



Dr. Poppy Rahmatika Primandiri

Lulus dari S1 Pendidikan Biologi Universitas Negeri Malang (UM) (2009), S2 Pendidikan Biologi UM (2011), dan S3 Pendidikan Biologi UM (2017). Selama kuliah di UM, aktif menjadi asisten dosen bidang zoologi. Saat ini menjadi dosen tetap di Prodi Pendidikan Biologi Universitas Nusantara PGRI Kediri (UNP Kediri) dengan bidang minat penelitian Genetika, Evolusi, dan Pembelajarannya. Selain meraih empat HKI, penulis juga meraih beberapa

Hibah Disentralisasi diantaranya PDP (2013 dan 2014), Hibah Disertasi Doktor (2016), dan Hibah PKM (2017). Aktif publikasi baik di jurnal maupun seminar nasional dan internasional, termasuk menjadi pembicara kunci pada seminar nasional. Penulis juga aktif sebagai Tim Pengembang Kurikulum dan Tim Akreditasi di UNP Kediri. Penulis juga aktif dalam peningkatan kompetensi di bidang riset dan pengajarannya seperti Pelatihan Sitogenetika dan Kariotyping di UGM, Phylogenetic Advance dan Transcriptomic Analysis di SITH ITB, Pengelolaan Laboratorium dan Bahan Kimia di UB Malang, Workshop Perawatan Mikroskop di UPI dan UIN Malang, Kurikulum Perguruan Tinggi oleh Konsorsium Biologi Indonesia, serta Bioinformatika di UNP Kediri. Enam judul Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) yang dibimbing penulis lolos didanai oleh Kemristekdikti/Kemendikbud. Saat ini mendapat amanah sebagai Kaprodi Pendidikan Biologi UNP Kediri.



Dr. Agus Muji Santoso, M.Si.

Lulus dari S1 Pendidikan Biologi Universitas Nusantara PGRI Kediri (UNP Kediri) (2009), S2 Biologi Universitas Airlangga Surabaya (2012), dan S3 Pendidikan Biologi Universitas Negeri Malang (2017). Saat ini menjadi dosen tetap di Prodi Pendidikan Biologi, UNP Kediri dengan bidang minat penelitian Biokimia, Bioinformatika, dan Lesson Study. Selain meraih empat HKI, penulis juga pernah mendapatkan Hibah Disentralisasi maupun Kompetitif

Nasional antara lain: Hibah PDP (2014), Hibah Bersaing (2015), Hibah Disertasi Doktor (2016), dan Hibah Kompetitif Nasional Terapan (2019). Tahun 2017 mendapatkan beasiswa STOLS ITTEP di Jepang dari Kemristekdikti dan pernah mengikuti Summer Course IPB-IGNTRRC. Selain aktif publikasi jurnal dan seminar, penulis juga menjadi nara sumber seminar nasional, workshop, dan lokakarya Bioinformatika, Kurikulum Merdeka Belajar-Kampus Merdeka, dan LSLC di Direktorat P-SMP Kemendikbud. Penulis juga aktif dalam peningkatan kompetensi di bidang riset dan pengajarannya seperti Pelatihan Sitogenetika dan Kariotyping di UGM, Phylogenetic Advance dan Transcriptomic Analysis di SITH ITB, Pengelolaan Laboratorium dan Bahan Kimia di UB Malang, Workshop Perawatan Mikroskop di UPI dan UIN Malang, dan Drug Targeting oleh Perkeni dan BioIN. Enam judul Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) yang dibimbing penulis lolos didanai oleh Kemristekdikti/Kemendikbud dan karya tulis mahasiswa meraih Juara I Kompetisi Ilmuan Muda Indonesia (MUN di Universitas Indonesia). Saat ini mendapat amanah sebagai Wakil Rektor Bidang Akademik di UNP Kediri.



Genetika

Prinsip dasar Berbasis penelitian di perguruan tinggi



Oleh:

Poppy Rahmatika Primandiri
Agus Muji Santoso

Editor:
Mohamad Amin
Maftuchah
Siti Zubaidah

GENETIKA
Prinsip Dasar Berbasis Penelitian di
Perguruan Tinggi

Penulis:

Poppy Rahmatika Primandiri
Agus Muji Santoso

Editor:

Prof. Dr.agr. Mohamad Amin, M.Si
Dr. Maftuchah, M.P
Prof. Dr. Hj. Siti Zubaidah, M.Pd



GENETIKA Prinsip Dasar Berbasis Penelitian di Perguruan Tinggi

© Penerbit Kepel Press

Penulis :

Poppy Rahmatika Primandiri

Agus Muji Santoso

Desain Sampul :

Winengku Nugroho

Desain Isi :

Emanuel Edo M

Cetakan Pertama, 2020

Diterbitkan oleh Penerbit Kepel Press

Puri Arsita A-6, Jl. Kalimantan, Ringroad Utara, Yogyakarta

Telp/faks : 0274-884500

Hp : 081 227 10912

email : amara_books@yahoo.com

Anggota IKAPI

ISBN : 978-602-356-355-5

Hak cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi
buku, tanpa izin tertulis dari penulis dan penerbit.

Isi di luar tanggung jawab percetakan

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan kesempatan dan kekuatan bagi penulis sehingga buku ajar yang berjudul *Genetika: Prinsip Dasar Berbasis Penelitian di Perguruan Tinggi* telah selesai disusun.

Genetika merupakan salah satu mata kuliah wajib di Universitas Nusantara PGRI Kediri pada Program Studi S1 Pendidikan Biologi. Ketersediaan sarana belajar berupa buku ajar pun menjadi kebutuhan utama dalam perkuliahan. Berdasarkan analisis kebutuhan yang telah dilakukan pada program studi tersebut, buku ajar genetika yang telah tersedia saat ini masih memerlukan perbaikan isi. Khususnya yang berkaitan dengan konsep-konsep dasar genetika itu sendiri. Selain itu, belum dilengkapi dengan contoh gambar yang mendukung dan masih belum bersifat *research-based*. Oleh karena itu, buku ajar ini hadir untuk membantu dosen dan mahasiswa, agar dapat mendukung mutu proses perkuliahan genetika sehingga dapat mencapai capaian pembelajaran yang telah ditetapkan.

Buku ini memuat enam bagian. Bagian pertama memuat informasi tentang sejarah dan ruang lingkup genetika. Bagian kedua memuat informasi tentang materi genetik dan contoh bagaimana mengisolasi genom/ DNA berdasarkan hasil penelitian. Bagian ketiga memfokuskan pada kajian struktur kromosom. Pada bagian keempat memuat informasi tentang replikasi materi genetik. Pada bagian ini juga didukung dengan contoh aplikasi PCR pada gen *Tl* tanaman *J. curcas*. Adapun bagaimana mekanisme ekspresi materi genetik bekerja telah disajikan pada bagian kelima. Bagian keenam berisi tentang mutasi dan penyebabnya. Bagian akhir buku ini (bagian ketujuh) memuat bagaimana mengisolasi

gen, mengamplifikasi gen target, sekuensing, dan membaca analisis sekuensing. Bagian ini disusun berdasarkan hasil penelitian tentang variasi gen *TI* pada *J. curcas*.

Keberadaan buku ajar ini tidak lepas dari kontribusi beberapa pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. agr. Mohamad Amin, M.Si, Dr. Maftuchah, M.P, Prof. Dr. Hj. Siti Zubaidah, M.Pd yang telah berkenan menjadi editor serta beberapa pihak yang terlibat secara teknis dalam menyediakan gambar pendukung pada buku ini.

Buku ini masih memerlukan penyempurnaan, oleh karena itu saran dari pembaca sangat diharapkan. Semoga buku ajar ini bermanfaat.

Kediri, 5 Mei 2017

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
PETUNJUK PENGGUNAAN	ix
BAGIAN I SEJARAH DAN RUANG LINGKUP GENETIKA	1
A. Pendahuluan.....	1
B. Sejarah Genetika.....	2
C. Ruang Lingkup Kajian Genetika.....	4
Rangkuman	6
Evaluasi	6
Refleksi Belajar.....	6
Daftar Rujukan	7
BAGIAN II MATERI GENETIK	9
A. Pendahuluan.....	9
B. DNA sebagai Materi Genetik.....	10
C. RNA sebagai Materi Genetik pada Virus Tertentu.....	15
D. Struktur DNA dan RNA.....	16
E. Bentuk DNA	22
F. Isolasi DNA	24
Rangkuman	28
Evaluasi	28

Refleksi Belajar.....	29
Daftar Rujukan	29
BAGIAN III KROMOSOM	31
A. Pendahuluan.....	31
B. <i>Packaging</i> DNA menjadi Kromosom.....	32
C. Bagian-bagian Kromosom	36
D. Tipe Kromosom.....	37
E. Bentuk Kromosom.....	39
F. Jumlah dan Ukuran Kromosom.....	40
Rangkuman	42
Evaluasi	43
Refleksi Belajar.....	43
Daftar Rujukan	44
BAGIAN IV REPLIKASI.....	45
A. Pendahuluan.....	45
B. Model Replikasi DNA.....	46
C. Replikasi Semikonservatif	47
D. Proses Replikasi	49
E. Polymerase Chain Reaction	53
Rangkuman	62
Evaluasi	62
Refleksi Belajar.....	62
Daftar Rujukan	63
BAGIAN V EKSPRESI MATERI GENETIK.....	65
A. Pendahuluan.....	65

B. Transkripsi	67
C. Modifikasi Pasca Transkripsi	85
D. Translasi	94
E. Kode Genetika	99
Rangkuman	105
Evaluasi	106
Refleksi Belajar	106
Daftar Rujukan	107
BAGIAN VI MUTASI	109
A. Pendahuluan	109
B. Penyebab Mutasi	109
C. Macam-macam Mutasi Gen	123
D. Mutasi Kromosom	127
Rangkuman	137
Evaluasi	137
Refleksi Belajar	138
Daftar Rujukan	138
BAGIAN VII VARIASI GEN <i>TI</i> PADA <i>J. CURCAS</i>	141
A. Pendahuluan	141
B. Data Molekuler	142
C. Amplifikasi Hasil Isolasi	148
D. Mengolah Data Hasil Sekuensing	150
Rangkuman	155
Evaluasi	156
Refleksi Belajar	156
Daftar Rujukan	156

GLOSARIUM 159

PETUNJUK PENGGUNAAN

A. Deskripsi

Buku ajar ini merupakan salah satu sarana belajar yang dapat digunakan pada perkuliahan genetika pada jenjang S1 Pendidikan Biologi. Buku ajar ini disusun berdasarkan studi referensi maupun hasil penelitian, khususnya penelitian tentang identifikasi dan sekuen gen *TI* yang telah berhasil dilakukan pada tanaman *J. curcas* yang dilaksanakan oleh penulis. Buku ajar ini memuat enam bagian. Pada setiap bagian memuat:

1. Indikator capaian pembelajaran

Bagian ini berisi capaian pembelajaran pada setiap bagian materi buku ajar. Rumusan ini dapat dikembangkan sesuai kebutuhan sesuai kaidah yang ada.

2. Uraian materi

Berisi deskripsi materi pada setiap bagian dan terdiri atas sub bagian–sub bagian yang disajikan dengan deskripsi definisi, contoh, serta didukung dengan gambar penjelas untuk membantu memahami materi yang disajikan.

3. Rangkuman

Bagian ini memuat isi ringkas materi yang telah dideskripsikan pada setiap sub bagian.

4. Evaluasi

Berisi pertanyaan-pertanyaan yang bertujuan untuk mengetahui capaian belajar kognitif mahasiswa selama mempelajari bagian materi buku ajar ini. Bagian ini dapat menjadi salah satu bagian penugasan terstruktur maupun tidak terstruktur bagi mahasiswa.

5. Daftar rujukan

Memuat referensi yang digunakan pada setiap bagian. Dosen maupun mahasiswa dapat menelusurnya untuk mendapatkan informasi yang lebih detail pada suatu topik khusus sesuai judul referensi yang disertakan.

6. Refleksi belajar

Pada bagian ini, mahasiswa dipandu untuk melakukan refleksi diri belajar genetika yang telah menggunakan buku ajar ini. Refleksi belajar ini penting dilakukan agar mahasiswa dapat mengevaluasi strategi belajar yang dilakukan dan dosen dapat memberikan bantuan belajar yang sesuai.

B. Prasyarat

Mahasiswa yang menggunakan buku ajar ini harus menempuh mata kuliah prasyarat Biologi Dasar, Biologi Sel, dan Biokimia agar mahasiswa memiliki bekal dasar yang cukup minimal tentang struktur sel, komponen dasar sel, organel dan inti sel, biomolekul, dan ikatan kimia.

C. Penggunaan Buku Ajar

1. Bagi Dosen

- a. Merencanakan pembelajaran yang berpusat pada mahasiswa
- b. Menyediakan buku ajar dalam kondisi baik
- c. Menyediakan alokasi waktu untuk mengukur ketercapaian belajar dengan menggunakan sub bagian evaluasi
- d. Menyediakan alokasi waktu untuk memberikan respon dan bantuan belajar kepada mahasiswa yang melaksanakan refleksi belajar

2. Bagi Mahasiswa

- a. Bacalah secara seksama petunjuk penggunaan buku ajar ini

- b. Cermati bagian dan sub bagian pada buku ajar ini sehingga membantu memberikan gambaran tentang isi buku dan kebutuhan belajar Saudara
- c. Bacalah secara seksama setiap ulasan materi dan gambar yang disajikan. Apabila membutuhkan deskripsi lebih lanjut, dapat membaca referensi yang diacu.
- d. Disediakan beberapa pertanyaan dalam sub bagian evaluasi. Pada bagian ini Saudara dapat menyelesaikan pertanyaan tersebut sesuai instruksi atau arahan dosen
- e. Setelah selesai mempelajari satu bagian pada buku ajar ini, lakukan refleksi belajar sesuai sub bagian refleksi belajar yang tersedia pada setiap bagian akhir bagian buku ajar ini.
- f. Minta umpan balik dan bantuan belajar dari dosen untuk membantu mencapai indikator pembelajaran yang telah disampaikan oleh dosen.
- g. Pada buku ajar ini tersedia glosarium, Saudara dapat menggunakannya saat Saudara mengalami kesulitan dalam memahami definisi beberapa kata.

BAGIAN I

SEJARAH DAN RUANG LINGKUP GENETIKA

Indikator Capaian Pembelajaran

1. Mahasiswa dapat menjelaskan sejarah genetika
2. Mahasiswa dapat menjelaskan ruang lingkup kajian genetika

A. Pendahuluan

Sejak zaman dahulu, orang sudah menyadari bahwa seorang anak akan mirip dengan ayah dan ibunya. Tetapi seberapa dekat kemiripan itu baru banyak dikaji pada abad ke 19. Penemuan Gregor Mendel (1823-1884) menjadi titik awal dikajinya genetika modern. Mendel menggunakan tanaman kacang polong dan mempelajari karakteristiknya seperti apakah bijinya halus atau berkerut, apakah bunganya berwarna merah atau putih, dan apakah polongnya berwarna kuning atau hijau, dll. Mendel bisa menjawab “ya” atau “tidak” jika ada pertanyaan apakah individu tertentu mewarisi karakter orang tuanya?.

Ilmuwan menghubungkan karakteristik yang ditemukan oleh Mendel ke gen. Gen adalah unit informasi genetik yang mengatur perkembangan dan metabolisme tubuh. Gen juga menentukan sifat keturunan. Setiap gen mungkin ada dalam bentuk alternatif yang dikenal sebagai alel, kode untuk versi yang berbeda dari karakter mewarisi tertentu (seperti warna merah versus putih). Alel yang berbeda dari gen yang sama terkait erat, namun memiliki variasi kimiawi kecil yang dapat menghasilkan hasil yang berbeda secara signifikan.

B. Sejarah Genetika

Sebelum tahun 1860, penemuan yang membuka jalan bagi pemahaman genetika adalah perkembangan mikroskop cahaya, penjelasan teori sel, dan publikasi pada tahun 1859 dari *The Origin of Species* oleh Charles Darwin. Pada tahun 1665, Robert Hooke menciptakan istilah sel dalam studinya tentang sel gabus. Antara tahun 1674 dan 1683, Anton van Leeuwenhoek menemukan organisme hidup (protozoa dan bakteri) di air hujan. Pada tahun 1833, Robert Brown (penemu gerakan Brown) menemukan inti sel, dan antara tahun 1835 dan 1839, Hugo von Mohl menggambarkan mitosis di nukleus. Era ini berakhir pada tahun 1858, ketika Rudolf Virchow menyimpulkan konsep teori sel *omnis cellula e cellula*: semua sel berasal dari sel yang sudah ada sebelumnya. Jadi, pada tahun 1858, ahli biologi memiliki pemahaman tentang kontinuitas sel dan mengetahui nukleus sel.

Pada tahun 1866, Gregor Mendel dengan menggunakan kacang polong menemukan adanya pewarisan dari tetua pada anaknya. Pada tahun 1879 sampai 1885, dengan teknik pewarnaan baru, W. Flemming menggambarkan kromosom yang pertama kali diketahui oleh C. von Nägeli pada tahun 1842 - termasuk cara kromosom memisah selama pembelahan. Pada tahun 1888, W. Waldeyer pertama kali menggunakan istilah kromosom. Pada tahun 1875, O. Hertwig menggambarkan perpaduan sperma dan telur untuk membentuk zigot. Pada tahun 1880-an, Theodor Boveri, serta K. Rabl dan E. van Breden, berhipotesis bahwa kromosom adalah struktur individu dengan kontinuitas dari satu generasi ke generasi berikutnya meskipun terjadi "penghilangan" antara divisi sel. Pada tahun 1885, August Weismann menyatakan bahwa warisan didasarkan secara eksklusif di dalam nukleus. Pada tahun 1887, dia meramalkan terjadinya pembagian reduktional, yang

sekarang kita sebut meiosis. Pada tahun 1890, O. Hertwig dan T. Boveri telah menggambarkan proses meiosis secara rinci.

Dari tahun 1900 sampai 1944, genetika modern berkembang dengan perkembangan teori kromosom, yang menunjukkan bahwa kromosom adalah susunan gen yang linier. Pada tahun 1900, tiga ahli biologi bekerja secara mandiri yaitu Hugo de Vries, Carl Correns, dan Erich von Tschermak menemukan kembali karya Mendel tentang aturan pewarisan. Pada tahun 1903, Walter Sutton berhipotesis bahwa perilaku kromosom selama meiosis menjelaskan aturan pewarisan Mendel, sehingga mengarah pada penemuan bahwa gen terletak di kromosom. Pada tahun 1913, Alfred Sturtevant menciptakan peta genetik pertama pada lalat buah. Dia menunjukkan bahwa gen ada dalam urutan linear pada kromosom. Pada tahun 1927, L. Stadler dan H. J. Muller menunjukkan bahwa gen dapat bermutasi secara artifisial oleh sinar X. Antara tahun 1930 dan 1932, R. A. Fisher, S. Wright, dan J. B. S. Haldane mengembangkan dasar aljabar untuk pemahaman kita tentang proses evolusi. Pada tahun 1943, S. Luria dan M. Delbrück menunjukkan bahwa bakteri memiliki sistem genetik yang normal dan dengan demikian dapat berfungsi sebagai model untuk mempelajari proses genetik.

Periode dari tahun 1944 sampai sekarang adalah era genetika molekuler, dimulai dengan demonstrasi bahwa DNA adalah bahan genetik dan teknologi DNA rekombinan. Pada tahun 1944, O. Avery dan rekan berdasarkan risetnya, menemukan bahwa DNA adalah materi genetik. James Watson dan Francis Crick menyusun struktur DNA pada tahun 1953. Antara tahun 1968 dan 1973, W. Arber, H. Smith, dan D. Nathans, bersama dengan rekan mereka, menemukan dan menjelaskan restriksi endonuklease, enzim untuk memanipulasi DNA melalui teknologi DNA rekombinan. Paul

Berg adalah orang pertama yang menciptakan molekul DNA rekombinan pada tahun 1972.

Sejak 1972, ahli genetika telah mengkloning banyak gen. Para ahli memiliki kemampuan untuk menciptakan organisme transgenik, organisme dengan gen asing. Misalnya, sekarang kita memiliki hewan ternak yang memproduksi obat-obatan dalam susu mereka yang dipanen dengan mudah dan murah. Pada tahun 1997, mamalia pertama dikloning, seekor domba bernama Dolly. Urutan genom manusia mulai dikerjakan pada tahun 2000. Sekarang banyak dikumpulkan informasi di bidang genomik.

C. Ruang Lingkup Kajian Genetika

Menurut Tamarin (2011), ahli genetika bekerja di tiga wilayah yang berbeda yang masing-masing memiliki perbedaan dalam hal masalah, terminologi, dan alat. Wilayah yang dimaksud adalah genetika klasik, genetika molekuler, dan genetika evolusioner. Dalam genetika klasik, kita mengenal teori pewarisan kromosom. Gen berada dalam posisi linier pada kromosom dan posisi gen relatif dapat ditentukan oleh frekuensi keturunannya. Genetika molekuler adalah studi tentang materi genetik: struktur, replikasi, dan ekspresinya, serta revolusi informasi yang berasal dari penemuan teknik DNA rekombinan (rekayasa genetika, termasuk Proyek Genom Manusia). Genetika evolusioner adalah studi tentang mekanisme perubahan evolusioner, atau perubahan frekuensi gen pada populasi. Konsep evolusi Darwin melalui seleksi alam menemukan landasan genetik sebuah gen di bidang studi pewarisan ini. Lebih lanjut pada bukua ajar ini, dibahas tentang Genetika Molekuler.

Materi genetik semua organisme seluler adalah DNA. Molekul heliks ganda DNA berbentuk seperti tangga yang memutar. Tulang punggung untai adalah gula (deoksiribosa) dan fosfat.

Anak tangganya adalah pasangan basa. Ada empat basa pada DNA: adenin, timin, guanin, dan sitosin, disingkat A, T, G, dan C. Basa-basa tersebut saling berpasangan yaitu guanin berpasangan dengan sitosin, dan adenin berpasangan dengan timin. James Watson dan Francis Crick menyimpulkan struktur ini pada tahun 1953 yang mengantarkan di era genetika molekuler.

Menurut Watson dan Crick, sesuai dengan sifat komplementer dari pasangan basa DNA menunjukkan cara replikasi yaitu setiap untai akan bertindak sebagai templat untai baru, menghasilkan dua heliks ganda persis seperti induknya. Perubahan pada salah satu basa dapat terjadi akibat kesalahan pemasangan basa selama replikasi atau beberapa kerusakan pada DNA yang tidak diperbaiki pada saat siklus replikasi berikutnya.

Informasi dikodekan pada urutan basa pada satu untai heliks ganda. Selama ekspresi gen, informasi tersebut ditranskripsi menjadi RNA yang berperan dalam sintesis protein. RNA berbeda dari DNA dalam beberapa hal: memiliki gula *ribosa* menggantikan *deoxyribose*, RNA memiliki basa urasil (U) menggantikan timin (T), dan biasanya berbentuk untai tunggal. RNA ditranskripsi dari DNA oleh enzim RNA polimerase. Informasi DNA yang ditranskripsi menjadi mRNA untuk urutan asam amino protein. Tiga nukleotida membentuk sebuah kodon yang menentukan satu dari dua puluh asam amino alami yang digunakan dalam sintesis protein. Urutan basa membentuk kodon disebut sebagai kode genetika. Proses translasi, menerjemahkan urutan mRNA ke dalam rangkaian asam amino yang terjadi pada ribosom, struktur yang ditemukan di semua sel yang terdiri dari rRNA dan protein.

Mekanisme regulasi ekspresi gen biasanya pada tingkat transkripsi. Agar transkripsi berlangsung, enzim RNA polimerase harus bisa berjalan terus pada DNA; jika tidak, transkripsi akan berhenti. Salah satu mekanisme dikenal sebagai model operon

untuk berbagai mekanisme kontrol dalam prokariota dan virus. Eukariota umumnya tidak mengandung operon tetapi pengaturan ekspresi lebih rumit dibanding prokariot.

RANGKUMAN

1. Kajian genetika dimulai pada tahun 1860 saat ditemukan mikroskop cahaya yang dapat mengamati sel. Era baru genetika dimulai saat Watson dan Crick membuat permodelan DNA untai ganda. Kajian genetika semakin berkembang diiringi kemajuan teknologi yang sekarang ini sudah pada tahap pengumpulan genomik hampir seluruh spesies.
2. Kajian genetika dibagi menjadi genetika klasik, genetika molekuler, dan genetika evolusioner. Pada genetika molekuler dipelajari tentang materi genetik: struktur, replikasi, dan ekspresinya, serta revolusi informasi yang berasal dari penemuan teknik DNA rekombinan (rekayasa genetika, termasuk Proyek Genom Manusia).

EVALUASI

1. Buatlah bagan sejarah kajian genetika!
2. Buatlah bagan tentang ruang lingkup kajian genetika molekuler!

REFLEKSI BELAJAR

Setelah mempelajari materi ini,

1. Tuliskan hal baru apa saja yang Saudara peroleh!
2. Bagian mana dari materi ini yang sulit Saudara pahami?
3. Apa saja upaya belajar Saudara pada materi ini?
4. Apa saja manfaat/ dampak yang Saudara peroleh setelah mempelajari materi ini?

DAFTAR RUJUKAN

- Clark, D. 2005. *Molecular Biology: Understanding the Genetic Revolution*. Illinois: Elsevier Academic Press.
- Griffiths, A.J.F., Wessler, S.R., Lewontin, R.C., Gelbart, W.M., Suzuki, D.T., & Miller, J.H. 2007. *An Introduction to Genetic 9th Edition*. W. H. Freeman and Company.
- Tamarin, R.H. 2001. *Principles of Genetics 7th Edition*. The McGraw-Hill Companies

BAGIAN II

MATERI GENETIK

Indikator Capaian Pembelajaran

1. Mahasiswa dapat menjelaskan eksperimen yang membuktikan bahwa materi genetik adalah DNA
2. Mahasiswa dapat menjelaskan eksperimen yang membuktikan bahwa materi genetik pada virus tertentu adalah RNA
3. Mahasiswa dapat menjelaskan struktur kimia DNA dan RNA
4. Mahasiswa dapat menjelaskan struktur untai ganda DNA
5. Mahasiswa dapat menjelaskan bentuk lain dari DNA

A. Pendahuluan

Materi genetik harus memiliki syarat-syarat antara lain (a) harus mampu hadir dalam berbagai variasi, (b) harus dapat menyimpan informasi, (c) harus dapat mengekspresikan informasinya, (d) harus dapat melakukan replikasi, (e) harus dapat bermutasi (Irawan, 2008).

Informasi genetik dikodekan oleh molekul yang disebut '*nuclein*' karena pada awalnya diisolasi dari nukleus sel eukariotik oleh F. Miescher pada tahun 1869. Ada dua jenis asam nukleat yaitu *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan *ribonucleic acid* (RNA). Informasi genetik dari setiap genom sel disimpan pada molekul DNA yang panjang, yang masing-masing dapat mengandung ribuan gen. Dengan demikian setiap gen merupakan segmen linier dari sebuah molekul DNA yang panjang. Sebaliknya, molekul RNA jauh lebih pendek, digunakan untuk mentransmisikan informasi genetik ke mesin sel, dan hanya membawa satu atau beberapa gen.

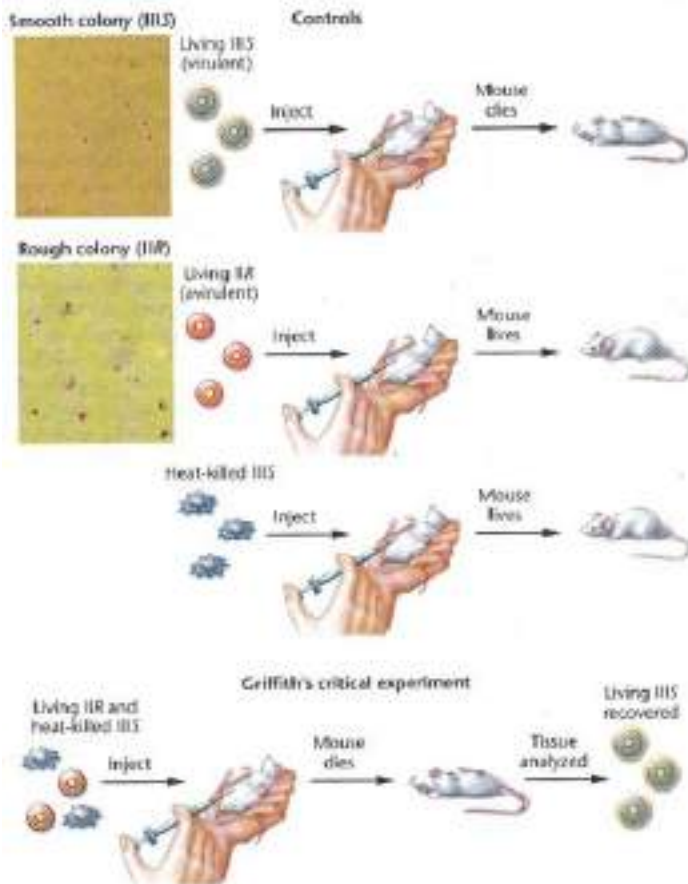
B. DNA sebagai Materi Genetik

Materi genetik bagi kebanyakan organisme adalah DNA, sementara RNA terlibat dalam sintesis protein dan merupakan materi genetik pada sebagian virus. Percobaan-percobaan yang membuktikan bahwa materi genetik adalah DNA antara lain:

1. Percobaan Transformasi Griffith

Frederick Griffith pada tahun 1928 melakukan eksperimen ini dengan menggunakan *Streptococcus pneumoniae*. Bakteri ini menyebabkan pneumonia pada manusia dan menyebabkan kematian pada tikus (Griffith *et al*, 2007). Perhatikan eksperimen Griffith pada Gambar 2.1.

Dalam percobaannya, Griffith menggunakan dua strain yang berbeda yaitu strain S (*smooth*) yang sel-selnya dilapisi kapsul polisakarida sehingga tampak mulus pada media tumbuhnya. Strain S ini bersifat virulent dan mematikan. Strain lainnya yang digunakan adalah strain R (*rough*) yang tidak dilapisi polisakarida sehingga tampak kasar pada media tumbuh. Strain R ini bersifat tidak virulen dan tikus tetap hidup meskipun di dalam tubuhnya terdapat strain ini.

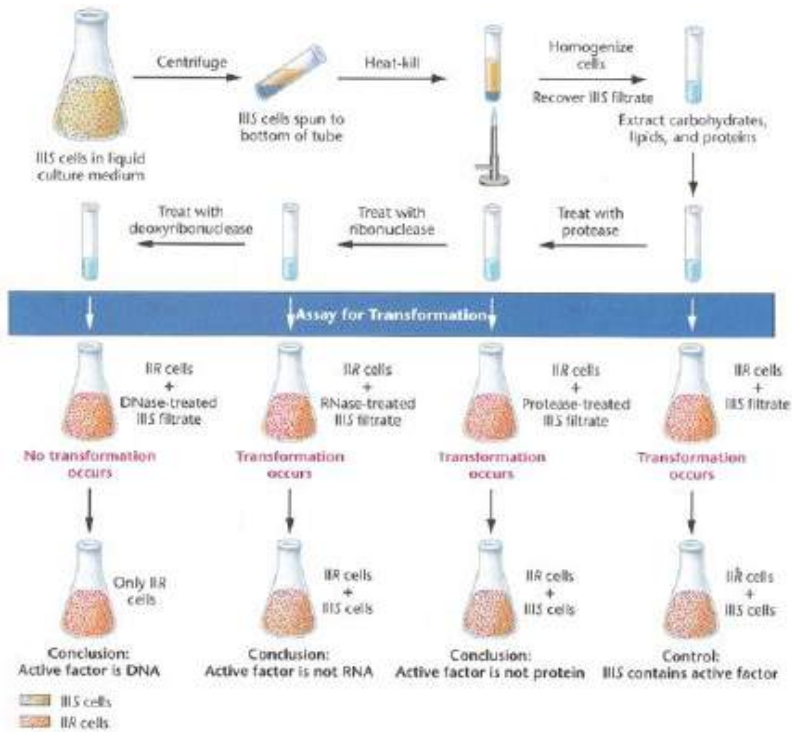


Gambar 2.1 Eksperimen Griffith (Sumber: Klug *et al.*, 2010)

Griffith merebus strain S kemudian memasukkannya ke tubuh tikus, hasilnya tikus tetap hidup. Namun, didapatkan hasil yang mengejutkan saat Griffith memasukkan koloni strain S yang direbus dan koloni R bersama-sama ke dalam tubuh tikus, tikus mati dan ditemukan koloni S pada jaringan tikus yang mati. Griffith menyimpulkan terjadi transformasi sehingga koloni R yang tidak virulen menjadi koloni S yang virulen.

2. Percobaan Avery-MacLeod-McCarty

Bukti langsung pertama yang menunjukkan bahwa materi genetik itu adalah DNA dan bukan protein atau RNA dipublikasikan oleh O.T. Avery, C.M. MacLeod dan M. McCarty pada tahun 1944 (perhatikan eksperimen O.T. Avery, C.M. MacLeod dan M. McCarty pada Gambar 2.2). Dalam melakukan percobaannya, mereka mengekstrak semua bahan kimia pada koloni S. Dugaan awal mereka, karena koloni S memiliki lapisan polisakarida halus, polisakarida merupakan kandidat untuk agen transformasi (Griffith *et al*, 2007).

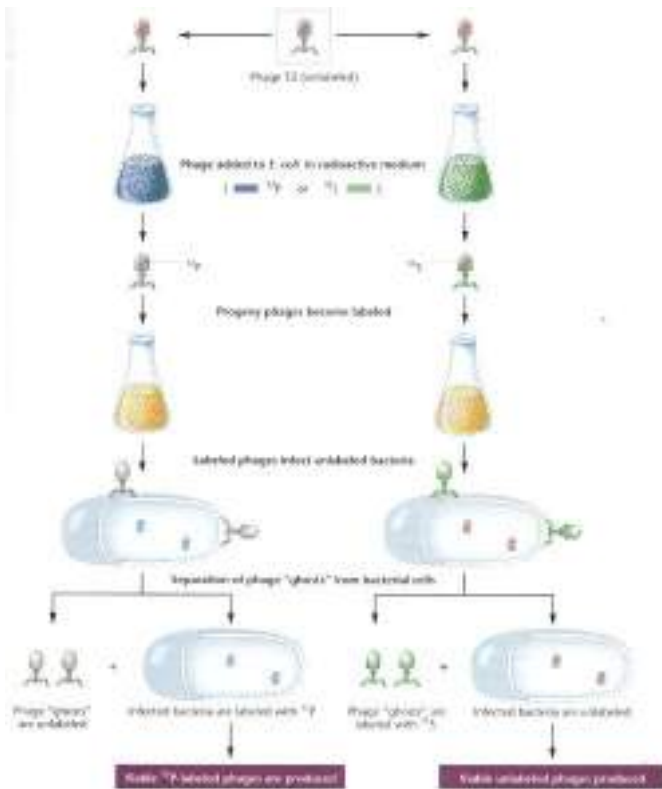


Gambar 2.2 Eksperimen O.T. Avery, C.M. MacLeod dan M. McCarty (Sumber: Klug *et al.*, 2010)

Karbohidrat, protein, lemak, hasil ekstraksi diperlakukan dengan *protease* dan *ribonuclease* menunjukkan masih terjadi transformasi sehingga protein dan RNA bukanlah agen transformasi. Hasil ekstrak koloni S kehilangan kemampuan transformasi saat diperlakukan dengan enzim *deoxyribonuclease* (DNase), yang memecah DNA. Kesimpulan yang didapatkan dari eksperimen adalah komponen sel yang bertanggung jawab bagi aktivitas transformasi dalam bakteri *Diplococcus pneumoniae* (*pneumococcus*) adalah DNA. Sehingga eksperimen ini memberikan bukti eksperimental pertama bahwa DNA adalah bahan genetik: DNA mengubah koloni R menjadi koloni S (Tamarin, 2001). Transformasi merupakan sebuah model transfer dari informasi genetik antar organisme atau dari satu organisme ke organisme lainnya yang terjadi dalam beberapa spesies bakteri, tapi tidak pada seluruh spesies. Transformasi tidak melibatkan kontak langsung dengan sel-sel bakteri atau mediasi oleh vektor seperti virus (Gardner *et al*, 1991).

3. Percobaan Hershey dan Chase

Informasi berharga tentang pembuktian materi genetik juga berasal dari virus. Virus memiliki DNA yang diselubungi suatu lapisan pelindung yang terbuat dari protein sehingga dengan menggunakan virus dapat ditentukan apakah protein atau asam nukleat yang merupakan bahan genetik (Tamarin, 2001).



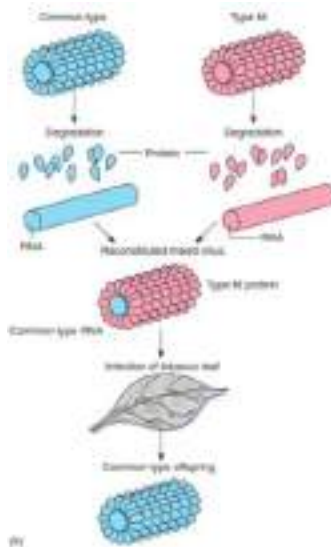
Gambar 2.3 Eksperimen Hershey-Chase (Sumber: Klug *et al.*, 2010)

Penelitian yang menggunakan *bacteriophage* untuk membuktikan materi genetik dilakukan oleh A. Harshey dan M. Chase menggunakan *fag* T2. *Fag* T2 adalah *fag* yang menginfeksi bakteri *Escherichia coli*. Semua asam nukleat mengandung fosfor, sedangkan protein mengandung sulfur (dalam asam amino sistein dan metionin). Hershey dan Chase merancang percobaan menggunakan isotop radioaktif sulfur dan fosfor agar tetap terpisah dan bisa melacak protein dan asam nukleat virus selama proses infeksi. Masing-masing medium *E. coli* diberi isotop radioaktif ^{35}S dan ^{32}P dan memasukkan *fag* T2 ke dalam medium-

medium tersebut. Hershey dan Chase kemudian melanjutkan untuk mengidentifikasi bahan yang disuntikkan ke dalam sel oleh fag yang menempel pada dinding bakteri.

Ketika *fag* berlabel ^{32}P dicampur dengan sel *E. coli* yang tidak berlabel, Hershey dan Chase menemukan bahwa label ^{32}P memasuki sel bakteri dan turunan *fag* yang keluar dari sel yang terinfeksi membawa sejumlah besar label ^{32}P . Ketika *fag* berlabel ^{35}S dicampur dengan *E. coli* yang tidak berlabel, ditemukan bahwa label ^{35}S tetap berada di *fag*. Hal ini menunjukkan bahwa protein yang terlabel pada *coat* fag tidak masuk ke bakteri yang terinfeksi, sedangkan materi di dalam *fag*, yang terdiri dari DNA, masuk ke sel bakteri. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa DNA bertanggung jawab atas produksi *fag* baru selama proses infeksi, bukan protein (Tamarin, 2001).

C. RNA sebagai Materi Genetik pada Virus Tertentu



Gambar 2.4 Rekonstruksi percobaan Fraenkel-Conrat dan Singer

(Sumber: Tamarin, 2001)

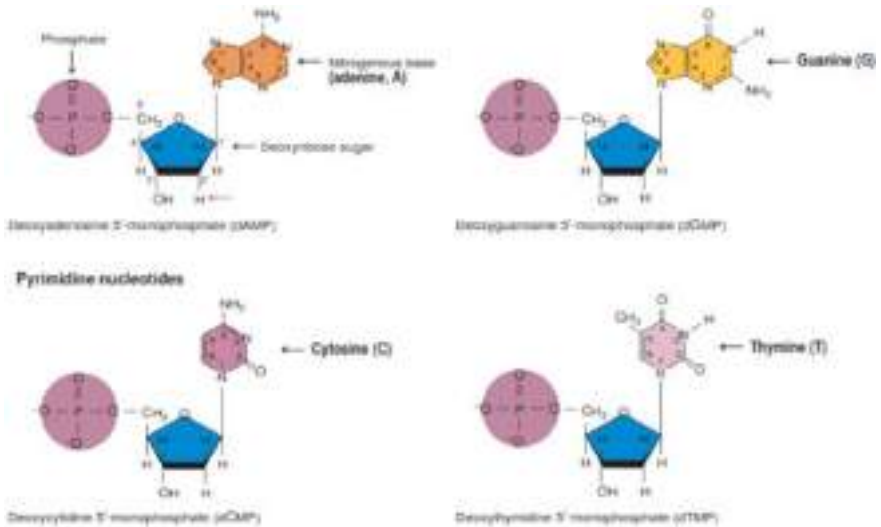
Pada beberapa virus, RNA (*ribonucleic acid*) adalah materi genetik. TMV (*tobacco mosaic virus*) yang menginfeksi tanaman tembakau terdiri dari RNA dan protein. RNA molekul tunggal yang panjang dikemas dalam struktur seperti batang yang dibentuk oleh lebih dari dua ribu salinan protein tunggal. Eksperimen pertama yang mempublikasikan bahwa RNA adalah materi genetik adalah eksperimen rekonstitusi oleh H. Fraenkel-Conrat dan B. Singer pada tahun 1957. Bagan eksperimennya ada pada Gambar 2.4.

Pada tahun 1955, H. Fraenkel-Conrat dan R. Williams menemukan bahwa komponen virus dapat dipisahkan secara *in vitro* dan dibentuk kembali sebagai virus baru. Penemuan ini menyebabkan Fraenkel-Conrat dan B. Singer menggabungkan RNA dari TMV tipe *common* dengan protein dari TMV tipe M, dan sebaliknya RNA dari tipe M dengan protein dari TMV tipe *common*. Pada kedua kasus tersebut, TMV yang dihasilkan selama proses infeksi adalah tipe yang terkait dengan RNA, bukan protein. Jadi, RNA merupakan materi genetik (Fraenkel-Conrat & Singer, 1999; Tamarin, 2001).

D. Struktur DNA dan RNA

1. Struktur kimia asam nukleat

Struktur kimia DNA dan RNA sangat mirip. Struktur utamanya adalah polimer linier yang terdiri dari monomer yang disebut **nukleotida**. Nukleotida terdiri dari tiga komponen yaitu **fosfat**, **gula**, dan **basa nitrogen** (Gambar 2.5). Fosfat dan gula membentuk tulang punggung setiap untai DNA atau RNA sedangkan basa nitrogen berikatan dengan gula.



Gambar 2.5 Struktur Kimia dari Empat Nukleotida pada DNA

(Sumber: Griffith *et al.*, 2007)

Pada DNA, gulanya adalah *2-deoxyribose*, sedangkan pada RNA, gulanya adalah *ribose*. Keduanya adalah pentosa (gula 5-karbon). Struktur gula pentosa berbentuk cincin. Gula pada DNA disebut "*deoxyribose*" karena pada atom karbon 2' hanya memiliki atom hidrogen (H), tidak seperti ribosa (RNA) yang memiliki gugus hidroksil (OH) pada posisi tersebut (Gambar 2.6). Fosfat terikat pada atom C nomor 5 dari gula pentosa, sedangkan basa nitrogen terikat pada atom C nomor 1 dari gula pentosa.

3.	CI (Chloro- form- Isoamil- alkohol) (24:1)	Chloroform Isoamilalkohol		24 ml 1 ml	<ul style="list-style-type: none"> • Disimpan dalam botol yang dibungkus dengan aluminium foil • Berfungsi untuk memisahkan DNA dari membran sel yang memiliki berat molekul lebih besar
4.	Buffer TE	Tris-HCl EDTA Aquadest	1 M 0,5 M	2 ml 0,4 ml	<ul style="list-style-type: none"> • Sebagai pelarut DNA • Ditambah aquadest sampai volume 100 ml

Proses isolasi DNA genom *J. curcas* adalah sebagai berikut.

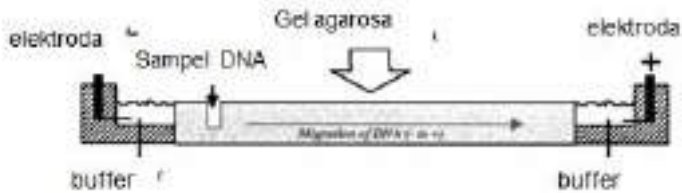
- Menimbang Na-bisulfit sebanyak 0,02 gram untuk 12 sampel.
- Menggerus daun dengan nitrogen cair hingga homogen lalu menambahkan 800 µl buffer ekstraksi yang sudah dicampur dengan Na-bisulfit.
- Menginkubasi sampel ke dalam *freezer* selama 5 menit. Kemudian sentrifus 12000 rpm/4°C selama 8 menit.
- Membuang supernatan dan menambah endapan dengan 500 µl buffer lisis.
- Memvorteks sampel dan menginkubasi dengan suhu 65°C selama 30 menit dan membolak-balik sampel setiap 10 menit.
- Menambahkan larutan *Chloroform-Isoamil* (24:1) sebanyak 500 µl. Kemudian sentrifuge 12000 rpm/4°C selama 12 menit.
- Mengambil supernatan untuk dipindahkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 ml baru dengan menggunakan mikropipet.
- Untuk mendapatkan hasil yang bagus, langkah g dapat diulang dua kali.
- Menambahkan *ethanol absolut* 800 µl dan NaOAc 3 M 80 µl dan membolak-balik hingga homogen. Kemudian sentrifuge 12000 rpm/4°C selama 8 menit.

- j. Membuang supernatan dan endapan dicuci dengan *ethanol* 70% 800 μ l. Men-sentrifuge 12000 rpm/4°C selama 8 menit.
- k. Supernatan dibuang dan pelet DNA dikeringanginkan semalam.
- l. Menambahkan TE 25 μ l pada pelet kering DNA. Penambahan senyawa TE dilakukan untuk menghindari kerusakan DNA genom hasil isolasi dari endonuklease selama proses penyimpanan. Senyawa Tris berfungsi untuk mempertahankan pH, sedangkan senyawa EDTA yang terkandung untuk menghambat aktivitas DNase.

2. Deteksi hasil isolasi

Ukuran molekul DNA teramat kecil sehingga tidak dapat dilihat secara kasat mata. Elektroforesis DNA merupakan teknik untuk memisahkan sampel DNA berdasarkan atas ukuran (berat molekul) dan struktur fisik molekulnya. Gel yang biasa digunakan antara lain agarosa. Elektroforesis gel agarosa dapat dilakukan untuk memisahkan sampel DNA dengan ukuran dari beberapa ratus hingga 20.000 pasang basa (bp).

Elektroforesis merupakan metode standar yang digunakan untuk memisahkan berbagai molekul organik seperti DNA dengan medan listrik sehingga berat molekul fragmen dapat diidentifikasi (Ausubel, 1998). Molekul DNA bermuatan negatif (anion) sehingga jika dimasukkan ke dalam sumur gel dan diberi medan listrik, maka DNA akan bermigrasi melalui gel dari kutub negatif (anoda) ke kutub positif (katoda) (Clark, 2005).



Gambar 7.1 Perangkat elektroforesis dan gel agarosa untuk migrasi DNA
(Sumber: Walker & Rapley, 2002)

Elektroforesis menunjukkan hasil yang positif jika menghasilkan pola pita-pita (bands) yang jelas dan tidak smearing (berbayang) (Klug & Cumming, 1994). Beberapa faktor yang mempengaruhi laju migrasi DNA pada gel agarosa antara lain ukuran fragmen DNA, konformasi DNA, besarnya arus listrik, konsentrasi, dan jenis gel, lamanya waktu elektroforesis, serta komposisi buffer yang digunakan. Molekul DNA penanda atau marka digunakan untuk mengetahui ukuran molekul-molekul DNA hasil isolasi, restriksi, maupun purifikasi.

Tahapan proses elektroforesis adalah sebagai berikut.

- Menutup bagian samping tray dengan menggunakan karet penutup.
- Memanaskan gel agarose 0,8% dengan menggunakan *microwave* sampai mencair sempurna.
- Menunggu sampai larutan agarose agak dingin.
- Menuang larutan agarose ke dalam *tray*, menghindari gelembung udara.
- Memasukkan *comb* ke dalam larutan agarose sebelum membeku.
- Setelah agarose menjadi gel dengan sempurna (paling cepat 15 menit), karet dan *comb* dilepas dengan hati-hati agar gel tidak patah dan gel agarose siap untuk digunakan untuk melakukan elektroforesis.

- g. Memasukkan gel agarose yang telah beku ke dalam *electrophoresis apparatus*.
- h. Memasukkan buffer elektroforesis (TBE 1X) ke dalam *electrophoresis apparatus* hingga gel terendam sempurna.
- i. Mencampur sejumlah sample DNA dengan 0,2 volume *buffer loading*. Menyalakan power supply. Proses elektroforesis berlangsung selama ± 45 menit.
- j. Setelah proses elektroforesis selesai, gel diangkat dari apparatus.
- k. Merendam gel agarose dalam larutan *ethidium bromide* (*EtBr*) pada box plastik khusus. Secara alami DNA tidak memiliki warna sehingga gel dapat diwarnai dengan *ethidium bromide* (*EtBr*) yang berikatan dengan kuat dan spesifik pada DNA.
- l. Meletakkan box pada shaker, didiamkan selama 20 menit. Setelah selesai, gel dikeluarkan dari box.
- m. Gel dicuci dengan air selama 15 menit untuk menghilangkan kelebihan *ethidium bromide* pada gel.
- n. Gel agarose dipotret dengan menggunakan alat pemotret gel (*Geldock*). Hasilnya digambarkan pada Gambar 7.2.

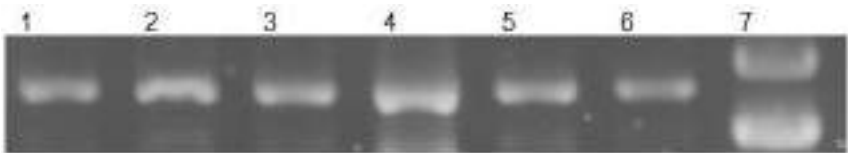


Gambar 7.2 Pita DNA Hasil Isolasi Genom *J. curcas* (Sumber: Primandiri, 2012)

C. Amplifikasi Hasil Isolasi

Pada reaksi PCR, DNA jarak pagar hasil isolasi digunakan sebagai cetakan. Primer yang digunakan dalam reaksi PCR ini adalah sepasang primer gen *CpTI* dengan urutan basa *CpTI*-F (5'-ATG AAG AGC ACC ATC TTC TTT GCT C-3') dan *CpTI*-R (5'-CTT ACT CAT CAT CTT CAT CCC

TGG-3') (Zhang *et al*, 2004). Volume total reaksi PCR yang dipergunakan adalah sebanyak 25 μ l, terdiri dari campuran larutan yang terdiri dari DNA *taq* polimerase dan 10X buffer *Taq* Polimerase (100 mM Tris-Cl, pH 8.3; 500 mM KCl; 15 mM MgCl₂; 0.01% gelatin); dNTP'S mix (dGTP, dATP, dTTP dan dCTP) (Recho); dH₂O dan DNA cetakan. Kondisi untuk reaksi PCR dirancang dengan suhu pradenaturasi 94°C (5 menit), denaturasi 94°C (1 menit), penempelan primer 40°C (1 menit), perpanjangan 72°C (2 menit) dan pasca PCR 4°C (2 menit). Untuk perbanyak, siklus reaksi PCR diulang sebanyak 35 kali. Hasil amplifikasi PCR kemudian dirunning dalam proses elektroforesis pada 2% gel agarose dengan voltase 25 Volt selama 2,5 jam dan selanjutnya dilakukan pemotretan gel. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 7.3.



Gambar 7.3 Pola Pita DNA *J. curcas* Hasil PCR Menggunakan Primer Gen *TI* aksesori IP3A (lajur 1), IP3P (lajur 2), nomor 5 (lajur 3), nomor 6 (lajur 4), nomor 7 (lajur 5), nomor 18 (lajur 6), marker 1000 bp (lajur 7) (Sumber: Dokumen Pribadi)

Gen *TI* dari tanaman sampel diamplifikasi dengan panjang berkisar 400-500 bp setelah divisualisasikan pada gel agarosa 2% (Gambar 6.3). Pada semua sampel *J. curcas* terdapat pita DNA dengan ukuran pita sejumlah 450 bp (*base pair*). Menurut Zhang *et al.* (2004) ukuran gen *TI* adalah 450 bp, sehingga produk hasil PCR tersebut sesuai dengan ukuran gen *TI*. Secara visual, pita yang nampak memiliki ketebalan pita yang berbeda, namun memiliki ukuran yang relatif sama yaitu 450 bp.

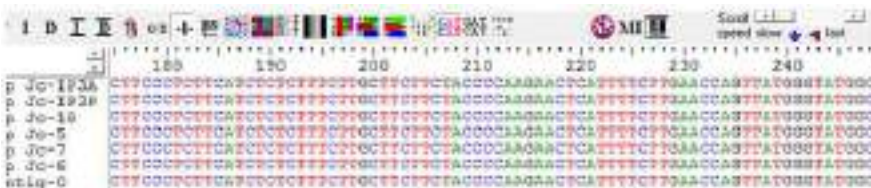
D. Mengolah Data Hasil Sekuensing

Hasil amplifikasi selanjutnya disekuensing. Data hasil sekuensing berupa urutan nukleotida fragmen gen *TI* kemudian disejajarkan dengan aksesori pembandingan yaitu IP3A dan IP3P dengan menggunakan program *BioEdit Sequence Alignment Editor 7.2.5*, *MEGA 7.0*, *Clustal X*. Program-program ini dikembangkan untuk mempermudah peneliti mempelajari materi genetika berbasis sekuensing. Data hasil sekuensing dilihat menggunakan program (Gambar 7.4).



Gambar 7.4 Kromatogram gen *TI J. curcas* sampel aksesori IP3A hasil sekuensing (Sumber: Dokumen pribadi)

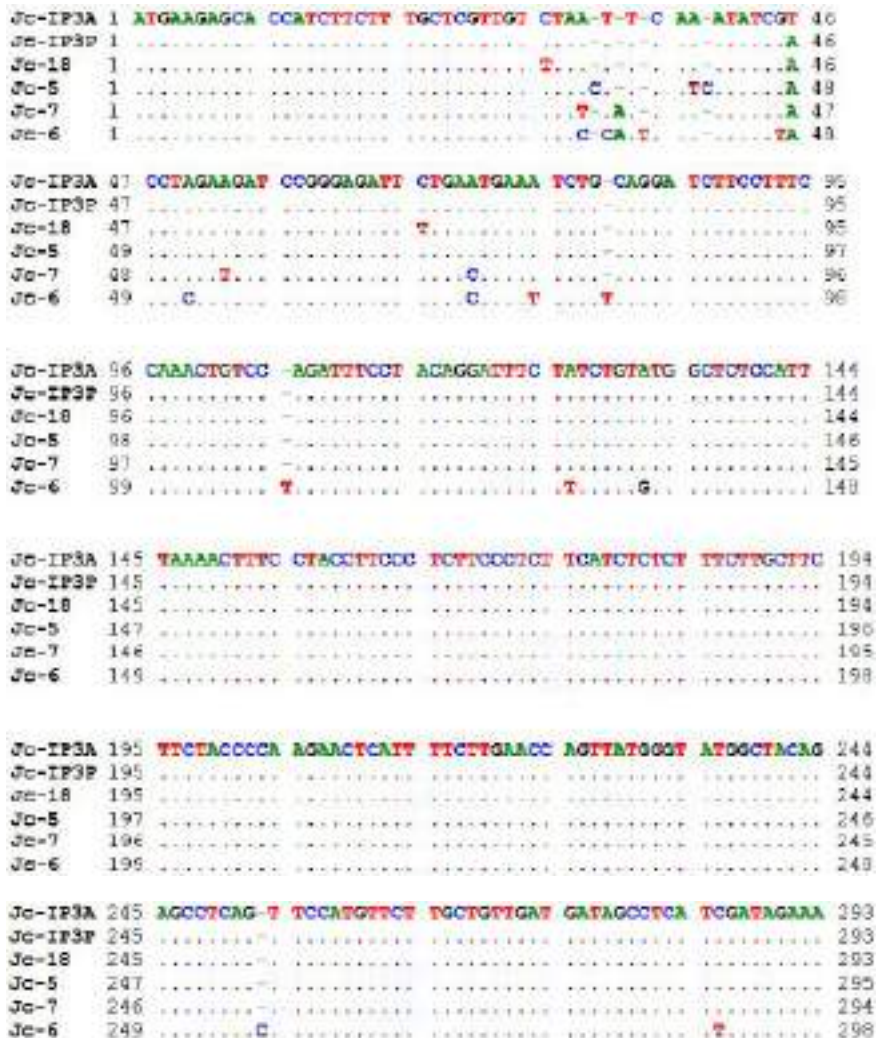
Pensejajaran sekuen untuk membandingkan sekuen-sekuen yang homolog dengan mengidentifikasi insersi, delesi, maupun substitusi (Graur & Li, 2000). Berdasarkan hasil pensejajaran ini, dapat diidentifikasi mutasi yang terjadi. Hasil pensejajaran menggunakan program *BioEdit* ditunjukkan pada Gambar 7.5.



Gambar 7.5 Penjajaran sekuen gen *TI Jatropha curcas* (aksesori IP3A, IP3P, nomor persilangan 18, 7, 6, dan 5) dengan program *BioEdit* (Sumber: Dokumen pribadi)

A. Membaca dan Menyimpulkan Hasil

Hasil sekuensing gen *TI* yang diperoleh dari enam sampel yaitu sepanjang 598-604, disejajarkan menggunakan program *BioEdit* dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 7.6.



Jc-IP3A	294	ATTGATTGAA	AGGCCTCTTA	AAACATCTTC	TTATCATGGT	AGGTTTACTT	343
Jc-IP3P	294	343
Jc-18	294	343
Jc-5	296	345
Jc-7	295	344
Jc-6	299 T	348
Jc-IP3A	344	TTCTTTATT	AATCTGGTCT	CTTAAATTC	TTGTGATCTT	TGAATTTGGT	393
Jc-IP3P	344	393
Jc-18	344	393
Jc-5	346	395
Jc-7	345	394
Jc-6	349	398
Jc-IP3A	394	TATTGATTGT	TATTCCTCTT	TTGTTTCTGT	AGTTACTGCA	CTTCTTTCAG	443
Jc-IP3P	394	443
Jc-18	394	443
Jc-5	396	445
Jc-7	395	444
Jc-6	399	448
Jc-IP3A	444	GAAGTAAAGC	TTTGGATTC	TTGGGTTTAA	ATGAGAGAAG	ACAGATASAT	493
Jc-IP3P	444	493
Jc-18	444	493
Jc-5	446	495
Jc-7	445	494
Jc-6	449	498
Jc-IP3A	494	TCRAACCTTA	CCCTCTTTC	CCCTCCAGGT	GATCATCTTC	AAGATGTTGA	543
Jc-IP3P	494	543
Jc-18	494	543
Jc-5	496	545
Jc-7	495	544
Jc-6	499	548
Jc-IP3A	544	ACTAAATTC	ATCATTACAG	ATTA CT CT	ATGCCACCGA	TGAGATCAT	591
Jc-IP3P	544	591
Jc-18	544 G	592
Jc-5	546 C	594
Jc-7	545	592
Jc-6	549 C	597
Jc-IP3A	592	GAGTAAG					598
Jc-IP3P	592					598
Jc-18	593					599
Jc-5	595					601
Jc-7	593					599
Jc-6	598					604

Gambar 7.6 Penjajaran Sekuen Gen *Trypsin Inhibitor* pada *J. curcas*

Berdasarkan Gambar 7.6, panjang sekuen gen yang berhasil diamplifikasi cukup bervariasi. Panjang sekuen gen *TI* pada sampel Jc-IP3A dan Jc-IP3B mencapai 598 bp. Adapun panjang sekuen gen *TI* pada sampel Jc-18 dan Jc-7 juga sama yaitu 599 bp. Sedangkan pada sampel Jc-6 dan Jc-5 masing – masing sejumlah 604 dan 601 bp.

Selain panjang sekuen gen *TI* yang berbeda pada beberapa sampel, juga ditemukan perbedaan basa nukleotida. Berdasarkan penjabaran sekuen pada Gambar 7.6, ditemukan perbedaan pada beberapa tapak. Perbedaan basa nukleotida tersebut dikelompokkan menjadi dua yaitu insersi dan substitusi. Jumlah tapak yang mengalami insersi sejumlah 9 tapak, sedangkan yang mengalami substitusi sejumlah 15 tapak.

Insersi terjadi pada sampel nomor persilangan 18 (Jc-18), 5 (Jc-5), 7 (Jc-7), dan 6 (Jc-6) jika dibandingkan dengan dua sampel lainnya sebagai pembanding yaitu IPA3A (Jc-IP3A) dan IP3P (Jc-IP3P). Kesembilan tapak yang mengalami insersi antara lain tapak nomor 35, 37, 39, 43, 85, 111, 259, 575, dan 578.

Pada tapak 35, sampel yang mengalami insersi adalah nomor persilangan Jc-5. Pada tapak 37, ada dua sampel yang mengalami perubahan dengan pola insersi yaitu sampel Jc-7 dan Jc-6. Adapun pada tapak 39 dan 43, masing – masing hanya ada satu sampel yang mengalami insersi pada gen *TI*-nya yaitu secara berurutan nomor persilangan Jc-6 dan Jc-5. Berikutnya tapak 85, 111, dan 259 juga ditemukan insersi dan terjadi hanya pada satu sampel yaitu Jc-6. Pada tapak 575, insersi hanya ditemukan pada sampel Jc-18, sedangkan pada tapak 578 pada sampel Jc-5 dan Jc-6. Pola insersi juga dapat dibaca secara paralel sebagai berikut. Insersi yang terjadi pada sampel Jc-5 dapat ditemukan pada tapak 35, 43, dan 578, pada sampel Jc-18 tapak 575, pada sampel Jc-7 tapak 37, dan sampel Jc-6 tapak 37, 39, 85, 111, 259, 578.

Perbedaan basa nukleotida yang ditemukan dari hasil analisis penjajaran sekuen gen *TI* sampel pada penelitian ini adalah substitusi. Substitusi pergantian basa oleh basa yang lain, menyebabkan perubahan pada tapak tersebut. Ada 15 tapak yang mengalami substitusi. Substitusi basa terdiri dari transisi dan transversasi. Substitusi transisi adalah perubahan basa purin oleh basa purin lainnya ($T \leftrightarrow C$) atau basa pirimidin oleh basa pirimidin yang lain ($A \leftrightarrow G$). Pada substitusi transversasi terjadi perubahan basa purin oleh basa pirimidin atau sebaliknya. Pergantian basa yang jarang terjadi adalah transisi yaitu 5 tapak, yaitu tapak ke-36 mengalami pergantian basa $T \leftrightarrow C$, pada tapak ke-31, 71, dan 292 mengalami pergantian basa $C \leftrightarrow T$, dan pada tapak ke-138 mengalami pergantian basa $A \leftrightarrow G$. Transversasi terjadi pada tapak ke-34, 42, 57, 80, 132, dan 323 yaitu perubahan $A \leftrightarrow T$, pada tapak ke-49 yaitu perubahan $G \leftrightarrow T$, pada tapak ke-54 dan 75 yaitu perubahan $A \leftrightarrow C$.

Variasi tapak yang mengalami perubahan substitusi juga dapat dibaca secara paralel pada setiap sampelnya. Jika dibandingkan dengan aksesori Jc-IP3A dan Jc-IP3P sebagai aksesori acuan, sampel nomor persilangan Jc-18 mengalami dua kali substitusi transisi yaitu pada tapak 31 dan 71 serta satu substitusi transversasi pada tapak 50. Pola perubahan basa nukleotida berupa substitusi transisi dan transversasi juga ditemukan pada sampel dengan nomor persilangan Jc-6. Pada sampel tersebut, ada tiga tapak yang mengalami substitusi transisi yaitu tapak 36, 138, dan 292. Sedangkan substitusi transversasi terjadi pada delapan tapak, antara lain 34, 49, 50, 54, 75, 80, 132, dan 323.

Sampel dengan nomor persilangan lainnya memiliki jumlah tapak tersubstitusi yang lebih rendah. Nomor persilangan Jc-5 hanya mengalami substitusi transversasi saja sejumlah dua yang dapat ditemukan pada tapak 42 dan 50. Kasus pada sampel nomor

persilangan Jc-7 juga mengalami hal yang sama. Jenis substitusi yang ditemukan hanya berjenis substitusi transversi. Ada empat tapak yang mengalami substitusi transversi yaitu tapak 34, 50, 57, dan 75.

RANGKUMAN

1. Isolasi DNA adalah pemisahan molekul DNA dari molekul lain seperti dinding sel, membran sel, dan membran inti sehingga strukturnya dapat dilihat dengan jelas.
2. Elektroforesis adalah suatu teknik yang mengukur laju perpindahan atau pergerakan partikel-partikel bermuatan dalam suatu medan listrik. Prinsip kerja dari elektroforesis berdasarkan pergerakan partikel-partikel bermuatan negatif (anion), dalam hal tersebut DNA, yang bergerak menuju kutub positif (anode), sedangkan partikel-partikel bermuatan positif (kation) akan bergerak menuju kutub negatif (anode).
3. Komponen PCR adalah DNA hasil isolasi, primer gen *TI*, DNA *taq* polimerase, buffer *Taq* Polimerase, dNTP'S mix dan dH₂O. Volume total reaksi PCR yang dipergunakan adalah sebanyak 25 µl. Kondisi untuk reaksi PCR dirancang dengan suhu pradenaturasi 94°C (5 menit), denaturasi 94°C (1 menit), penempelan primer 40°C (1 menit), perpanjangan 72°C (2 menit) dan pasca PCR 4°C (2 menit). Untuk perbanyak, siklus reaksi PCR diulang sebanyak 35 kali.
4. Data hasil sekuensing berupa urutan nukleotida disejajarkan menggunakan program *BioEdit Sequence Alignment Editor 7.2.5*, *MEGA 7.0*, *Clustal X*. Program-program ini dikembangkan untuk mempermudah peneliti mempelajari materi genetik berbasis sekuensing.

EVALUASI

1. Jelaskan fungsi bahan kimia untuk proses isolasi DNA genom tanaman!
2. Bagaimanakah cara isolasi DNA genom tanaman menggunakan buffer CTAB?
3. Jelaskan prinsip kerja alat elektroforesis!
4. Jelaskan proses PCR menggunakan primer gen *TI*!
5. Sekuen berbagai macam gen dari berbagai macam organisme dapat diunduh dari *genebank*. Unduhlah gen dari berbagai macam organisme dan analisislah potensi mutasi yang terjadi.

REFLEKSI BELAJAR

Setelah mempelajari materi ini,

1. Tuliskan hal baru apa saja yang Saudara peroleh!
2. Bagian mana dari materi ini yang sulit Saudara pahami?
3. Apa saja upaya belajar Saudara pada materi ini?
4. Apa saja manfaat/ dampak yang Saudara peroleh setelah mempelajari materi ini?

DAFTAR RUJUKAN

- Anandhan, S., Insaf A. Qureshi and K.R. Koundal. 2010. The Cowpea Trypsin Inhibitor Promoter Drives Expression in Response to Cellular Maturation in *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, 16 (1): 31-37.
- Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. & Stuhl, K. 1994. *Current Protocols in Molecular Biology*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Clark, D. 2005. *Molecular Biology*. Illinois: Elsevier Academic Press.

- Fan, S. G., Wu, G. J. 2005. Characteristics of Plant Proteinase Inhibitors and Their Applications in Combating Phytophagous Insects. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46: 273-292.
- Graur, D., Wen-Hsiung, L. 2000. *Fundamentals of Molecular Evolution 2nd Edition*. Sunderland: Sinauer Associates Inc.
- Kidric, M., Kos, J., Sabotic, J. 2014. Proteases and Their Endogenous Inhibitors in The Plant Response to Abiotic Stress. *Botanica Serbica*, 38 (1): 139-158.
- Klug, W. S. & M. R. Cummings. 1994. *Concepts of Genetics 4th ed.* Prentice Hall, Englewood.
- Lawrence, P.K. and Koundal, K.R. 2002. Plant Protease Inhibitors in Control of Phytophagous Insects. *EJB Electronic Journal of Biotechnology*, 5 (1): 93-109.
- Maftuchah & Zainudin, A. 2007. *Studi Pendahuluan Variasi Genetik Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Lokal Berdasarkan Random Amplified Polymorphic DNA*. Lokakarya Nasional III Inovasi Teknologi Jarak Pagar untuk Mendukung Program Desa Mandiri Energi, Malang, 5 November.
- Maftuchah. 2009. *Petunjuk Praktikum Dasar-dasar Bioteknologi Tanaman*. Malang: Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- Mendoza-Blanco, W. and Casaretto, J.A. 2012. The Serine Protease Inhibitors and Plant-Insect Interaction. *IDESIA (Chile)*, 30: 121-126.
- Primandiri, P.R., Amin, M., Maftuchah. 2012. *Analisis Molekuler Gen CpTI (Cowpea Trypsin Inhibitor) Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Toleran Cekaman Kekeringan*. Prosiding Seminar Nasional MIPA dan Pembelajaran, Malang, 13 Oktober.

- Sanchez-H. C., Martinez-G. N., Guerrero-R. A., Valdes-R. S., Delano-F. J. 2004. Trypsin and Alpha-Amylase Inhibitors are Differentially Induced in Leaves of Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) in Response to Biotic and Abiotic Stress. *Physiol Plantarum*, 122: 254-264.
- Shan, L., Li, C., Chen, F., Zhao, S., Xia, G. 2008. A Bowman-Birk Type Protease Inhibitor is Involved in the Tolerance to Salt Stress in Wheat. *Plant, Cell and Environment*, 31: 1128–1137.
- Srinivasan, T., Kumar, K. R. R., Kirti, P. B. 2009. Constitutive Expression of a Trypsin Protease Inhibitor Confers Multiple Stress Tolerance in Transgenic Tobacco. *Plant Cell Physiol*, 50 (3): 541-553.
- Walker, J.M. & Rapley, R. 2002. *Molecular Biology and Biotechnology 4th Edition*. Royal Society of Chemistry.

GLOSARIUM

Adenin (A) Basa purin yang berpasangan dengan timin, ditemukan dalam DNA atau RNA

Aneuploidi Memiliki jumlah kromosom berbeda yang tidak beraturan

Antikodon Kelompok tiga basis komplementer pada tRNA yang mengenali dan mengikat kodon pada mRNA

Antiparalel Paralel, tapi berjalan dalam arah yang berlawanan

Asam amino Monomer dari mana rantai protein polipeptida dibuat

Asam Nukleat Kelas molekul polimer yang terdiri dari nukleotida yang membawa informasi genetik

Autosom Kromosom yang terpaut sifat

Bakteriofag Virus yang menginfeksi bakteri

Basa zat kimia alkali, dalam biologi molekular terutama mengacu pada senyawa nitrogen siklik yang ditemukan dalam DNA dan RNA

deoxyribonucleic acid (DNA)

Deoxyribose: Gula dengan lima atom karbon yang ditemukan dalam DNA DNA Asam deoksiribonukleat, polimer asam nukleat dimana gen dibuat.

Difraksi

Diploid

DNA polimerase Enzim yang berfungsi mengkatalisis pemanjangan DNA dengan cara menambahkan nukleotida pada rantai DNA

Dogma sentral Rencana dasar aliran informasi genetik pada sel hidup yang menghubungkan gen (DNA), pesan (RNA) dan protein

Elektroforesis Teknik pemisahan biomolekul DNA atau protein dengan menggunakan matriks agarose melalui perbedaan muatan sehingga memisahkan DNA berdasarkan berat molekul

Eukromatin Kromatin normal, berlawanan dengan heterochromatin Fosfat

Fosfodiester Keterkaitan antara nukleotida dalam asam nukleat yang terdiri dari gugus fosfat sentral yang dipercayakan pada gugus hidroksil gula di kedua sisi

Gen Penentu suatu sifat pada organisme yang terdiri dari molekul-molekul DNA yang teratur secara linier yang dapat diturunkan pada generasi berikutnya

Genom Semua informasi genetik suatu organisme termasuk semua DNA yang membentuk gen

Gonosom Kromosom terlibat dalam menentukan jenis kelamin individu

Guanin (G) Bina purin ditemukan dalam DNA atau RNA yang berpasangan dengan sitosin

Haploid

Heliks ganda dibentuk dengan memutar dua helai DNA secara spiral satu sama lain

Heterochromatin Bentuk kromatin yang sangat kental yang tidak dapat ditranskripsi karena tidak dapat diakses oleh RNA polymerase

Histon Protein dengan berat molekul kecil, bermuatan positif, yang mampu berikatan dengan untai DNA yang bermuatan negatif sehingga berperan dalam struktur kromatin

Interfase

Ikatan hidrogen Ikatan yang dihasilkan dari daya tarik atom hidrogen positif ke dua atom lain dengan muatan negatif

Ikatan peptida Jenis ikatan kimia yang menahan asam amino bersama-sama dalam molekul protein

Kariotipe Kumpulan kromosom lengkap yang ditemukan di sel individu tertentu

Kinetokor Struktur protein yang menempel pada DNA sentromer selama pembelahan sel dan juga mengikat mikrotubulus

Kromatin Kompleks DNA plus protein yang merupakan kromosom eukariotik

Kode triplet Kumpulan huruf-huruf yang menentukan asam amino pada ranpai polipeptida

Kodon Suatu urutan DNA atau mRNA yang terdiri atas 3 nukleotida yang menspesifikasi asam amino fungsional; unit dasar kode genetik

Kromosom bentuk packaging DNA yang terlihat pada fase metafase

Ligase Enzim yang berfungsi menyatukan 2 fragmen DNA pada fragmen Okazaki

Nukleosom

Nukleolus

Nukleotida: Monomer atau subunit asam nukleat, terdiri dari gula pentosa ditambah basa ditambah kelompok fosfat.

mRNA Molekul yang membawa informasi genetik dari gen ke sel lainnya

Mutasi perubahan pada DNA atau kromosom yang terjadi secara acak dan tiba-tiba

Pasangan basa Dua basa yang disatukan oleh ikatan hidrogen

PCR teknologi molekuler yang bertujuan untuk mengamplifikasi sekuen DNA secara enzimatik melalui pengaturan suhu

Pentosa: Lima gula karbon, seperti gugus fosfat ribosa atau deoksiribosa. Kelompok empat atom oksigen di sekitar

atom fosfor sentral yang ditemukan di tulang punggung DNA dan RNA.

Pirimidin Jenis basa nitrogen dengan cincin tunggal ditemukan pada DNA dan RNA

Ploidi Jumlah set kromosom yang dimiliki oleh suatu organisme
Polisakarida

Primer Untai asam nukleat pendek yang berfungsi sebagai titik awal inisiasi sintesis DNA

Promoter Urutan DNA di depan gen, digunakan untuk regulasi dan bukan untuk mengkodekan protein

Purin Jenis basa nitrogen dengan cincin ganda ditemukan pada DNA dan RNA

Replikasi Duplikasi DNA sebelum pembelahan sel
ribonucleic acid (RNA) Asam nukleat yang berbeda dari DNA dalam memiliki ribose menggantikan deoxyribose

Ribosa Gula 5-karbon ditemukan di RNA

rRNA Kelas molekul RNA yang merupakan bagian dari struktur ribosom

Satelit

Sentromer Daerah kromosom eukariotik, biasanya lebih atau kurang sentral, dimana mikrotubulus menempel selama mitosis dan meiosis.

Sitosin (C) Salah satu pirimidin yang ditemukan dalam DNA atau RNA dan pasangan dengan guanin

Solenoid

Telomer Urutan khusus DNA ditemukan pada akhir kromosom eukariotik linier

Tetraploid Memiliki empat salinan dari setiap gen

Triploid Memiliki tiga salinan dari setiap gen

Trisomi Memiliki tiga salinan kromosom tertentu

Timin (T) Basa pirimidin ditemukan pada DNA yang berpasangan dengan adenin

Transformasi

Transkripsi Sintesis RNA berdasarkan satu untai DNA sebagai cetakan

Translasi Sintesis polipeptida berdasarkan urutan rantai mRNA

tRNA molekul RNA yang membawa asam amino ke ribosom

Urasil (U) Basa pirimidin ditemukan di RNA yang bisa dipasangkan dengan adenin

Virus Parasit subselluler dengan materi genetik DNA atau RNA yang bereplikasi di dalam sel inang untuk sintesis energi dan protein. Selain itu, ia memiliki bentuk ekstraselular, di mana gen virus terkandung di dalam lapisan pelindung