

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perbedaan ciri fenotip individu merupakan hasil dari informasi genetik dan pengaruh lingkungannya. Beberapa individu yang berasal dari keturunan yang sama boleh jadi berbeda setelah tinggal pada daerah dengan perbedaan kondisi lingkungan yang sangat signifikan. Melalui persilangan ataupun perkawinan, informasi genetik seseorang dapat diturunkan. Informasi genetik tersebut adalah *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) yang sangat berperan dalam penurunan sifat. Setiap sel individu terdapat DNA, DNA terdapat dalam organel sel lain yaitu mitokondria yang dikenal sebagai DNA mitokondria [1].

DNA mitokondria (mtDNA) pada manusia mempunyai sifat genetik khusus yang membedakannya dari genom inti. Pada manusia DNA mitokondria diturunkan dari ibu tanpa rekombinasi dari ayah. Sel manusia memiliki ribuan kopi mtDNA yang sama [2]. Keunikan dari DNA mitokondria yaitu memiliki laju mutasi yang lebih tinggi dari pada DNA inti, laju mutasi gen - gen DNA mitokondria yaitu 10 - 17 kali lebih cepat dari pada proses fosforilasi oksidatif yang terlibat yang dikode oleh DNA inti [3].

Perbedaan dari mtDNA dengan DNA inti terletak pada kuantitas sel, lokasi, urutan, dan cara pewarisannya dari orang tua kepada keturunannya. Satu inti sel mengandung 2 set kromosom, yang terdiri atas set paternal dan set maternal. Masing- masing set ini terdiri atas 23 kromosom. Mitokondria dalam sel dapat mengandung ratusan hingga ribuan mitokondria dan setiap mitokondria dapat memiliki beberapa salinan mtDNA. DNA mitokondria memiliki jumlah basa yang lebih sedikit dari pada DNA inti, akan tetapi molekul mtDNA dapat memiliki jumlah kopian yang lebih banyak dari pada molekul DNA inti [3].

Gen – gen penyandi rRNA 12s dan 16S, 22 tRNA berada dalam genom mitokondria serta 13 protein sub unit kompleks enzim rantai respirasi juga memiliki urutan nukleotida non penyandi yang disebut dengan daerah *D-Loop*. Daerah *D-Loop* dalam DNA mitokondria ini memiliki keunikan yaitu memiliki tingkat polimorfisme yang tertinggi. Daerah *D-Loop* memiliki laju evolusi lebih cepat lima kali lipat dibandingkan dengan daerah genom lain yang terdapat dalam mitokondria

[4]. Sehingga dapat digunakan untuk menentukan identitas seseorang atau etnis tertentu dan evolusi serta migrasi global manusia. Kegunaan dari DNA mitokondria lainnya dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang seperti bidang forensik, penentuan hubungan kekerabatan, dan identifikasi penyakit keturunan, serta studi evolusi dan migrasi global manusia modern [2]. Noer, dkk (1994) mengemukakan bahwa ditemukan adanya polimorfisme pada penduduk Indonesia di daerah *D-Loop*. Dimana dari tiga keluarga yang berasal dari tiga daerah yang berbeda ditemukan tiga varian baru (morf). Selain itu Gaffar (1998) menemukan bahwa pada 10 individu Indonesia ditemukan adanya 24 varian normal mtDNA daerah *D-Loop* [4].

Urutan nukleotida pada daerah *D-Loop* memiliki dua daerah, yaitu daerah Hipervariabel 1 (HV1) dan daerah Hipervariabel 2 (HV2). Selama ini sifat hipervariabel dihubungkan dengan perbandingan urutan dan mutasi nukleotida mtDNA antar individu, suku, dan usia [5]. Hasil analisis ini diharapkan dapat melengkapi urutan mtDNA dan memberikan kontribusi tambahan terhadap *data base* mtDNA manusia. Penelitian ini merupakan upaya untuk mendapatkan *data base* varian normal mtDNA manusia Indonesia.

Penelitian ini khusus untuk menentukan dan menganalisis pola variasi urutan nukleotida ukuran 1,0 kb daerah *D-Loop* mtDNA manusia suku Sunda di Kampung Naga dan Kuta. Kedua kampung adat tersebut merupakan kampung asli, karena daerah tersebut masih melestarikan budaya suku Sunda asli, salah satunya dengan adanya peraturan adat yaitu tidak adanya perkawinan campuran dengan masyarakat luar atau sistem perkawinan endogami dan sangat mendukung dalam penelitian ini [6].

Menurut Iman P. (2008) suku Sunda merupakan salah satu etnis yang memiliki ketidakjelasan mengenai informasi sejarah karena kurangnya peninggalan sejarah dan kurangnya penelitian - penelitian mengenai suku Sunda asli. Handoko dkk (2001) mendapatkan informasi hubungan kekerabatan kelompok etnik Indonesia di luar suku Sunda berdasarkan analisis variasi nukleotida menggunakan *Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) [6]. Berdasarkan hal tersebut, sangat menarik dilakukan penelitian guna untuk menentukan adanya morf atau varian baru pada individu suku adat Sunda.

Hasil yang diperoleh dapat dijadikan acuan dalam skala besar dalam menentukan pola genetik mtDNA.

Dalam praktiknya, perbedaan antara kedua individu yang berasal dari dua daerah tersebut akan dilihat perubahan basa (mutasi). Untuk menentukan urutan nukleotida, maka akan dilakukan beberapa tahapan penelitian diantaranya, isolasi mtDNA sampel menggunakan sampel akar rambut, yang kemudian diamplifikasi menggunakan teknik PCR pada daerah *D-Loop*, dan sekuensing serta analisis urutan nukleotida hasil sekuensing [2].

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka permasalahan yang perlu dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana variasi yang terjadi pada individu normal suku Sunda (kampung Naga dan kampung Kuta) dengan pembandingan *Cambridge*?
2. Bagaimana morf atau varian baru pada individu normal suku Sunda (kampung Naga dan kampung Kuta) dengan pembandingan dari *Homo Sapiens* suku Baduy, Sunda, Jawa (Sangiran), dan Madura ?
3. Bagaimana hubungan kekerabatan *Homo Sapiens* Naga dan Kuta dengan *Homo Sapiens* Baduy, Sunda, Jawa (Sangiran), dan Madura berdasarkan analisis filogenetik?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan permasalahan yang telah dirumuskan, penelitian ini akan dibatasi pada beberapa masalah berikut:

1. DNA mitokondria yang digunakan berasal dari akar rambut individu normal di suku adat Sunda (Naga dan Kuta).
2. Lisis sampel DNA mitokondria menggunakan *buffer* lisis.
3. Amplifikasi dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan pada daerah *D-Loop* DNA mitokondria menggunakan primer M1 dan HV2R.
4. Penentuan ukuran fragmen hasil PCR menggunakan *marker GeneRuler 1 Kb DNA Ladder*.
5. Sekuensing hasil PCR menggunakan metode *Dideoksi Sanger* dengan primer M1.

6. Analisis urutan nukleotida hasil sekuensing menggunakan program *SeqMan Pro* DNA.
7. Perbandingan urutan nukleotida *Homo Sapiens* yang digunakan sebagian berasal dari suku Jawa, yaitu Sangiran dan Madura.
8. Analisis pohon filogenetik menggunakan program *Mega 5.2*.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang diajukan, tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan variasi yang terjadi pada individu normal suku Sunda (kampung Naga dan kampung Kuta) dan individu bukan suku Sunda dengan perbandingan *Cambridge*.
2. Menentukan morf atau varian baru pada individu normal suku Sunda (kampung Naga dan kampung Kuta) dengan perbandingan dari *Homo Sapiens* suku Baduy, Sunda, Jawa (Sangiran), dan Madura.
3. Menentukan hubungan kekerabatan *Homo Sapiens* Naga dan Kuta dengan *Homo Sapiens* Baduy, Sunda, Jawa (Sangiran), dan Madura berdasarkan analisis filogenetik.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi untuk pendidikan, atau di bidang lainnya yang memiliki kaitan keperluan dengan identifikasi urutan nukleotida pada daerah D-Loop pada individu suku adat Sunda. Selain itu untuk menambah informasi atau *database* mengenai profil genetik DNA mitokondria manusia yang tinggal di kampung adat khususnya Sunda.