, *Dde* I, *Hae* II, *Hind* III, *Eco* RI, *Mbo* I, *Bam* HI. Namun, informasi variasi alel pada populasi masyarakat Bali belum diketahui, sehingga dilakukan penelitian untuk mengetahui variasi alel DNA mitokondria masyarakat *soroh* Pande di Bali dengan metode PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism*) untuk kepentingan forensik.

BAHAN DAN METODE

Sampel diambil di seluruh kabupaten/kota di Bali dengan cara *purposive sampling*. Calon probandus diberikan penjelasan mengenai tujuan dan manfaat penelitian. Jika calon probandus bersedia dijadikan sampel, maka probandus diwawancara dan diminta untuk mengisi biodata serta menandatangani *informed consent*. Materi penelitian berupa sel epitel mukosa mulut dari 35 orang masyarakat laki-laki *soroh* Pande di seluruh kabupaten/kota di Bali yang tidak memiliki hubungan kekerabatan. Penelitian ini dilakukan selama bulan November 2015 sampai Juni 2016. Analisis dilakukan di Laboratorium Biomedik Terpadu, Divisi Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar. Tahapan penelitian meliputi ekstraksi DNA dengan metode fenolkloroform yang telah dimodifikasi, DNA hasil ekstraksi diamplifikasi dengan menggunakan primer daerah D-loop mtDNA, produk PCR hasil amplifikasi dipotong dengan menggunakan lima macam enzim restriksi yaitu enzim *BsuR* I/*Hae* III, *Hinf* I, *Mbo* I, *Dde* I dan *Hind* III dan visualisasi hasil pemotongan

dielektroforesis dengan menggunakan gel agarose 1 % dan *Polyacrylamid Gel Electrophoresis* (PAGE) 10%.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel telah melalui izin dari Pemerintah Provinsi Bali No. 070/1283/IV/BPMP dan Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah No. 580/UN.14.2/Litbang/2016. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *non invasive sampling* yaitu tidak melukai tubuh probandus. Calon probandus diberikan penjelasan mengenai tujuan penelitian dan manfaat penelitian oleh peneliti, jika calon probandus bersedia menjadi sampel penelitian maka calon probandus diwawancara. Sampel sel epitel mukosa mulut diambil dengan menggunakan *cotton bud* steril serta dimasukkan ke dalam tabung yang diisi *lysis buffer* (Junitha dan Sudirga, 2007).

Ekstraksi DNA, Amplifikasi DNA, Digesti Produk PCR dan Elektroforesis

DNA diekstraksi dengan metode fenol kloroform yang dimodifikasi (Junitha dan Sudirga, 2007). Sampel DNA hasil ekstraksi diamplifikasi dengan primer daerah D-loop mtDNA L16159F (5'-TACCTGACCACCTG TAGTAC-3') dan H408R (5'-CTGTTAAAAA GTGCATACCGCCA-3') (Candramila, 2002). Komposisi mix PCR untuk total volume 35 µl adalah sebagai berikut : *Green Master Mix PCR* sebanyak 17,5 µl, H₂O sebanyak 11,9 µl, primer F dan R (10µM) serta *template DNA* sebanyak 2,8 µl. Proses PCR dilakukan dengan program sebagai berikut: Predenaturasi dengan suhu 94°C selama 5 menit, kemudian dilakukan pengulangan program sebanyak 35x dengan suhu 94°C untuk denaturasi selama 1 menit, penempelan primer (*annealing*) dengan suhu 52°C selama 1 menit dan 1 menit untuk pemanjangan (*extention*) dengan suhu 72°C. Pemanjangan akhir dilakukan dengan suhu 72°C selama 10 menit. Hasil PCR dielektroforesis dengan menggunakan gel agarose 1 %. Produk yang dihasilkan pada proses PCR memiliki

panjang basa yang seragam yaitu sebesar 860 bp (Candramila, 2002).

Enzim restriksi yang digunakan yaitu enzim *Hae* III / *Bsu* RI, *Hind* III, *Hinf* I, *Mbo* I, dan *Hpy* P31 (*Dde* I) (Candramila, 2002). Produk PCR dipotong dengan lima macam enzim restriksi dengan komposisi: 5 µl produk PCR (20 ng/uL), H₂O, 10x Buffer R/Tango (*Thermo Scientific*) tergantung enzim yang digunakan dan 0,5 µl enzim restriksi (*Thermo Scientific*), dengan total volume sebanyak 15 µl. Komposisi tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam dan enzim diinaktivasi pada suhu 65°C atau 80°C sesuai dengan masing-masing enzim selama 20 menit. Pola pemotongan enzim restriksi di elektroforesis dengan menggunakan *Polyacrilamide Gel Electrophoresis* (PAGE) 10% selama 80 menit dengan tegangan 100V.

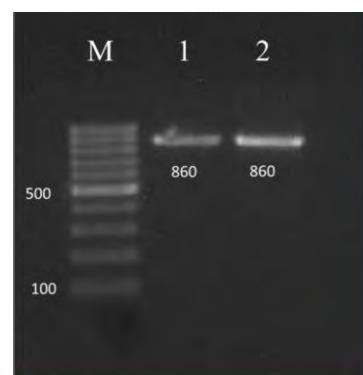
Analisis Data

Produk PCR yang dipotong sesuai situs pemotongan akan menghasilkan perbedaan ukuran fragmen DNA yang disebut alel. Frekuensi alel dihitung berdasarkan rumus Nei (1987) :

$$h = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$$

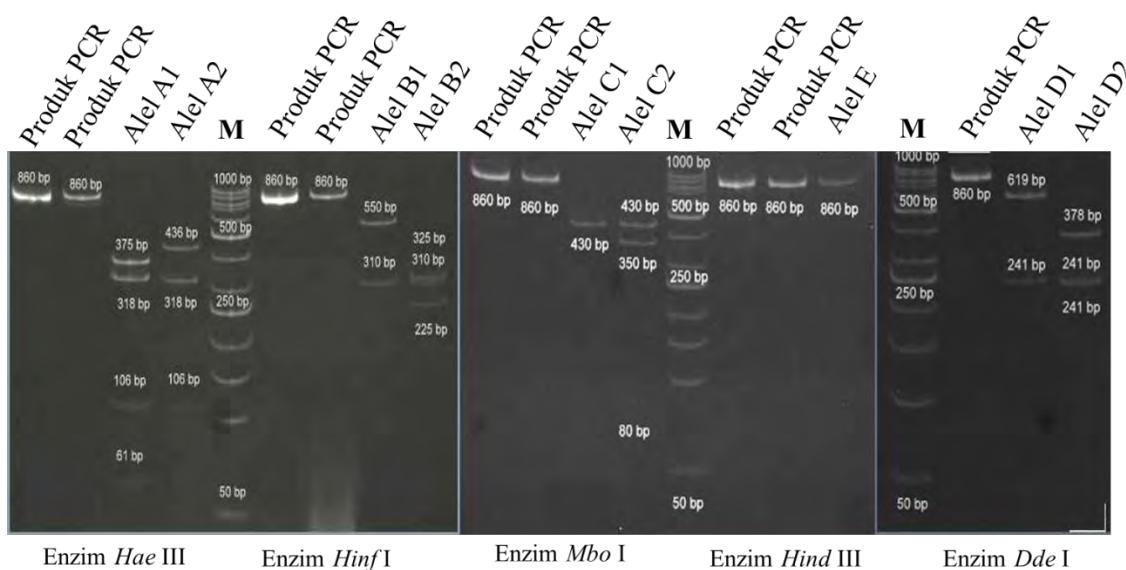
HASIL

Produk PCR dielektroforesis dengan menggunakan gel agarosa 1 %. Produk PCR semua sampel memiliki ukuran panjang 860 bp. Berikut adalah contoh gambar elektroforesis pada gel agarosa 1% (Gambar 1):



Gambar 1. Elektroforesis Produk PCR pada Gel agarose 1%. Keterangan. M : 100 bp DNA Ladder; 1-2: Produk PCR kode sampel PdS1 dan PdS2; Angka pada gambar : panjang fragmen (bp).

Hasil pemotongan produk PCR dielektroforesis menggunakan gel PAGE 10%. Berikut hasil elektroforesis produk PCR setelah dipotong dengan lima macam enzim restriksi (Gambar 2):



Gambar 2. Hasil Pemotongan Produk PCR pada gel PAGE 10%. Keterangan. M: 50 bp Ladder ; Angka pada gambar: panjang fragmen (bp).

Tipe pemotongan yang dihasilkan oleh enzim restriksi pada penelitian ini dibandingkan dengan urutan DNA mitokondria rCRS (*revised Cambridge Reference Sequence*) yang diperoleh

dari NCBI *Reference Sequence* dengan nomor akses: NC_012920.1 (Tabel 1) dan frekuensi alel dihitung dengan menggunakan rumus Nei (1989) sebagai berikut (Tabel 2):

Tabel 1. Ukuran fragmen Hasil Pemotongan dengan Enzim Restriksi dibandingkan dengan Analisis Tipe Pemotongan pada rCRS

Enzim Restriksi	Situs Pengenalan	Tipe Pemotongan (Alel)	Alel (rCRS)	Jml Sampel (N= 35)	Hasil Pemotongan (bp)
<i>Bsu RI</i>	GG [↓] CC	A1	-	28	375 318 106 61
		A2	✓	7	436 318 106
<i>Hinf I</i>	G [↓] ANTC	B1	✓	32	550 310
		B2	-	3	325 310 225
<i>Mbo I</i>	↑GATC	C1	✓	34	430 430
		C2	-	1	430 350 80
<i>Dde I</i>	C [↓] TNAG	D1	✓	34	619 241
		D2	-	1	378 241 241
<i>Hind III</i>	A [↓] AGCTT	E	✓	35	860

Keterangan:

- ¹⁾ Tanda (✓) menunjukkan analisis tipe pemotongan berdasarkan pada urutan DNA rCRS. NCBI *Reference Sequence*: NC_012920.1.

Tabel 2. Frekuensi Alel Masyarakat Soroh Pande di Bali

Enzim Restriksi	Tipe Pemotongan (Alel)	Jml Sampel (n=35)	Frekuensi Alel
<i>Bsu RI /Hae III</i>	A1	28	0.800
	A2	7	0.200
<i>Hinf I</i>	B1	32	0.914
	B2	3	0.086
<i>Mbo I</i>	C1	34	0.971
	C2	1	0.029
<i>Dde I</i>	D1	34	0.971
	D2	1	0.029
<i>Hind III</i>	E	35	1.000

PEMBAHASAN

Jumlah sampel yang dianalisis berasal dari 35 orang. Amplifikasi DNA mitokondria (mtDNA) menghasilkan produk PCR yang seragam untuk semua sampel sebesar 860 bp (Gambar 1). Pada penelitian ini ditemukan empat dari lima enzim restriksi yang digunakan memiliki situs pemotongan pada daerah D-loop DNA mitokondria yaitu enzim *BsuRI/HaeIII*, *HinfI*, *MboI* dan *DdeI*, sedangkan enzim *HindIII* tidak memiliki situs pemotongan. Situs

pemotongan dibuktikan dengan adanya potongan fragmen DNA yang memiliki ukuran berbeda dengan fragmen awal sebelum dipotong yang memiliki ukuran sepanjang 860 bp, sedangkan enzim yang tidak memiliki situs pemotongan ukuran fragmen setelah dipotong akan memiliki ukuran yang sama dengan produk PCR yaitu 860 bp. Tidak terpotongnya fragmen sepanjang 860 bp berarti tidak terdapat situs pemotongan yang dikenali oleh enzim *Hind III*.

Variasi Alel

Tipe pemotongan menunjukkan jumlah alel pada masing-masing enzim. Enzim *BsuRI/Hae III*, *Hinf I*, *Mbo I* dan *Dde I* memiliki dua tipe pemotongan, sehingga memiliki dua macam alel, sedangkan enzim *Hind III* yang tidak terdapat situs pemotongan sehingga hanya memiliki satu macam alel. Alel A2, alel B1, alel C1, alel D1 dan alel E merupakan alel yang sesuai dengan urutan *rCRS* (Tabel 1). Sekuen *rCRS* memiliki penyebaran yang luas dan sering dijadikan referensi sekuen mtDNA (*wildtype*) masyarakat di seluruh dunia (Bandelt, *et al.*, 2013).

Enzim *Hae III* memiliki dua variasi alel yaitu alel A1 dan alel A2. Alel A1 terbentuk akibat mutasi yang menyebabkan adanya situs pemotongan baru pada fragmen 436 bp yang terpotong menjadi 375 bp dan 61 bp (Gambar 2). Hal ini didukung oleh penelitian Bandelt *dkk.*, (2013) yang melaporkan adanya mutasi substitusi pada urutan basa 16519 dari basa T ke C yang mengakibatkan terbentuknya situs pemotongan enzim *BsuRI/HaeIII*. Enzim *Hinf I* memiliki dua variasi alel yaitu alel B1 dan alel B2. Mutasi pada situs pemotongan enzim *Hinf I* menghasilkan alel B2 yang awalnya memiliki fragmen 550 bp terpotong menjadi 325 bp dan 225 bp (Gambar 2). Mutasi alel C1 pada salah satu fragmen 430 bp menjadi alel C2 dengan fragmen 350 bp dan 80 bp pada enzim *MboI*.

Pada penelitian ini ditemukan alel D1 dan D2 pada enzim *Dde I*. Mutasi pada fragmen alel D1 dengan ukuran 619 bp terpotong menjadi ukuran 378 bp dan 241 bp pada alel D2. Sedangkan alel E pada enzim *Hind III* ukurannya tidak berbeda dengan ukuran produk PCR (Gambar 2). Hal ini terjadi akibat tidak adanya situs pengenalan enzim *Hind III* pada daerah D-loop DNA mitokondria. Enzim *Hae III*, *Hinf I*, *Mbo I* dan *Dde I* yang memiliki alel polimorfik dapat digunakan dalam analisa DNA untuk kepentingan forensik. Sedangkan enzim *Hind III* tidak dapat membedakan profil DNA antar individu karena bersifat monomorfik.

Frekuensi Alel

Alel A2, alel B1, alel C1, alel D1 dan alel E merupakan alel yang sesuai dengan urutan

basa *rCRS*. Alel tersebut memiliki frekuensi tertinggi pada populasi Pande di Bali dan memiliki persebaran yang luas di seluruh dunia, sehingga dikatakan sebagai sekuen universal atau sering dikatakan sebagai *wild type*. Frekuensi sekuen *wild type* cenderung memiliki jumlah populasi yang lebih besar dibandingkan *mutant type* (Bandelt *et al.*, 2013). Hal serupa juga ditemukan pada penelitian ini yang menemukan bahwa alel yang sesuai dengan *rCRS* (*wild type*) cenderung memiliki frekuensi yang lebih tinggi. Namun terdapat pengecualian pada alel A1 dan A2 pada penelitian ini. Alel A2 merupakan alel yang sesuai dengan urutan *rCRS*, tetapi alel A2 memiliki frekuensi lebih rendah dibandingkan dengan alel A1 pada masyarakat Pande. Hal ini menunjukkan bahwa alel A1 memiliki persebaran yang lebih luas dibandingkan alel A2 pada orang Indonesia karena pembentuk awal (*founding father*) dari populasi Indonesia lebih banyak memiliki alel A1. Alel A1 pada enzim *BsuRI* juga ditemukan pada populasi Betawi dengan frekuensi alel A1 yang lebih besar daripada alel A2 (Candramila, 2002). Selain di Indonesia persebaran Alel A1 dan alel A2 terdapat pada populasi masyarakat Eropa (Hofmanova, *et al.*, 2015). Alel D1 pada penelitian ini juga ditemukan pada populasi masyarakat Betawi (Candramila, 2002) dan masyarakat Eropa (Hofmanova, *et al.*, 2015).

Alel khas yang diduga hanya dimiliki oleh masyarakat Pande atau masyarakat Bali yaitu alel B2, alel C2 dan alel D2. Alel tersebut tidak ditemukan pada masyarakat Betawi maupun masyarakat Eropa. Adanya alel ini sementara dapat dijadikan referensi profil DNA masyarakat Pande atau masyarakat Bali. Sedangkan alel E merupakan alel yang dimiliki oleh seluruh sampel dalam penelitian ini. Hal serupa juga didapat dari penelitian Candramila (2002) pada masyarakat Betawi. Alel E merupakan alel monomorfik yang dimiliki oleh semua masyarakat di dunia karena belum ada laporan mengenai situs pemotongan enzim *HindIII* pada daerah D-Loop mtDNA di masyarakat di dunia. Penelitian Hofmanova *et al.* (2015) dan Bandelt *et al.* (2013) pada masyarakat Eropa juga menyebutkan tidak

adanya situs pengenalan enzim *Hind* III pada sekuen daerah D-loop DNA mitokondria. Oleh karena itu enzim *Hind* III disarankan untuk tidak digunakan dalam analisa DNA untuk kepentingan forensik.

KESIMPULAN

Penelitian ini dapat mengidentifikasi sebanyak sembilan ragam alel. Enzim *Hae* III, *Hinf* I, *Mbo* I dan *Dde* I memiliki masing-masing dua ragam alel sedangkan enzim *Hind* III memiliki satu macam alel. Alel A1, alel A2, alel B1, alel C1, alel D1 dan alel E merupakan alel universal yang dimiliki oleh sebagian besar masyarakat di seluruh dunia sedangkan alel B2, alel C2 dan alel D2 diduga hanya dimiliki oleh masyarakat Pande atau masyarakat Bali.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada pihak penyelenggara beasiswa Tesis/Disertasi Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) PRJ-679/LPDP.3/2016 yang telah mempercayakan penulis sebagai salah satu penerima bantuan dana penelitian. Ucapan terimakasih penulis ucapkan kepada Prof. Dr. Drs. I Ketut Junitha, MS. dan Dra. Ni Nyoman Wirasiti, M. Repro, selaku dosen pembimbing. Serta terimakasih banyak kepada masyarakat *soroh* Pande di seluruh wilayah Bali yang bersedia memberikan data dan sampelnya kepada penulis.

DAFTAR PUSTAKA

- Bagus, G. N. 1999. *Kebudayaan Bali*; In Koentjaraningrat. *Manusia dan Kebudayaan di Indonesia*. Cet. 18. Jakarta; Djambatan.
- Ballinger, S.W., T. G. Schurr., A. Torroni., Y.Y. Gan., J. A. Hodge., K. Hassan., K.H. Chen., D.C. Wallace. 1992. *Southeast Asian Mitocondrial DNA Analysis Reveals Genetic Continuity of Ancient Mongoloid Migrations*. Genetics 130:139-152.
- Bandelt, Hans-J., K.B. Anita., B. R. Martin. 2013. *The case for the continuing use of the revised Cambridge Reference Sequence (rCRS) and the standardization of notation in human mitochondrial DNA studies*. *Jurnal of Human Genetics*. 1-12.
- Candramila, W. 2002. *Variasi Genetik Populasi Betawi Berdasarkan Polimorfisme DNA Mitokondrion*. Magister Sains, Program Studi Biologi, Institut Pertanian Bogor. (Tesis) Tidak Dipublikasikan.
- Darmada, N. W., M.G. Sutama. 2001. *Asal-usul Warga Pande di Bali*. Bali Media Adhikarsa. Bali.
- Doosti, A., Payam, G. Dehkordi. 2011. *Genetic Polymorphisms of Mitochondrial Genome D-loop Region in Bakhtiarian Population by PCR-RFLP*. International Journal of Biology. Vol. 3. p.41-46.
- Hofmanova,Z., Kreutzer S., Hellenthal G., Sell C., Diekmann Y., Diez-del-Molino D., L. van Dorp, Lopez S., Kousathanas A., Link V., Cassidy L.M., Martiniano R., Strobel M., Scheu A., Kotsakis K., Halstead P., Triantaphyllou S., Kyparissi-Apostolika N., Urem-Kotsou D.C., Ziota C., Adaktylou F., Bobo D.M., W. Leuenberger C., Cilingiroglu C., Horejs B., Gerritsen F., Shennan S., Bradley D.G., Curran M., Veeramah K.R., Wegmann D., Thomas, M.G., Papageorgopoulou C. and Burger, J. 2015. *Early farmers from across Europe directly descended from Neolithic Aegeans*. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/1015812641?report=fasta> NCBI GenBank: KU171100.1.
- Isenberg, A.R., Moore, J.M. 1999. *Mitochondrial DNA Analysis at the FBI Laboratory*. Forensic Science Communications, 1(2):1-10. Available from : <https://www.fbi.gov/aboutus/lab/forensicsciencetechnologycommunications/fsc/july1999/dnali.st.htm/>.
- Junitha, I.K. 2007. *Penggunaan DNA Mikrosatelite untuk Penelusuran Kawitan*

- pada Soroh-Soroh Masyarakat Bali. Jurnal Biologi. 11 (2) : 50-54.
- Junitha I K. 2012. *Peranan Analisis DNA dalam Penyelesaian Masalah Sosial di Masyarakat Orasi Ilmiah. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap di Bidang Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana.*
- Junitha, I.K., S.K. Sudirga. 2007. *Variasi DNA Mikrosatelite Kromosom Y pada Masyarakat Bali Mula Terunyan.* Hayati Journal of Biosciences. 14 (2) : 59-64.
- Lutfig, Micah A., Richey Stephen. 2001. *DNA and Forensic Science.* New England Law Review. Vol 35:3. p.609-613.
- Mastura, 2005. *Haplogrup RFLP mtDNA yang Ditentukan Atas Dasar Urutan Nukleotida Lengkap* (Tugas Akhir). Available from: http://makalah_seminar_ta.pdf.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics.* New York: Columbia University Press.
- Siti, Heli H.M., G. Gun G., Desy N., Achmad S. Noer. 2013. *Variasi Urutan Nukleotida Daerah D-Loop DNA Mitokondria Manusia pada Dua Populasi Asli Indonesia Tenggara.* P. 440-446. Available from : <http://www.440-488.pdf>.
- Theodore, G. Schurr. 2000. *Mitochondrial DNA and the Peopling of the New World Genetic variations among Native Americans provide further clues to who first populated the Americas and when they arrived.* American Scientist Online (The Magazine of Sigma XI, The Scientific Research Society).
- Torroni, A., Huoponen K., Francalacci P., Petrozzi M., Morelli L., Scorzari R., Obinu D., Savontaus M.L., Wallace D.C. 1996. *Classification of European mtDNAs from an analysis of three European populations.* Genetics 144: 1835-1850.
- Watkins, W.S., Bamshad M., Dixon M.E., Rao B. B., Naidu J.M., Reddy P.G., Prasad B.V.R., Das P.K., Reddy P.C., Gay P.B., Bhanu A., Kusuma Y.S., Lum J.K., Fischer P., Jorde L.B. 1999. *Multiple Origin of the mtDNA 9-bp Deletion in Populations of South India.* Wiley-Liss, Inc. 109:147-158.
- Xiao, J., X. Xiujuan, L. Xiaohui, W. Dongzhi, Y. Shengli. 2006. *A modified simple RFLP-PCR method for single nucleotide polymorphism (SNP) typing.* Genetic and Molecular Biology. 29.3. 562-565.