

**PENDEKATAN PRAKTIS:
DETEKSI POLIMORFISME DNA
SAPI ACEH**

TETY HARTATIK

GADJAH MADA UNIVERSITY PRESS

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Pengantar.....	1
B. Sel.....	2
C. Kromosom.....	8
D. <i>Deoxyribonucleic Acid</i> (DNA).....	12
E. Gen.....	13
F. Ekspresi Gen.....	14
G. Protein.....	19
H. Perubahan yang Bersifat Sinonim (<i>Synonymous Change</i>)	20
Daftar Pustaka.....	20
Tugas Mahasiswa.....	21
BAB II PENGENALAN ALAT-ALAT LABORATORIUM DAN	
BAHAN ANALISIS DNA.....	22
A. Pengantar.....	22
B. Alat dan Bahan Analisis DNA.....	22
Daftar Pustaka.....	35
Tugas Mahasiswa.....	36
BAB III DETEKSI POLIMORFISME DNA MITOKONDRIA	
D-LOOP PADA SAPI ACEH.....	37
A. Pengantar.....	37
B. Perkembangan Penelitian tentang DNA Mitokondria....	38
C. Metode Analisis DNA Mitokondria D-LOOP.....	40
Daftar Pustaka.....	62
Tugas Mahasiswa.....	63

BAB IV	ANALISIS POLIMORFISME MITOKONDRIA	
	DNA <i>CYT B</i> SAPI ACEH.....	64
	A. Pengantar	64
	B. Perkembangan Riset DNA Mitokondria <i>CYT B</i>	64
	C. Metode Analisis MT-DNA <i>CYT B</i>	67
	Daftar Pustaka	85
	Tugas Mahasiswa	86
BAB V	ANALISIS POLIMORFISME GEN MC1R	
	PADA SAPI ACEH	87
	A. Pengantar	87
	B. Metode Deteksi Polimorfisme Gen MC1R.....	88
	Daftar Pustaka	106
	Tugas Mahasiswa	107
BAB VI	DETEKSI POLIMORFISME GEN HORMON	
	PERTUMBUHAN SAPI ACEH	108
	A. Pengantar	108
	B. Perkembangan Penelitian Polimorfisme Gen Hormon	
	Pertumbuhan.....	109
	C. Metode Deteksi Gen Hormon Pertumbuhan	111
	Daftar Pustaka	137
	Tugas Mahasiswa	138
BAB VII	DETEKSI POLIMORFISME GEN SRY	139
	A. Pengantar	139
	B. Perkembangan Hasil Penelitian Gen SRY	139
	C. Pengumpulan Data <i>GenBank</i> Gen SRY	141
	D. Studi Penyejajaran Data <i>GenBank</i>	141
	E. Menentukan Lokasi Primer	143
	F. Penentuan Enzim Restriksi	145
	G. Analisis Sekuensing pada Sapi Aceh.....	149
	H. Hasil Sekuens Gen SRY	150
	Daftar Pustaka	152
	Tugas Mahasiswa	153
	GLOSARIUM.....	154
	INDEKS	158

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Jumlah kromosom diploid pada beberapa hewan	11
Tabel 1.2	Nama asam amino, singkatan, dan triplet	19
Tabel 2.1	Ukuran standar <i>micropipet</i>	28
Tabel 2.2	Kegunaan alat-alat di laboratorium DNA	32
Tabel 2.3	Bahan kimia, risiko bahaya, dan penanganannya	33
Tabel 2.4	Cara pembuatan larutan yang digunakan untuk analisis DNA	34
Tabel 3.1	Variasi genetik dari tiap populasi (Yoon, <i>et al.</i> , 2003).....	39
Tabel 3.2	Perbedaan sekuens sapi Red Chittagong (Bangladesh) dengan <i>B. indicus</i> dan <i>B. taurus</i>	40
Tabel 3.3	<i>GenBank Accession Number</i> mitokondria D-Loop dari berbagai bangsa sapi	40
Tabel 3.4	Enzim restriksi yang digunakan dalam analisis	55
Tabel 3.5	<i>Restriction enzyme</i> dan frekuensi pemotongan setiap enzim...	61
Tabel 4.1	Hasil penelusuran sekuens mtDNA <i>Cyt b</i> sapi dari <i>GenBank</i>	67
Tabel 4.2	Tabel hasil perkiraan pita DNA setelah dipotong menggunakan enzim restriksi <i>TaqI</i> dan <i>HinfI</i>	77
Tabel 4.3	<i>Restriction enzyme</i> dan frekuensi pemotongan setiap enzim...	83
Tabel 5.1	<i>GenBank Accession Number</i> gen MC1R	88
Tabel 5.2	Enzim restriksi yang akan digunakan dalam analisis.....	95
Tabel 5.3	Daftar enzim restriksi sekuens gen MC1R pada sapi Aceh	105
Tabel 6.1	Frekuensi alel L/V pada gen GH beberapa bangsa sapi.....	110
Tabel 6.2	<i>GenBank Accession Number</i> untuk gen hormon pertumbuhan pada sapi.....	111
Tabel 6.3	Penentuan primer gen hormon pertumbuhan	114
Tabel 6.4	Enzim restriksi yang digunakan	124
Tabel 6.5	Pembuatan adonan PCR untuk gen GH	125
Tabel 6.6	Frekuensi genotipe dan alel gen GH 328 bp	126
Tabel 6.7	Komposisi dan persentase asam amino pada sapi Aceh, Brahman, dan Pesisir.....	131
Tabel 6.8	<i>Restriction enzyme</i> dan frekuensi pemotongan setiap enzim pada gen GH 328 bp.....	134
Tabel 6.9	<i>Restriction enzyme</i> dan frekuensi pemotongan setiap enzim pada gen GH 981 bp.....	135
Tabel 7.1	PCR-RFLP pada sapi Madura dan persilangannya	140

Tabel 7.2	<i>GenBank Accession Number</i> gen SRY	141
Tabel 7.3	Hasil <i>alignment</i> gen SRY dan jumlah SNPs	143
Tabel 7.4	Hasil <i>restriction mapping</i> gen target SRY menggunakan enzim <i>HaeIII</i> dan <i>HinfI</i> (801 bp)	149
Tabel 7.5	Enzim restriksi yang akan digunakan dalam analisis.....	149
Tabel 7.6	<i>Restriction enzyme</i> dan frekuensi pemotongan setiap enzim pada gen SRY	152

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Bagan sebuah sel (Anonim, 2015)	3
Gambar 1.2	Sitoplasma (Anonim, 2015)	3
Gambar 1.3	Mitokondria (Anonim, 2015).....	4
Gambar 1.4	Aparatus golgi (Anonim, 2015)	4
Gambar 1.5	Retikulum endoplasma (Anonim, 2015).....	5
Gambar 1.6	Ribosom (Anonim, 2015).....	5
Gambar 1.7	Lisosom (Anonim, 2015).....	6
Gambar 1.8	Sentrosom (Anonim, 2015)	6
Gambar 1.9	Nukleus (Anonim, 2015).....	7
Gambar 1.10	Plasma Membran (Anonim, 2015)	7
Gambar 1.11	Bentuk kromosom berdasarkan letak sentromer (Anonim, 2015)	9
Gambar 1.12	DNA pada kromosom metafase (Anonim, 2015).....	10
Gambar 1.13	Struktur DNA (Alberts, <i>et al.</i> , 2002).	12
Gambar 1.14	Mekanisme Umum Sintesis Protein (Prasanna, <i>et al.</i> , 1991)	13
Gambar 1.15	Dogma Genetik (Pribic, <i>et al.</i> , 1993)	14
Gambar 1.16	Replikasi DNA (Cooper, 2000)	16
Gambar 1.17	Transkripsi DNA (Anthony, <i>et al.</i> , 2000)	17
Gambar 1.18	Translasi mRNA (Anthony, <i>et al.</i> , 2000).....	18
Gambar 2.1	<i>Vertical electrophoresis cell</i> (kiri, merk Biorad) dan <i>horizontal electrophoresis</i> (kanan, merk Mupid).....	23
Gambar 2.2	<i>Refrigerated micro centrifuge</i> (kiri, merk Eppendorf Amesham) dan <i>table top centrifuge</i> (kanan, merk Kokusan)	24
Gambar 2.3	Mikro <i>centrifuge</i> (kiri, merk Harmony) dan mini <i>centrifuge</i> (kanan, merk Galaxy 7D).....	24
Gambar 2.4	<i>Multiheater</i> (merk Eyela)	25
Gambar 2.5	<i>Thermal cycler</i> (merk Perkim Elmer)	26
Gambar 2.6	<i>Autoclave</i> (merk Alp).....	27
Gambar 2.7	<i>Microwave</i>	28
Gambar 2.8	<i>Microtube</i> dan <i>micropipet</i>	29
Gambar 2.9	<i>Vortex</i>	29
Gambar 2.10	<i>Refrigerator</i>	30
Gambar 2.11	<i>Freezer</i>	30
Gambar 2.12	<i>GeneQuant</i>	31

Gambar 2.13	<i>UV trans iluminator</i>	32
Gambar 3.1	Mitokondria (Hikmat, 2015)	37
Gambar 3.2	<i>Import file</i>	41
Gambar 3.3	Memilih <i>file</i>	42
Gambar 3.4	Hasil <i>import</i> sekuens D-Loop.....	42
Gambar 3.5	Proses penyejajaran	42
Gambar 3.6	Hasil penyejajaran sekuens DNA mitokondria dari sebelas data <i>GenBank</i>	43
Gambar 3.7	Hasil penyejajaran sekuens DNA mitokondria dari sembilan data <i>GenBank</i> (Nijman, <i>et al.</i> , 2003)	46
Gambar 3.8	Hasil penyejajaran sekuens DNA mitokondria dari dua data <i>GenBank</i> (Mannen, <i>et al.</i> , 2004).....	49
Gambar 3.9	Halaman depan NCBI dengan <i>GenBank Accession Number</i> V00654.1	50
Gambar 3.10	Hasil pencarian <i>GenBank Accession Number</i> V00654.1	51
Gambar 3.11	Target mtDNA D-Loop (617 bp).....	52
Gambar 3.12	Hasil penyimpanan sekuens DNA gen D-Loop 617 bp dalam bentuk NotePad.....	52
Gambar 3.13	<i>Import</i> sekuens D-Loop V00654 (617 bp) di <i>software</i> BioEdit versi 7.....	53
Gambar 3.14	Hasil <i>import</i> sekuens gen target D-Loop V00654 (617 bp) pada halaman <i>software</i> BioEdit versi 7	53
Gambar 3.15	Langkah pertama <i>restriction mapping</i>	54
Gambar 3.16	Halaman <i>create restriction map</i>	54
Gambar 3.17	Pemilihan enzim restriksi <i>HinfI</i> dan <i>TaqI</i>	55
Gambar 3.18	Hasil analisis <i>restriction mapping</i> mtDNA D-Loop V00654 617 bp dengan enzim <i>HinfI</i> dan <i>TaqI</i>	56
Gambar 3.19	Hasil PCR-RFLP <i>HinfI</i> mtDNA D-Loop 617 bp sapi Aceh	57
Gambar 3.20	Hasil PCR-RFLP <i>TaqI</i> gen D-Loop 617 bp sapi Aceh.....	58
Gambar 3.21	<i>Form Order</i> sekuensing.....	58
Gambar 3.22	Hasil penyejajaran sekuens D-Loop pada sapi Aceh, Pesisir, Brahman, dan Madura.....	59
Gambar 3.23	Hasil pemotongan enzim restriksi pada sapi Brahman dan Madura.....	60
Gambar 4.1	Pohon filogenetik pada 6 spesies Bovine (Xuan, <i>et al.</i> , 2010)	66
Gambar 4.2	Hasil <i>alignment</i> 29 data <i>GenBank</i> dengan menggunakan BioEdit versi 7.....	68
Gambar 4.3	Pencarian data sekuens dari <i>GenBank</i>	72
Gambar 4.4	Data <i>GenBank</i> mitokondria lengkap pada sapi <i>Bos taurus</i>	72

Gambar 4.5	Target sekuens gen <i>cyt b</i> yang diapit oleh primer (bagian sekuens yang diblok).....	74
Gambar 4.6	Prediksi ukuran produk PCR target gen <i>cyt b</i>	74
Gambar 4.7	Hasil penyimpanan <i>file</i> dalam bentuk NotePad.....	74
Gambar 4.8	Cara meng- <i>import file</i>	75
Gambar 4.9	Pengambilan <i>file</i> yang dipilih.....	75
Gambar 4.10	Hasil <i>import</i> sekuens <i>cyt b</i>	76
Gambar 4.11	Memilih enzim restriksi berdasarkan hasil studi referensi.	76
Gambar 4.12	Pilihan enzim restriksi.....	77
Gambar 4.13	<i>Restriction mapping</i> gen <i>cyt b</i>	78
Gambar 4.14	Hasil elektroforesis produk PCR gen <i>Cyt b</i>	79
Gambar 4.15	Hasil visualisasi RFLP gen <i>Cyt b</i> sapi Aceh dengan enzim <i>HinfI</i>	80
Gambar 4.16	Hasil visualisasi RFLP gen <i>Cyt b</i> sapi Aceh dengan enzim <i>TaqI</i>	80
Gambar 4.17	Formulir <i>sequence order</i>	81
Gambar 4.18	Penyejajaran gen <i>Cyt b</i> pada sapi Aceh, Pesisir, Bali, Madura, Kebumen, dan Rambon.....	82
Gambar 4.19	<i>Restriction mapping</i> gen <i>cytochrome b</i> pada sapi Aceh.....	83
Gambar 5.1	Hasil <i>alignment</i> 15 data <i>GenBank</i> menggunakan <i>software</i> BioEdit versi 7.....	89
Gambar 5.2	Halaman depan NCBI dengan <i>GenBank Accession Number</i> AF445641.1.....	91
Gambar 5.3	Hasil pencarian <i>GenBank Accession Number</i> AF445641.1	91
Gambar 5.4	Target gen MC1R (296 bp) adalah bagian yang diapit primer (sekuens yang diblok).....	92
Gambar 5.5	Hasil penyimpanan sekuens DNA gen MC1R 296 bp dalam bentuk NotePad.....	92
Gambar 5.6	<i>Import</i> sekuens gen MC1R (296 bp)	92
Gambar 5.7	Hasil <i>import</i> sekuens target gen MC1R (296 bp) pada halaman <i>software</i> BioEdit versi 7.....	93
Gambar 5.8	Langkah pertama <i>restriction mapping</i>	93
Gambar 5.9	Halaman <i>create restriction map</i>	94
Gambar 5.10	Pemilihan enzim restriksi	94
Gambar 5.11	Hasil analisis <i>restriction mapping</i> gen MC1R 296 bp dengan enzim <i>MspI</i>	95
Gambar 5.12	Hasil PCR-RFLP <i>MspI</i> gen MC1R 296 bp sapi Aceh.....	96
Gambar 5.13	<i>Sequence order</i> untuk pemesanan sekuensing di PT Genetika Science Indonesia.....	97
Gambar 5.14	Cara mencari <i>clustalW</i> secara <i>online</i>	97
Gambar 5.15	Cara memasukkan sekuens pada <i>ClustalW2</i>	98

Gambar 5.16	<i>Step 1 ClustalW2</i>	98
Gambar 5.17	<i>Step 2 ClustalW2</i>	99
Gambar 5.18	Hasil <i>alignment ClustalW2</i>	100
Gambar 5.19	Pembuatan <i>phylogenetic tree</i>	102
Gambar 5.20	<i>Phylogenetic tree</i>	102
Gambar 5.21	Penyejajaran gen MC1R pada sapi Aceh dan sapi Bali.....	104
Gambar 5.22	<i>Restriction mapping</i> gen MC1R pada sapi Aceh.....	104
Gambar 5.23	Penerjemahan asam amino pada sapi Aceh dan Bali.	105
Gambar 6.1	Penyejajaran beberapa <i>GenBank Accession Number</i>	111
Gambar 6.2	Halaman depan NCBI	115
Gambar 6.3	<i>Bovine growth hormone gene, complete cds</i>	115
Gambar 6.4	Hasil pencarian <i>GenBank Accession Number M57764</i>	116
Gambar 6.5	Sekuens lengkap <i>GenBank Accession Number M57764</i>	117
Gambar 6.6	PCR <i>product</i> GH 891 bp dengan 3 enzim <i>MspI</i> (digaris bawah).....	118
Gambar 6.7	PCR <i>product</i> GH 328 bp dengan 1 enzim <i>MspI</i> (digaris bawah).....	118
Gambar 6.8	PCR <i>product</i> GH 211 bp dengan 1 enzim <i>AluI</i> (digaris bawah).....	119
Gambar 6.9	Penyimpanan sekuens DNA gen hormon pertumbuhan 328 bp pada program NotePad	119
Gambar 6.10	Cara meng- <i>import file</i> pada BioEdit.....	120
Gambar 6.11	Cara membuka <i>file</i> pada BioEdit.....	120
Gambar 6.12	Hasil dari <i>import file</i>	121
Gambar 6.13	Cara memilih enzim restriksi pada BioEdit	121
Gambar 6.14	Cara memilih enzim restriksi yang akan digunakan	122
Gambar 6.15	Cara memilih enzim <i>MspI</i>	122
Gambar 6.16	<i>Generate map</i>	123
Gambar 6.17	<i>Restriction map</i> yang diperoleh.....	123
Gambar 6.18	<i>Sequence order</i> untuk pemesanan sekuensing di PT Genetika Science Indonesia.....	126
Gambar 6.19	Penyejajaran sekuens gen GH 981 bp	127
Gambar 6.20	Komposisi asam amino dari gen GH 981 bp pada sapi Aceh.....	129
Gambar 6.21	Komposisi asam amino dari gen GH 981 bp pada sapi Brahman	130
Gambar 6.22	Komposisi asam amino dari gen GH 981 bp pada sapi Pesisir	130
Gambar 6.23	<i>Restriction mapping</i> gen GH 328 pada sapi Aceh	131
Gambar 6.24	<i>Restriction mapping</i> gen GH 891 pada sapi Aceh.....	132
Gambar 7.1	Gambaran SNPs gen SRY (Hartatik, <i>et al.</i> , 2014)	140

Gambar 7.2	Hasil PCR-RFLP gen SRY pada <i>Bos taurus</i> dan <i>Bos indicus</i> (Yoon, <i>et al.</i> , 2008).....	141
Gambar 7.3	Hasil <i>alignment</i> lima data <i>GenBank</i> menggunakan <i>software</i> BioEdit versi 7.....	142
Gambar 7.4	Halaman depan NCBI dengan <i>GenBank Accession Number</i> AB039748	144
Gambar 7.5	Hasil pencarian <i>GenBank Accession Number</i> AB039748..	144
Gambar 7.6	Target gen SRY (801 bp).....	145
Gambar 7.7	Hasil penyimpanan sekuens DNA gen SRY801 bp dalam bentuk NotePad	146
Gambar 7.8	<i>Import</i> sekuens SRY (801bp) di <i>software</i> BioEdit versi 7 .	146
Gambar 7.9	Hasil <i>import</i> sekuens gen target SRY (801bp) pada halaman <i>software</i> BioEdit versi 7	146
Gambar 7.10	Langkah pertama <i>restriction mapping</i>	147
Gambar 7.11	Halaman <i>create restriction map</i>	147
Gambar 7.12	Pemilihan enzim restriksi	148
Gambar 7.13	Hasil <i>Restriction maping</i> gen target SRY (801 bp).....	148
Gambar 7.14	<i>Form order</i> sekuensing.....	150
Gambar 7.15	<i>Restriction mapping</i> gen SRY pada sapi Aceh.....	151
Gambar 7.16	<i>Restriction mapping</i> gen SRY pada sapi Limousin x Madura. A. Sebagian dari <i>restriction mapping</i> gen SRY, B. <i>hromatogram</i> dan lokasi pemotongan dari enzim <i>BfaI</i> dan <i>PstI</i> (Sumber: Hartatik, <i>et al.</i> , 2014)	151