

Tety Hartatik

DASAR ANALISIS GENETIK

Pada **Kambing** dan **Domba**



GADJAH MADA UNIVERSITY PRESS

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
BAB I DASAR GENETIKADAN PERKEMBANGANNYA.....	1
A. Sel Eukariot.....	1
B. Sitoplasma.....	1
C. Inti Sel.....	3
D. Kromosom.....	5
E. Pembelahan Sel.....	8
F. Perkembangbiakan	12
G. Perkembangan Ilmu Genetika.....	12
H. Manfaat Bioteknologi dalam Analisis Genetik pada Ternak	18
Tugas/Latihan.....	20
BAB II STUDI DNA MITOKONDRIA D-LOOP PADA KAMBING DAN DOMBA	21
A. Identifikasi Lokus DNA Mitokondria D-Loop pada Kambing dan Domba	21
B. Penelusuran Informasi mtDNA D- Loop dari Hasil Studi Referensi.....	22
C. Pendataan Daftar <i>GenBank</i> mtDNA D-Loop yang Diperoleh dari Referensi Jurnal	23
D. Pendataan Daftar Primer mtDNA D-Loop yang Diperoleh dari Referensi Jurnal	23
E. Pencarian Informasi tentang mtDNA D-Loop dari <i>Database</i> NCBI.....	24

	F. <i>Restriction Mapping</i>	28
	G. Analisis Enzim Retriksi Menggunakan <i>BioEdit</i>	30
	H. Analisis Enzim Retriksi Menggunakan Program <i>Nebcutter</i>	33
	I. Penyejajaran Sekuens mtDNA D-Loop.....	37
	Tugas/Latihan.....	39
BAB III	STUDI DNA MITOKONDRIA LOKUS <i>CYTOCHROME B</i> PADA KAMBING DAN DOMBA.....	41
	A. Identifikasi Gen Cyt-b Berdasarkan Studi Referensi	41
	B. Analisis Lokus Gen Cyt-b	45
	C. Analisis Enzim Restriksi Menggunakan <i>BioEdit</i>	50
	D. Analisis Enzim Restriksi Menggunakan <i>NEBcutter</i> ...	54
	E. Penyejajaran Sekuens.....	59
	Tugas/Latihan.....	62
BAB IV	STUDI GEN <i>BONE MORPHOGENETIC PROTEINS</i> (BMP) PADA KAMBING DAN DOMBA	63
	A. Pengantar Studi Gen BMP pada Kambing dan Domba	63
	B. Identifikasi Lokus Gen BMP pada Kambing dan Domba.....	64
	C. Peta Enzim Restriksi Gen BMP	65
	D. Analisis Enzim Restriksi Menggunakan <i>BioEdit</i>	65
	E. Analisis Enzim Restriksi Menggunakan <i>NEBcutter</i> ..	70
	F. Analisis <i>Chi-square</i>	73
	G. Penyejajaran Sekuens	76
	Tugas/Latihan.....	85
BAB V	STUDI GEN SRY PADA KAMBING DAN DOMBA	87
	A. Identifikasi Gen SRY Berdasarkan Studi Referensi...	87
	B. Beberapa Data Gen SRY yang Diperoleh dari <i>GenBank</i>	87
	C. Hasil Penelusuran Lokus Gen SRY.....	89
	D. Analisis Sekuens pada Lokus Gen SRY	89
	E. Analisis Enzim Restriksi	98
	F. Penyejajaran Sekuens	105

	Tugas/Latihan.....	110
BAB VI	STUDI <i>GEN GROWTH HORMONE</i> (GH) PADA KAMBING DAN DOMBA	111
	A. Identifikasi Gen GH berdasarkan studi referensi.....	111
	B. Analisis Lokus Gen GH.....	113
	C. Analisis Enzim Restriksi Menggunakan <i>BioEdit</i>	123
	D. Analisis Enzim Restriksi Menggunakan <i>NEBcutter</i> ...	128
	E. Penyejajaran Sekuens	133
	Tugas/Latihan.....	136
BAB VII	STUDI GEN <i>MC1R</i> PADA KAMBING DAN DOMBA ..	137
	A. Identifikasi Gen <i>Melanocortin-1 Reseptor</i> (MC1R) Berdasarkan Studi Referensi	137
	B. Analisis Enzim Restriksi Menggunakan <i>NEBCutter</i> ..	150
	C. Analisis Enzim Restriksi Menggunakan <i>BioEdit</i>	152
	D. Penyejajaran Sekuens.....	155
	E. <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> (SNPs).....	156
	Tugas/Latihan.....	160
BAB VIII	PENUTUP.....	161
	GLOSARIUM.....	163
	DAFTAR PUSTAKA	167
	KONTRIBUTOR.....	171
	INDEKS	173
	TENTANG PENULIS	176

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Jumlah kromosom diploid pada beberapa hewan	7
Tabel 2.1.	Hasil studi referensi berdasarkan jurnal dengan tema mtDNA D-Loop pada kambing dan domba	22
Tabel 2.2.	Daftar <i>GenBank</i> yang diperoleh dari penelusuran referensi jurnal	23
Tabel 2.3.	Hasil penelusuran primer untuk mtDNA D-Loop dari informasi jurnal.....	24
Tabel 3.1.	Daftar <i>GenBank</i> yang diperoleh dari studi referensi	44
Tabel 4.1.	Frekuensi alel dan genotipe gen BMP-15 pada dua bangsa kambing.....	74
Tabel 4.2.	Nilai X^2 dari hasil studi referensi	75
Tabel 4.3.	Data yang diperoleh dari referensi	77
Tabel 5.1.	Daftar <i>GenBank</i> gen SRY	88
Tabel 5.2.	Posisi dan ukuran gen SRY yang diapit oleh primer	89
Tabel 6.1.	Daftar <i>Accession Number GenBank</i> yang diperoleh dari referensi jurnal	112
Tabel 6.2.	Hasil penelusuran target gen GH dan ukuran sekuens ...	113
Tabel 7.1.	Hasil studi referensi gen <i>melanocortin-1 reseptor</i> (MC1R)	137
Tabel 7.2.	Daftar <i>GenBank MC1R</i> yang diperoleh.....	138
Tabel 7.3.	Hasil penelusuran lokus gen MC1R.....	139

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1.	Bagan sebuah sel	2
Gambar 1.2.	Struktur DNA	4
Gambar 1.3.	DNA pada kromosom metafase	5
Gambar 1.4.	Skema pembelahan sel	11
Gambar 1.5.	Proses pembentukan sel kelamin	13
Gambar 2.1	Penelusuran <i>accession number</i> AJ317844 pada situs NCBI.....	24
Gambar 2.2	<i>GenBank accession number</i> AJ317844.....	25
Gambar 2.3	Hasil penelusuran sekuens mtDNA D-Loop dengan <i>accession number</i> AJ317844.1 dengan format FASTA... ..	25
Gambar 2.4	<i>GenBank accession number</i> NC005044	26
Gambar 2.5	Penulisan <i>accession number</i> KF952601.1 pada situs NCBI.....	27
Gambar 2.6	Hasil pencarian mtDNA dengan <i>accession number</i> KF952601.1.....	27
Gambar 2.7	Gambaran sekuens mtDNA D-Loop dengan <i>accession number</i> KF952601.1.....	28
Gambar 2.8	Tampilan menu <i>file</i> BioEdit yang masih kosong.....	30
Gambar 2.9	Cara memilih <i>file</i> yang akan dianalisis.....	30
Gambar 2.10	Cara memilih <i>file sekuens</i> dan <i>restriction map</i>	31
Gambar 2.11	Cara memilih memilih enzim dan data yang diinginkan	31

Gambar 2.12	Pemindahan enzim restriksi yang dipilih.....	32
Gambar 2.13	Lokasi enzim AluI	32
Gambar 2.14	Hasil analisis enzim restriksi menggunakan program <i>BioEdit</i>	33
Gambar 2.15	Tampilan menu <i>NEBcutter</i>	33
Gambar 2.16	Gen target yang telah dimasukkan ke dalam kolom <i>DNA sequence</i>	34
Gambar 2.17	Peta enzim restriksi	34
Gambar 2.18	Daftar enzim restriksi dan sekuens pengenalannya ..	35
Gambar 2.19	Informasi jumlah lokasi pemotongan oleh enzim restriksi AluI	35
Gambar 2.20	Hasil pemotongan enzim <i>AluI</i> menggunakan program <i>Nebcutter</i>	36
Gambar 2.21	Nama enzim dan posisi pemotongannya.....	36
Gambar 2.22	Penyejajaran empat sekuens DNA	38
Gambar 2.23	<i>Run ClustalW</i>	38
Gambar 2.24	Proses penyejajaran sekuens DNA.....	39
Gambar 2.25	Hasil penyejajaran <i>sekuens</i> DNA D-loop pada Kambing	39
Gambar 3.1.	Penulisan <i>accession number</i> AF010406 pada situs NCBI	45
Gambar 3.2.	Hasil pencarian gen Cyt-b dengan <i>accession number</i> AF010406	46
Gambar 3.3.	Pencarian gen target Cyt-b dari AF010406 dan primernya.....	47
Gambar 3.4.	Pencarian gen target Cyt-b dari AB004074.....	48
Gambar 3.5	Pencarian gen target Cyt-b dari AF010406	48
Gambar 3.6	Pencarian gen target Cyt-b dari NC001941	49
Gambar 3.7	Tampilan awal <i>BioEdit</i>	50
Gambar 3.8	Cara memilih memilih enzim dan data yang diinginkan	50
Gambar 3.9	Pemindahan enzim restriksi yang dipilih.....	51

Gambar 3.10	Posisi pemotongan enzim <i>AluI</i>	51
Gambar 3.11	<i>Restriction Map</i> gen <i>Cyt-b</i> dari AB 004074	52
Gambar 3.12	<i>Restriction Map</i> gen <i>Cyt-b</i> dari AF010406	53
Gambar 3.13	<i>Restriction Map</i> gen <i>Cyt-b</i> dari NC001941	53
Gambar 3.14	Penempatan sekuens DNA pada web <i>NEBcutter</i>	54
Gambar 3.15	Letak beberapa macam enzim restriksi	55
Gambar 3.16	Profil enzim restriksi <i>AluI</i>	55
Gambar 3.17	Posisi pemotongan enzim restriksi <i>AluI</i> pada target gen <i>Cyt-b</i> dari AF010406.....	56
Gambar 3.18	Posisi pemotongan enzim restriksi <i>AluI</i> pada target gen <i>Cyt-b</i> dari AB004074.....	57
Gambar 3.19	Posisi pemotongan enzim restriksi <i>AluI</i> pada target gen <i>Cyt-b</i> dari AF010406.....	57
Gambar 3.20	Profil enzim restriksi <i>AluI</i> pada target gen <i>Cyt-b</i> dari NC001941	58
Gambar 3.21	Posisi pemotongan enzim restriksi <i>AluI</i> pada target gen <i>Cyt-b</i> dari NC001941.....	58
Gambar 3.22	Halaman awal <i>ClustalW</i>	59
Gambar 3.23	Tampilan <i>MUSCLE multiple sequence alignment</i>	60
Gambar 3.24	Cara memasukkan data sekuens yang akan dianalisis.....	60
Gambar 3.25	Hasil penyejajaran sekuens secara online.....	61
Gambar 3.26	Langkah memasukkan data sekuens untuk penyejajaran	61
Gambar 3.27	Hasil penyejajaran mtDNA <i>cytochrome b</i>	62
Gambar 3.28	Tampilan SNP dari hasil penyejajaran mtDNA <i>cytochrome b</i>	62
Gambar 4.1.	Tampilan awal aplikasi <i>BioEdit</i>	65
Gambar 4.2.	Tampilan menu <i>File</i>	66
Gambar 4.3.	Tampilan <i>window New Alignment</i>	66
Gambar 4.4.	Tampilan menu <i>File</i>	67

Gambar 4.5.	Tampilan menu <i>Open</i>	67
Gambar 4.6.	<i>Sequence gene</i> setelah di- <i>input</i>	68
Gambar 4.7.	Tampilan submenu <i>Sequence</i>	68
Gambar 4.8.	Tampilan submenu <i>Restriction Site</i>	69
Gambar 4.9.	Tampilan menu memilih jenis enzim	69
Gambar 4.10.	Hasil <i>input sequence</i> yang telah dipotong.....	70
Gambar 4.11.	Tampilan NEBcutter dengan sekuens gen BMP pada AF236079.1	71
Gambar 4.12.	Peta enzim yang memotong sekuens gen BMP pada AF236079.1	71
Gambar 4.13	Pilih enzim yang memotong satu lokasi sekuens gen BMP pada AF236079.1	72
Gambar 4.14	Cek list enzim EcoRV yang memotong sekuens gen BMP pada AF236079.1	72
Gambar 4.15	Profil enzim EcoRV	73
Gambar 4.16	Ilustrasi pemotongan sekuens DNA dengan enzim EcoRV	73
Gambar 4.17	Penulisan <i>accession number</i> AF236079.1 pada situs NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov).....	78
Gambar 4.18	Hasil pencarian salah satu gen (BMP15) dengan <i>accession number</i> AF236079.1	79
Gambar 4.19	Hasil penelusuran gen target BMP15 beserta primernya	80
Gambar 4.20	Tampilan awal MUSCLE.....	80
Gambar 4.21	Proses <i>input</i> data sekuens	81
Gambar 4.22	Hasil penyejajaran sekuens DNA menggunakan MUSCLE	82
Gambar 4.23	Tampilan awal <i>BioEdit</i>	82
Gambar 4.24	<i>BioEdit Sequence Alignment Editor</i>	83
Gambar 4.25	Pemilihan file yang akan disejajarkan.....	83
Gambar 4.26	Sampel yang dipilih untuk disejajarkan	84

Gambar 4.27	Hasil penyejajaran sekuens DNA menggunakan <i>BioEdit</i>	84
Gambar 5.1.	Penulisan <i>accession number</i> D82963 pada situs NCBI..	90
Gambar 5.2.	Hasil pencarian salah satu gen SRY dengan <i>accession number</i> D82963	90
Gambar 5.3.	Hasil Pencarian sekuens gen SRY dengan <i>accession number</i> D82963	91
Gambar 5.4.	Penelusuran gen target SRY (374 bp) beserta primernya	92
Gambar 5.5.	Penelusuran gen target SRY (586 bp) beserta primernya	93
Gambar 5.6.	Penelusuran target gen SRY (278 bp) beserta primernya	94
Gambar 5.7.	Penulisan <i>accession number</i> EU581862 pada situs NCBI.....	95
Gambar 5.8.	Hasil pencarian salah satu gen SRY dengan <i>accession number</i> EU581862.....	96
Gambar 5.9.	Sekuens gen SRY dengan <i>accession number</i> EU581862	96
Gambar 5.10.	Penelusuran gen target SRY (1184 bp) beserta primernya	98
Gambar 5.11.	Tampilan awal pada <i>software BioEdit</i>	99
Gambar 5.12.	Hasil <i>open sequence</i> pada halaman <i>BioEdit</i>	100
Gambar 5.13.	Tahap pencarian enzim restriksi	100
Gambar 5.14.	Pencarian enzim <i>TaqI</i>	101
Gambar 5.15.	Posisi pemotongan enzim <i>TaqI</i> pada sekuens gen SRY	101
Gambar 5.16.	Tabulasi hasil pencarian enzim <i>TaqI</i> pada sekuens.....	102
Gambar 5.17.	Tampilan awal halaman <i>NEBcutter</i>	102
Gambar 5.18.	Tampilan hasil <i>input</i> sekuens gen target pada <i>NEBcutter</i>	103
Gambar 5.19.	Macam-macam enzim yang dapat memotong pada sekuens gen target.....	103

Gambar 5.20.	Tampilan hasil pencarian enzim <i>TaqI</i>	104
Gambar 5.21.	Hasil pencarian titik pemotongan dari enzim <i>TaqI</i>	104
Gambar 5.22.	Ilustrasi pemotongan sekuens DNA	104
Gambar 5.23.	Halaman http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/	105
Gambar 5.24.	Halaman awal MUSCLE	106
Gambar 5.25.	<i>Input</i> sekuens pada MUSCLE.....	106
Gambar 5.26.	Hasil penyejajaran sekuens menggunakan <i>ClustalW</i> ..	107
Gambar 5.27.	Halaman awal <i>BioEdit</i>	107
Gambar 5.28.	Tampilan <i>new alignment</i>	108
Gambar 5.29.	Tampilan <i>sequence</i> pada <i>BioEdit</i>	108
Gambar 5.30.	Hasil penyejajaran sekuens menggunakan <i>BioEdit</i>	109
Gambar 5.31.	Hasil penyejajaran koding sekuens (CDS) gen SRY ...	109
Gambar 6.1.	Penulisan <i>accession number</i> GQ452268 pada situs NCBI.....	114
Gambar 6.2.	Hasil pencarian gen GH dengan <i>accession number</i> GQ452268	114
Gambar 6.3.	Sekuens gen GH dengan <i>accession number</i> GQ452268	115
Gambar 6.4.	Penelusuran gen target GH beserta primernya	116
Gambar 6.5.	Pencarian <i>accession number</i> AY737509 pada situs NCBI.....	116
Gambar 6.6.	Hasil pencarian gen GH dengan <i>accession number</i> AY737509	117
Gambar 6.7.	Sekuens gen GH dengan <i>accession number</i> AY737509 .	117
Gambar 6.8.	Penelusuran target gen GH beserta primernya	118
Gambar 6.9.	Hasil pencarian gen GH dengan <i>accession number</i> DQ450147	119
Gambar 6.10.	Hasil pencarian primer <i>forward</i> gen GH dengan <i>accession number</i> DQ450147	119
Gambar 6.11.	Penelusuran target gen GH beserta primernya	120
Gambar 6.12.	Penulisan <i>accession number</i> EF077162 pada situs NCBI.....	121

Gambar 6.13. Hasil pencarian gen GH dengan <i>accession number</i> EF077162.....	121
Gambar 6.14. Sekuens gen GH dengan <i>accession number</i> EF077162..	122
Gambar 6.15. Gen GH target dari <i>accession number</i> EF077162	122
Gambar 6.16. Tampilan awal <i>BioEdit</i>	123
Gambar 6.17. Langkah memasukkan data sekuens	124
Gambar 6.18. Tampilan data setelah dimasukkan ke dalam <i>BioEdit</i>	124
Gambar 6.19. Tampilan data setelah dimasukkan ke dalam <i>BioEdit</i>	125
Gambar 6.20. <i>Restriction Map</i> dengan enzim <i>HaeIII</i>	125
Gambar 6.21. <i>Restriction Map</i> menggunakan enzim <i>AarI</i>	126
Gambar 6.22. <i>Restriction Map</i> menggunakan enzim <i>AarI</i> (lanjutan) .	127
Gambar 6.23. <i>Restriction Map</i> menggunakan enzim <i>AvaII</i>	127
Gambar 6.24. Penempatan sekuens DNA pada web <i>NEBcutter</i>	128
Gambar 6.25. Letak enzim restriksi.....	129
Gambar 6.26. Daftar nama enzim restriksi	129
Gambar 6.27. Sekuens yang dikenali enzim restriksi <i>HaeIII</i>	130
Gambar 6.28. Lokasi pemotongan enzim restriksi <i>HaeIII</i>	130
Gambar 6.29. Ilustrasi pemotongan sekuens DNA	131
Gambar 6.30. Profil enzim restriksi <i>DdeI</i>	131
Gambar 6.31. Ilustrasi pemotongan enzim restriksi <i>DdeI</i>	131
Gambar 6.32. Profil enzim restriksi <i>AvaII</i>	132
Gambar 6.33 Ilustrasi pemotongan sekuens DNA dengan enzim restiksi <i>AvaII</i> pada target sekuens 210 bp	132
Gambar 6.34. Tampilan awal <i>web MUSCLE</i>	133
Gambar 6.35. Cara memasukkan data sekuens dalam <i>MUSCLE</i> untuk <i>GenBank accession number</i> GQ452268 dan DQ450147	133
Gambar 6.36 Hasil Penyejajaran sekuens menggunakan <i>MUSCLE</i> untuk <i>GenBank accession number</i> GQ452268 dan DQ450147	134
Gambar 6.37. Tampilan awal <i>BioEdit</i>	134

Gambar 6.38.	Tampilan <i>new alignment</i>	135
Gambar 6.39.	Langkah memasukkan data sekuens	135
Gambar 6.40.	Tampilan data setelah dimasukkan ke dalam <i>BioEdit</i> sekuens <i>GenBank number</i> GQ452268 dan DQ450147...	136
Gambar 6.41.	Hasil penyejajaran sekuens DNA dari <i>GenBank</i> <i>accession number</i> GQ452268 dan DQ450147 menggunakan <i>BioEdit</i>	136
Gambar 7.1.	Penulisan <i>accession number</i> Y13965 pada situs NCBI..	140
Gambar 7.2.	Hasil pencarian gen MC1R dengan <i>accession number</i> Y13965.....	140
Gambar 7.3.	Hasil pencarian sekuens gen MC1R dengan <i>accession</i> <i>number</i> Y13965	141
Gambar 7.4.	Penelusuran gen target MC1R beserta primernya	142
Gambar 7.5.	Penulisan <i>accession number</i> Y13965 pada situs NCBI..	142
Gambar 7.6.	Hasil pencarian gen MC1R dengan <i>accession number</i> Y13965.....	143
Gambar 7.7.	Sekuens gen MC1R dengan <i>accession number</i> Y13965..	143
Gambar 7.8.	Penulisan <i>accession number</i> Y13965 pada situs NCBI..	144
Gambar 7.9.	Penelusuran gen target MC1R beserta primernya	145
Gambar 7.10.	Hasil pencarian gen MC1R dengan <i>accession number</i> NM174108.....	145
Gambar 7.11.	Sekuens gen MC1R dengan <i>accession number</i> NM174108.....	146
Gambar 7.12.	Penelusuran gen target MC1R beserta primernya	147
Gambar 7.13.	Penulisan <i>accession number</i> Z31369 pada situs NCBI..	147
Gambar 7.14.	Hasil pencarian gen <i>MSH receptor</i> dengan <i>accession</i> <i>number</i> Z31369	148
Gambar 7.15.	Sekuens gen <i>MSH receptor</i> dengan <i>accession number</i> Z31369.....	148
Gambar 7.16.	Penelusuran gen target <i>MSH receptor</i> (1082 bp) beserta primernya.....	149

Gambar 7.17. <i>Input data awal di NebCutter</i>	150
Gambar 7.18. Letak enzim secara keseluruhan pada gen target	150
Gambar 7.19. Posisi enzim restriksi	151
Gambar 7.20. Profil enzim restriksi <i>MseI</i>	151
Gambar 7.21. Hasil potongan enzim restriksi <i>MseI</i>	152
Gambar 7.22. <i>Input</i> sekuens gen pada aplikasi <i>BioEdit</i>	152
Gambar 7.23. Tampilan sekuens gen yang telah terbuka	153
Gambar 7.24. Pilihan enzim restriksi.....	153
Gambar 7.25. Hasil pencarian enzim restriksi <i>BclI</i>	154
Gambar 7.26 Ilustrasi pemotongan sekuens DNA dengan enzim restriksi <i>BclI</i>	155
Gambar 7.27. Tampilan awal <i>web ClustalW</i>	156
Gambar 7.28. Cara memasukkan data sekuens ke dalam MUSCLE.	157
Gambar 7.29. Hasil penyejajaran sekuens menggunakan <i>ClustalW</i> (MUSCLE)	158
Gambar 7.30. Tampilan awal <i>BioEdit</i>	158
Gambar 7.31. Langkah memasukkan data sekuens yang kedua.....	159
Gambar 7.32. Langkah untuk memilih <i>file</i> data sekuens kedua yang digunakan sebagai pembanding	159
Gambar 7.33. Penyejajaran sekuens gen MC1R	160