



UP PRESS 2021

Buku Ajar Genetika Ternak

Tahun Ajaran 2021

Disusun Oleh : Putri Zulia Jati

PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS PAHLAWAN TUANKU TAMBUSA
2021

KATA PENGANTAR

Genetika adalah merupakan suatu ilmu yang mempelajari hal-hal tentang gen mulai dari susunan kimia gen, peranan gen dalam penentuan sifat atau performans suatu individu dan cara penurunan sifat-sifat individu yang ditentukan oleh gen itu sendiri. Kalau kita pelajari, maka semua sifat-sifat individu mulai dari amuba, bakteri, virus, tanaman, hewan, sampai pada manusia ditentukan oleh gen yang ada pada mahluk tersebut. Sifat-sifat tersebut akan muncul dengan dukungan lingkungan yang cocok atau sesuai dengan diharapkan oleh mahluk yang bersangkutan. Suatu sifat akan muncul atau ditunjukkan oleh individu sesuai dengan potensi genetik yang menentukan sifat tersebut apabila mendapat lingkungan yang cocok. Apabila lingkungan tidak mendukung, maka fenotip yang muncul atau diperlihatkan oleh individu yang bersangkutan tidak sesuai dengan potensi genetik yang dibawanya.

Bahan ajar ini dibuat untuk menunjang mata kuliah Genetika semester 2. Dengan adanya bahan ajar ini diharapkan mahasiswa Fakultas Teknik Prodi Peternakan semester 2 lebih mudah memahami mata kuliah Genetika.

Pada kesempatan ini kami juga mengucapkan terima kasih kepada Bapak Rektor Universitas Pahlawan Tuanku Tambusai, Dekan Fakultas Teknik Prodi Peternakan Universitas Pahlawan Tuanku Tambusai serta semua pihak yang turut membantu dalam pembuatan bahan ajar ini. Segala bentuk kritik dan saran kami terima dengan lapang dada untuk dijadikan pertimbangan guna perbaikan bahan ajar ini.

Bangkinang, Februari 2021

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
I. PENDAHULUAN	1
II. SEX, KROMOSOM DAN GEN	1
III. FUNGSI GEN	5
IV. MUTASI GEN DAN ABERASI KROMOSOM	6
V. PENURUNAN SIFAT (HUKUM MENDEL)	8
VI. PENYIMPANGAN HUKUM MENDEL	18
VII. SIFAT-SIFAT MULTI FAKTOR	21
VIII. DETERMINASI SEKS	27
IX. PENURUNAN SIFAT TERKAIT SEKS	33
X. PENURUNAN SIFAT LETHAL	38
XI. HUKUM KEMUNGKINAN (PROBABILITY)	40
XII. PENELITIAN GENETIKA	46
XIII. UJI HIPOTESIS GENETIKA (CHI-SQUARE TEST)	49
XIV. ANALISIS DNA	51
XV. REKAYASA/MANIPULASI GEN	62
XVI. TRANSGENIK	69

I. PENDAHULUAN

Genetika adalah merupakan suatu ilmu yang mempelajari hal-hal tentang gen mulai dari susunan kimia gen, peranan gen dalam penentuan sifat atau performans suatu individu dan cara penurunan sifat-sifat individu yang ditentukan oleh gen itu sendiri. Kalau kita pelajari, maka semua sifat-sifat individu mulai dari amuba, bakteri, virus, tanaman, hewan, sampai pada manusia ditentukan oleh gen yang ada pada makhluk tersebut. Sifat-sifat tersebut akan muncul dengan dukungan lingkungan yang cocok atau sesuai dengan diharapkan oleh makhluk yang bersangkutan. Suatu sifat akan muncul atau ditunjukkan oleh individu sesuai dengan potensi genetik yang menentukan sifat tersebut apabila mendapat lingkungan yang cocok. Apabila lingkungan tidak mendukung, maka fenotip yang muncul atau diperlihatkan oleh individu yang bersangkutan tidak sesuai dengan potensi genetik yang dibawanya.

Pada individu khususnya ternak sifat-sifat yang dimiliki dapat digolongkan atas dua macam yaitu sifat kualitatif dan sifat kuantitatif. Sifat kualitatif seperti warna bulu, ada tidaknya tanduk, dan sebagainya ditentukan oleh satu atau dua pasang gen, sedangkan sifat kuantitatif seperti produksi daging, produksi telur, produksi susu, dan sebagainya ditentukan oleh banyak gen (multi faktor).

Dalam ilmu genetika ini akan lebih banyak dibahas mengenai sifat kualitatif, sedangkan sifat kuantitatif akan dibahas pada mata kuliah Ilmu Pemuliaan Ternak. Namun sebelumnya perlu diketahui terlebih dahulu, apa sebenarnya gen tersebut, dimana terdapatnya gen, bagaimana cara kerja gen dalam menghasilkan sifat atau fenotip yang dimiliki oleh makhluk atau ternak tertentu.

II. SEL, KROMOSOM, PEMBELAHAN SEL DAN GEN

Sel

Ternak dan semua makhluk hidup, tubuhnya tersusun oleh materi yang disebut sel. Sel adalah bagian terkecil yang menyusun tubuh ternak, tanaman maupun makhluk hidup yang lain termasuk manusia. Kebanyakan sel tersusun oleh dua bagian utama yaitu inti (*nucleus*) dan plasma sel (*cytoplasm*), bagian terluar dari sel disebut membran sel yang berperan sebagai bingkai atau dinding yang mempertahankan bentuk sel itu sendiri. Melalui dinding sel ini akan terjadi keluar masuknya bahan atau substansi yang diperlukan untuk kehidupan sel tersebut.

Inti sel berada kira-kira dekat pertengahan sel, merupakan otaknya sel karena membawa materi genetik yang mengatur sintesis bahan-bahan yang dibutuhkan oleh fungsi sel dan fungsi tubuh disamping untuk reproduksi. Pada kebanyakan mamalia, butir-butir darah merahnya akan kehilangan intinya apabila berfungsi khusus untuk memyang bawa oksigen dari paru-paru ke berbagai bagian tubuhnya yang lain.

Plasma sel jumlahnya cukup banyak misalnya seperti kuning telur pada telur ayam yang tidak dibuahi. Kadang-kadang bisa berbentuk panjang seperti pada sel syaraf atau kadang-kadang jumlahnya sangat sedikit seperti pada sel spermatozoa. Dalam plasma sel terdapat banyak produk sekresi seperti *lipid droplets* dan banyak struktur khusus seperti *organelles* (aparatus Golgi, ribosom, mitokondria, dan lisosom) yang berperan penting dalam fungsi/ kehidupan sel. Telah diketahui bahwa aparatus Golgi terdiri dari satu atau lebih kantong-kantong kecil yang disebut *sacculles* atau *cisternae* dan berfungsi dalam sintesa karbohidrat dari gula sederhana dan memiliki banyak fungsi vital dalam tubuh. Aparatus golgi dalam sel usus menghasilkan sekresi mucus yang menutupi dinding usus dan membentuk lapisan pelindung terhadap masuknya bakteri dan bahan-bahan lain. Ribosom adalah organel plasma sel tempat terjadinya sintesa protein dari asam amino. Protein ini terbentuk oleh kerja gen tertentu. Mitokondria adalah organel yang dijumpai dalam sel semua tanaman dan binatang. Organel ini berperan dalam menghasilkan energi atau tenaga dalam bentuk adenosin trifosfat (ATP) untuk bekerjanya sel. Mitokondria mengandung asam nukleat DNA dan RNA serta aparatus yang digunakan untuk menghasilkan protein sendiri. Lisosom berbentuk lonjong dan kecil yang mengandung enzim pencernaan yang terlindung dalam lapisan yang sangat halus (tipis) dan tidak dikeluarkan di dalam sel. Bila lapisan halus tersebut rusak akan berakibat lepasnya enzim langsung ke sel yang menyebabkan hancurnya sel itu sendiri. Lisosom memiliki berbagai fungsi seperti; pembunuh bakteri atau benda asing lain yang mungkin masuk dalam aliran darah dan ada kemungkinan memegang peranan dalam kejadian penyakit kanker. Abnormalitas kerja lisosom dapat berhubungan erat dengan patologi tertentu seperti timbulnya tumor, infeksi virus, gangguan otot, dll.

Kromosom

Kromosom adalah materi yang berbentuk seperti benang, terdapat dalam inti sel dan dapat dilihat apabila dilakukan pewarnaan pada fase tertentu dari pembelahan sel. Kromosom selalu terdapat berpasangan dalam sel tubuh dan tidak berpasangan dalam sel kelamin. Pasangan kromosom tersebut diistilahkan dengan kromosom yang homolog (*homologous chromosomes*). Setiap sel tubuh (*somatic cell*) biasanya berisi sejumlah pasangan kromosom (tergantung pada spesiesnya) yang disebut autosom dan satu pasang kromosom kelamin (*sex chromosomes*) yang berperan dalam penentuan

jenis kelamin. Pada mamalia, kromosom kelaminnya terdiri dari satu kromosom X dan satu kromosom Y. Kromosom Xnya lebih besar dan lebih panjang daripada kromosom Y. Untuk hewan jantan kromosom kelaminnya adalah XY sedangkan untuk yang betina adalah XX. Pada Unggas kromosom kelaminnya berbeda dengan mamalia. Pada unggas jantan kromosom kelaminnya homolog (ZZ) dan yang betina tidak homolog (ZW)

Teknik yang digunakan untuk mempelajari kromosom adalah melalui teknik kultur sel secara *in vitro*. Prinsip yang digunakan adalah menempatkan sel tertentu misalnya sel-sel darah putih (*lymphocytes*) kedalam media kultur yang tepat sehingga mampu merangsang sel tersebut untuk membelah diri. Kemudian ditambahkan *colchicines* untuk menghentikan pembelahan sel pada stadium metaphase. Selanjutnya larutan garam *Hank's* ditambahkan dan diikuti dengan air destilasi (*hypotonic*) untuk mengembangkan kromosomnya. Larutan yang mengandung sel-sel tersebut kemudian ditaruh diatas gelas preparat, diratakan agar tipis dan merata, kemudian dikeringkan dan diwarnai untuk dipelajari dibawah mikroskop. Preparat yang telah diwarnai kebanyakan memperlihatkan sel-sel pada stadium metaphase yang kromosomnya mudah dilihat. Kromosom kemudian dihitung atau difoto (*photomicrograph*) dan bisa diperbesar agar lebih mudah mengatur pasangannya sebagai suatu *karyotype* (Gb.1). Kromosom-kromosom tersebut bervariasi dalam bentuk, ukuran dan posisi centromeranya (yaitu titik dimana pertautan kromosom masih terjadi sebelum pembelahan secara sempurna terjadi. Posisi centromere digunakan untuk mengklasifikasi kromosom tersebut. Kromosom dengan centromere yang ditengah-tengah disebut Kromosom *metacentric*, yang centromeranya agak keujung disebut *submetacentric*, yang centromeranya mendekati ujung disebut *acrocentric* dan yang centromeranya diujung disebut *telocentric*. Jumlah kromosom pada inti sel beberapa jenis ternak dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Jumlah dan jenis kromosom pada inti sel beberapa jenis ternak dan manusia

Jenis (Species)	Jumlah kromosom (2n)	Autosom	Kromosom seks
Sapi (<i>Bos taurus</i>)	60	58	2 (X dan Y)
Sapi (<i>Bos indikus</i>)	60	58	2 (X dan Y)
Bison (<i>Bos bison</i>)	60	58	2 (X dan Y)
Kambing (<i>Capra hircus</i>)	60	58	2 (X dan Y)
Biri-biri (<i>Ovis aries</i>)	54	52	2 (X dan Y)
Babi (<i>Sus scrofa</i>)	38	36	2 (X dan Y)
Kuda (<i>Equus caballus</i>)	64	62	2 (X dan Y)
Keledai (<i>Equus asinus</i>)	62	60	2 (X dan Y)
Ayam (<i>Gallus domesticus</i>)	78	76	2 (Z dan W)

Manusia	46	44	2 (X dan Y)
---------	----	----	-------------

Pembelahan Sel

Pembelahan sel ada dua macam yaitu *meiosis* yang terjadi pada pembentukan sel kelamin (*gametes*) sehingga diistilahkan pula dengan gametogenesis yaitu *spermatozoa* dan *ovum*) dan *mitosis* yang terjadi pada sel tubuh (*somatic cells*). Suatu individu akan terjadi akibat pertemuan antara sel kelamin jantan (*spermatozoon*) dengan sel telur (*ovum*) yang diistilahkan dengan terjadinya fertilisasi membentuk satu sel tunggal yang disebut *zygote*. *Zygote* ini kemudian membelah menjadi dua, kemudian menjadi empat, delapan, 16, 32 dst., dan pembelahan ini yang disebut *mitosis*, membentuk organ-organ tubuh dan akhirnya menjadi satu individu lengkap dan lahir menjadi mahluk/individu baru.

Pembelahan *meiosis* ada dua macam yaitu spermatogenesis (pembentukan sel kelamin jantan/spermatozoa) dan oogenesis (pembentukan sel kelamin betina/ovum). Pada *meiosis* baik spermatogenesis maupun oogenesis jumlah kromosom tidak lagi masih berpasangan ($2n$) tetapi sel-sel yang terbentuk akan membawa kromosom tunggal (*haploid*) yaitu n kromosom (tidak berpasangan). Untuk lebih jelasnya proses *meiosis* yang terjadi pada gametogenesis dapat dilihat Gb.3 untuk spermatogenesis dan Gb.4 untuk oogenesis.

Gen

Gen adalah merupakan bagian dari molekul **DNA (Deoxyribo Nucleic Acid)** yang merupakan unit biologi terkecil yang berperan dalam penurunan sifat suatu individu dari tetuanya kepada anak keturunannya. Gen jumlahnya ribuan dan terdapat sepanjang kromosom kira-kira ditengah-tengahnya. Masing-masing gen menempati posisi tertentu yang disebut *locus* pada kromosom. Molekul DNA berbentuk spiral yang panjang seperti tangga tali dengan dua sisi (*strands*) yang diputar. Masing-masing sisi (*strand*) disebut *polymer* (*poly* berarti banyak dan *mer* berarti bagian) karena terdiri dari banyak bagian (*unit*) yang disebut *nucleotides*. Setiap *nucleotide* terdiri dari basa nitrogen (*purine* atau *pyrimidine*) yang diikat oleh gula dan gula ini terikat dengan asam phosphate. *Nucleotide* –*nucleotide* dalam molekul DNA berikatan satu dengan yang lain dimana gula pada satu *nucleotide* berikatan dengan phosphate *nucleotide* yang lain (Gb.5).

Materi kimia yang menyusun molekul DNA terdiri dari:

- Basa Nitrogen yaitu *purine* terdiri dari Adenine (A) dan Guanine (G) dan *pyrimidine* yang terdiri dari Thymine (T) dan Cytocine (C)
- Gula deoxyribose (S) dengan 5 atom C, dan

- Molekul asam phosphate (P)

Kedua sisi (strands) molekul DNA dihubungkan oleh dua basa dengan ikatan hydrogen, dimana Adenine selalu berikatan dengan Thymine (A=T) dan guanine selalu dengan cytosine (G=C).

Rata-rata gen (yang kadang-kadang disebut *cistron*) kira-kira terdiri dari **600 bp** (base pairs), tapi beberapa gene ada yang lebih banyak dan beberapa gen ada yang lebih sedikit. Asam nukleat lain yang juga terdapat pada inti dan plasma sel adalah **RNA (*Ribo Nucleic Acid*)**. RNA berbeda dengan DNA karena mengandung gula ribose (bukan deoxyribose) dan base yang dikandungnya adalah Uracil (bukan Thymine) dengan demikian maka pada RNA, Adenine selalu berikatan dengan Uracil

III. FUNGSI GEN

Gen mempunyai beberapa fungsi didalam sel seperti; duplikasi, memproduksi molekul RNA, dan menyimpan informasi yang diperlukan untuk sintesa berbagai protein. Pada proses mitosis maupun meiosis kromosom mengalami duplikasi. Duplikasi ini persis sama kecuali apabila terjadi mutasi atau *crossing over* (antarkromosom yang homolog). Pada saat proses duplikasi, molekul DNA mengalami perubahan bentuk yaitu tidak berbentuk spiral tetapi lurus, kemudian membelah menjadi dua molekul DNA baru yang persis sama dengan molekul DNA semula. Duplikasi gen yang persis sama pada kromosom sangat diperlukan untuk keberlangsungan hidup individu, kesehatan yang normal dan performans individu yang bersangkutan. Apabila gen tidak mengalami duplikasi yang persis sama, maka ini yang diistilahkan dengan mutasi, dan kebanyakan mutasi memperlihatkan performans yang tidak baik.

Gen berperan dalam memproduksi semua protein dalam tubuh ternak, dan protein mempunyai fungsi yang vital untuk kehidupan ternak. Protein terdapat pada semua bagian tubuh ternak seperti; daging, organ dalam, kulit, bulu, wool, tanduk, kuku, sel darah, dll. Enzym yang diperlukan untuk berbagai fungsi vital dalam tubuh ternak tersusun dari protein, demikian pula dengan hormone terutama yang disekresikan oleh kelenjar pituitaria yang merupakan kelenjar utama dalam tubuh ternak. Protein terdiri dari rantai asam-asam amino panjang yang saling berikatan oleh peptide, dimana molekul karbon berikatan dengan molekul nitrogen. Dalam tubuh ternak terdapat ribuan macam protein, tergantung pada jenis, jumlah dan bentuk ikatan 20 atau lebih molekul asam amino yang berikatan pada molekul protein yang panjang. Gen (molekul DNA) berfungsi menentukan kode yang dikirim oleh RNA ke ribosom dalam plasma sel untuk

membentuk protein tertentu pada kebanyakan organisme (kecuali pada jenis virus tertentu menggunakan RNA langsung sebagai materi genetik). Molekul mRNA mengirim kode yang diterima dari DNA dalam bentuk triplets (codon) seperti UUU, UUC, UUG, dsb. yang jumlahnya ada 64 macam. Masing-masing asam amino ditentukan oleh codon tertentu, tetapi jumlah codon lebih banyak daripada jumlah asam amino yang hanya 20, maka ada kelebihan codon yang tidak berfungsi. tRNA mengidentifikasi asam amino tertentu sebagai anticodon terkait dan mentransfernya ke ribosom. Beberapa macam tRNA ada dalam plasma sel dan memilih asam amino tertentu, menyusunnya dalam urutan yang ditentukan molekul DNA (gen). Perubahan kode yang dikirim oleh DNA menyebabkan perbedaan protein yang dibentuk dalam ribosom, dan ini berakibat terjadinya **mutasi**.

Bagaimana fungsi gen dikontrol, dapat dijelaskan sebagai berikut. Sebelumnya perlu diketahui bahwa ada dua macam gen yaitu; **gen struktur** dan **gen kontrol** (terdiri atas; gen **regulator** dan gen **operator**). Gen struktur berperan untuk sintesis bermacam-macam protein. Gen kontrol berfungsi mengatur aktifitas gen struktur untuk menghasilkan jumlah protein yang dihasilkan, dan tidak langsung berperan dalam sintesis protein. Masing-masing gen operator mengontrol aktifitas beberapa gen struktur, yaitu berfungsi sebagai *switch on dan off*. Gen operator dan gen struktur diperkirakan berada pada kromosom yang sama. Gen regulator menghasilkan substansi yang disebut repressor (protein) yang menghentikan (memblock) kerja gen operator, tidak memberikan gen struktur menghasilkan protein karena tidak dapat menghasilkan mRNA. Substansi inducer yang juga disebut depressor, biasanya berbentuk hormone, merubah substansi repressor menjadi komponen aktif yang memberikan gen operator berfungsi dan gen struktur menghasilkan mRNA. Bagian dari molekul DNA yang mengkode molekul mRNA tunggal dan dibawah control satu substansi repressor disebut **Operon**. Satu operon bisa terdiri dari satu atau beberapa gen.

IV.

MUTASI GEN DAN ABERASI KROMOSOM

Mutasi Gen

Mutasi gen dapat didefinisikan sebagai perubahan dari fungsi gen yang bersangkutan akibat dari kode yang dikirim oleh gen (molekul DNA) tersebut yang terdapat pada kromosom tertentu ke ribosom dalam plasma sel berupa mRNA, yang memberi perintah untuk menyusun protein tertentu. Perubahan kode ini berarti perubahan protein yang dihasilkan dari protein yang semula diberikan oleh gen yang bersangkutan sehingga fenotip atau performans yang ditunjukkannya berbeda dari yang

semula.. Mutasi dapat terjadi pada gen yang terdapat autosom atau pada seks kromosom, dan bisa terjadi pada sel tubuh atau pada epitel testis dan ovary. Satu contoh misalnya suatu gen dominant menjadi resesif, dan kemudian kembali lagi dari resesif menjadi dominant. Kebanyakan mutasi yang baru bersifat tidak baik, tetapi ada beberapa mutasi bersifat baik.

Mutasi bisa terjadi secara alamiah (*natural mutation*) dan bisa pula terjadi oleh tindakan manusia untuk memenuhi harapannya (*artificial mutation*), hanya saja mutasi gen tertentu tidak bisa diatur sesuai dengan yang diinginkan. Mutasi gen bisa terjadi karena beberapa faktor seperti kimia, sinar X, zat radio aktif maupun fisik. Oleh karena itu pada bidang peternakan penggunaan teknologi mutasi tidak praktis atau tidak ekonomis untuk dilaksanakan. Di bidang pertanian, misalnya pembentukan varietas padi yang mampu memberikan produksi dan kualitas beras yang diinginkan sering menggunakan teknologi mutasi secara artificial (buatan) oleh manusia. Hal ini karena resiko maupun biaya yang dikeluarkan tidak begitu banyak dan waktu tidak terlalu lama. Andaikata hasil mutasi yang diperoleh tidak sesuai dengan harapan, maka benih tidak perlu dibibitkan. Berbeda halnya dengan pada sapi misalnya biayanya lebih mahal dan waktu yang dibutuhkan jauh lebih lama untuk melihat hasil mutasi (yang belum tentu sesuai dengan harapan) menunjukkan performansnya. Apabila hasil keturunan yang diperoleh tidak sesuai dengan harapan misalnya muncul cacat fisik, sapi yang kerdil, dsb.nya, maka sapi-sapi yang terlibat harus dimusnahkan. Di bidang peternakan, yang lebih penting adalah menghilangkan sifat-sifat negatif akibat mutasi yang muncul dalam suatu populasi ternak yang ada/dimiliki dan meningkatkan performans ternak melalui sistem seleksi dan perkawinan/persilangan yang tepat.

Hasil observasi banyak ahli genetik menunjukkan bahwa kebanyakan mutasi yang terjadi bersifat resesif, cacat atau kematian (*lethal*). Masalahnya adalah apabila terjadi mutasi yang bersifat resesif, hanya muncul atau bisa diketahui apabila individu dalam kondisi homozygous. Apabila masih dalam kondisi heterozygous, individu yang bersangkutan membawa gen cacat (*detrimental*) tanpa menunjukkan sifat cacat tersebut dan apabila individu tersebut mendapat kesempatan untuk berreproduksi, gen cacat tersebut akan tersebar dalam populasi. Apabila mutasi yang terjadi bersifat dominant maka individu yang bersangkutan akan langsung memperlihatkan sifat cacat tersebut sehingga mudah untuk disingkirkan (*culled*) dan sifat cacat tersebut tidak akan berkembang dalam populasi ternak yang ada. Perlu dipahami bahwa mutasi gen yang terjadi dalam sel tubuh tidak akan diturunkan kepada keturunannya (anak/cucunya), sedangkan kalau mutasi tersebut terjadi pada sel kelamin(spermatozoa atau ovum) akan dapat menghasilkan individu yang membawa gen hasil mutasi tersebut setelah terjadinya perkawinan, fertilisasi dan kelahiran.

V. PENURUNAN SIFAT (HUKUM MENDEL)

Pendekatan Mendel dalam Analisis Genetik

Prinsip genetika berawal dari percobaan yang dilakukan oleh seorang rahib berkebangsaan Austria, **Gregor Johan Mendel** pada abad ke-19. Mendel mempublikasikan hasil karyanya pada tahun 1866 dalam sebuah paper yang berjudul *Experiment in Plant Hybridization*.

Mendel berhasil mendisain suatu percobaan secara klasik serta mampu menginterpretasikan hasil karyanya. Teori yang dikemukakan Mendel adalah faktor-faktor genetik yang disebut gen yang diwariskan dari generasi ke generasi berikutnya. Dalam percobaannya Mendel mengamati suatu sifat tertentu yang tersembunyi pada keturunannya, faktor yang diekspresikan oleh sifat tersebut tidak rusak, dan sifat yang sama akan muncul kembali tanpa ada perubahan pada generasi berikutnya.

Mendel berhasil mengembangkan hukum dasar pewarisan suatu sifat dengan beberapa alasan. Pertama adalah jenis disain percobaannya mudah dimengerti yang mampu menjawab pewarisan suatu sifat.

Mendel memilih bekerja pada sebidang tanah di kebun dengan menggunakan tanaman ercis (*Pisum sativum*) sebab; 1) memiliki sifat yang mudah dikenal dan bentuknya nampak kontras, 2) sangat memungkinkan mengontrol persilangannya. Mendel dengan tepat dapat mengidentifikasi sifat genetik pada masing-masing tanaman. Ia membatasi analisis pada tujuh sifat yang berbeda, masing-masing sifat diekspresikan dalam bentuk berpasangan yang kontras. Ketujuh sifat tersebut tertera pada table 1.

Mendel dapat mengontrol secara penuh jenis tanaman yang dikawinkannya. Tanaman ercis secara alami menyerbuk sendiri, tetapi dipaksa dicrosspolinasi jika bunga jantan dipisahkan dan bunga betina kemudian ditaburi dengan serbuk sari dari bunga lainnya. Dengan teknik yang sama, Mendel mengulang perkawinan setiap sifat pada tanaman sampai mendapatkan tanaman yang murni (True breeding lines), selanjutnya Mendel mengatur perkawinan pada sifat diatas pada percobaannya.

Alasan kedua, Mendel mampu bekerja dalam jumlah yang banyak dan mengenal hubungan kuantitatif, sebab Ia mampu menginterpretasikan hasil percobaannya dengan menggunakan model matematika yang beraplikasi langsung pada bidang biologi, bahkan Mendel mengetahui tentang dasar fisik pewarisan suatu sifat. Kenyataannya pada saat tersebut sangat sedikit yang tahu tentang proses pembelahan seldan struktur sub seluler, seperti kromosom.

Baru 34 tahun kemudian karya Mendel dibaca kembali dan menjadi bahan referensi oleh para ahli yang bekerja secara terpisah-pisah pada masing-masing Negara.

Ahli tersebut adalah 1) Hugo de Vries (Belanda) melakukan percobaan pada tanaman bunga ester, jagung, *Chrysantenum*, *Coriopsis datura*, 2) Carl Correns (Jerman) pada tanaman jagung, dan 3) Erich von Tschermak-seysenegg (Austria) pada tanaman buncis.

Prinsip Genetika Segregasi

Mendel memulai percobaan dengan menyilangkan tanaman murni (true breeding line) yang berbeda hanya satu pasang sifat yang kontras seperti tekstur kulit atau warnanya. Dengan membatasi analisis satu sifat beda, dimaksudkan untuk menghindari sifat yang kompleks yang dapat mengganggu hasil studi. Kemudian Mendel menganalisa turunan hasil silangan pertama dari true line (F_1 =*First filial generation*), oleh karena F_1 adalah hybrid satu pasang sifat alternative, disebut *Monohybrid*. F_1 selanjutnya dibiarkan menyerbuk sendiri, menghasilkan F_2 (*second filial generation*). Mendel mengulang persilangan pasangan sifat yang sama untuk ketujuh pasangan sifat alternative.

Tabel 2. Ringkasan Hasil Percobaan Mendel dengan Tujuh Sifat pada Kebun Percobaan Tanaman Ercis

No	Sifat Tetua	F_1 Fenotipe	Jumlah F_2		Rasio F_2
			Dominan	Resesif	
1	Tekstur biji Bulat vs keriput	Bulat	5474	1850	2.96 : 1
2	Warna kotiledon Kuning vs hijau	Kuning	6022	2001	3.01 : 1
3	Warna bunga Ungu vs hijau	Ungu	705	224	3.15 : 1
4	Bentuk polong Menggembung vs mengkerut	Menggembung	882	299	2.95 : 1
5	Warna polong Hijau vs kuning	Hijau	428	152	2.82 : 1
6	Lokasi bunga Axial vs terminal	Axial	651	207	3.14 : 1
7	Batang Tinggi vs rendah	Tinggi	787	277	2.89 : 1

Sumber: Elseth, G.D. dan K.D. Baumgardner , 1984.

Rasio Segregasi Dominan. Hasil percobaan Mendel pada ketujuh pasang sifat yang kontras diringkas pada table1. Sewaktu Mendel menyilangkan ercis berbatang

tinggi dengan rendah, semua tanaman keturunannya F_1 berbatang tinggi, sifat tinggi mengalahkan sifat rendah. Sifat ini disebut dominan, sedangkan sifat yang dikalahkan (rendah) disebut resesif. Selanjutnya tanaman F_1 dibiarkan menyerbuk sendiri didapatkan tanaman F_2 yang memperlihatkan pemisahan dengan rasio $\frac{3}{4}$ berbatang tinggi dan $\frac{1}{4}$ berbatang rendah.

Bagan persilangannya seperti dibawah ini:

Tetua	dominant		resesif
Fenotipe	tinggi		rendah
Genotype	TT	X	tt
Gamet	T		t
Generasi F_1		dominan	
Fenotipe		tinggi	
Genotype		Tt	

Model Dasar: Interpretasi Hasil. Mendel menginterpretasikan hasil percobaannya mengikuti beberapa sifat: setiap pasangan sifat alternatif ditentukan oleh sepasang faktor genetik atau gen. Gen ini dilanjutkan dari generasi ke generasi selanjutnya dalam sel kelamin (gamet) dari tetuanya.

Gen mengontrol pasangan sifat alternatif disebut *allelic gen* atau alel. Dalam terminologi modern, dikatakan bahwa unit dasar pewarisan sifat adalah gen, yang ada dalam bentuk alel alternatif. Bentuk alel setiap gen biasanya disimbolkan dengan dengan huruf besar atau huruf kecil (seperti T dan t) dengan huruf besar sebagai simbol alel dominant.

Mendel mengusulkan bahwa setiap individu, *true-breed* atau *hybrid* mempunyai dua salinan gen pada *true breeding line*, tetua mempunyai gen (genotipe) yang berisi dua gen T atau dua gen t. Ekspresi gen ini disebut fenotipe. Individu dengan dua pasang gen seperti TT atau tt disebut homosigous. Pada F_1 dibentuk oleh gabungan dua gamet dari tetua true breed untuk sifat dominan (T) dan alel t dari tetua untuk sifat resesif, sehingga F_1 monohybrid bergenotipe Tt. Oleh karena hybrid mengandung allelic gen yang kontras disebut heterosigot.

Ada tiga gambaran penting dalam model Mendel yakni:

1. Setiap sifat ditentukan oleh bentuk spesifik dari gen (disebut alel)
2. Setiap individu membawa dua salinan gen untuk sifat yang berikutnya
3. Hanya satu dari pasangan gen individu ditransfer dalam gamet kepada generasi berikutnya.

Jika F_1 diproduksi, setiap gamet hanya mengandung satu allelic gen T atau t dipilih secara acak dari pasangan alel dalam heterosigot. Hal ini merupakan prinsip genetika segregasi mendel (*Mendel's Principle of Genetic Segregation*). Dengan

perkataan lain, dalam pembentukan gamet, pasangan alel terpisah (segregasi), selanjutnya hanya satu diliputi dalam setiap gamet, Dua tipe gamet pada F_1 heterosigot, T dan t, mempunyai kesempatan yang sama. Proporsi gamet T dan t adalah setengah dari masing-masing tipe:

Monohybrid cross ($F_1 \times F_1$) Tt x Tt

Gamet $1/2T, 1/2t$ $1/2T, 1/2t$

Proses fertilisasi adalah acak, semua kemungkinan bergabung gamet dari porsi jantan dan betina untuk menentukan komposisi genotipe dan fenotipe pada F_2 . Salah satu cara untuk memudahkan semua kemungkinan kombinasi yang diliputi adalah bentuk *checkerboard*, disebut *Punnet Square*

	Jantan	1/2T	1/2t
Betina			
1/2T		1/4TT Tinggi	1/4Tt Tinggi
1/2t		1/4Tt Tinggi	1/4tt Rendah

Hukum Mendel I. Principle of Genetic segregation: dalam pembentukan gamet, sejumlah pasangan alel terpisah (Segregasi), selanjutnya hanya satu diliputi didalam gamet.

Contoh, Warna standar (tipe liar) mink adalah *dark-black-brown* (hitam kecoklatan). Beberapa warna lain juga diketahui. Salah satu adalah *blue-gray (platinum)*. Bila mink tipe liar disilangkan dengan mink berwarna platinum, semua anak berwarna tipe liar. Intercrossing mink F_1 menghasilkan F_2 terdiri atas 33 tipe liar dan 10 platinum. Tipe liar adalah dominant terhadap tipe platinum, oleh karena hanya tipe liar muncul pada F_1 dan mendekati $\frac{3}{4}$ ekspresinya pada F_2 . Bila P adalah gen untuk warna tipe liar, dan p untuk gen platinum.

Hasil persilangan genotipe dapat diringkas sebagai berikut:

Parent	tipe liar		platinum
	(PP)	x	(pp)
F_1		tipe liar	
		(Pp)	
F_2	33 tipe liar(P-)	+	10 platinum (pp)

Beberapa Model Perkawinan

Backcross (Silang Balik). Jika hibrid F_1 kawin balik dengan salah satu induknya (atau dengan individu yang mempunyai genotipe identik dengan induknya), maka perkawinan itu disebut silang balik.

Contoh, Marmot betina hitam homosigot disilangkan dengan jantan putih. Anak jantan F_1 disilangkan dengan induknya.

Parent: Genotipe	BB	x	bb
Fenotipe	hitam		putih
Gamet	B		b
F_1 Genotipe	Bb	x	bb
Fenotipe	hitam		putih
Gamet	B		b
	b		b

Keturunan silang balik $\frac{1}{2}$ BB hitam, $\frac{1}{2}$ Bb hitam

Testcross (Uji silang). Bila hibrid F_1 disilangkan dengan individu yang double resesif disebut testcross. Hal ini dilakukan karena genotipe dominant homosigot mempunyai fenotipe yang sama dengan genotipe heterosigot. Untuk itulah diadakan testcross untuk mengetahui genotipe suatu individu. Tujuan testcross itu adalah untuk mengetahui berapa banyak macam gamet yang dihasilkan individu yang genotipenya dipertanyakan. Individu dominan homosigot hanya akan menghasilkan satu macam gamet. Individu heterosigot menghasilkan dua macam gamet dengan frekuensi yang sama.

Contoh. Perhatikan kasus uji silang terhadap seekor induk marmot hitam yang hanya menghasilkan keturunan yang berwarna hitam.

Parent	B	x	bb
	(genotipe yang belum diketahui)		jantan putih
Gamet	B		b
	?		b
F_1		Bb	
		Semua hitam	

Kesimpulan: induk betina hanya memproduksi gamet B saja dan sebab itu genotipenya homosigot dominan.

Resiprocal Crossing (Resiprok). Merupakan perkawinan kebalikan dari perkawinan yang semula dilakukan. Contoh. Mula-mula dikawinkan tanaman ercis

berbuah polong hijau dengan yang berbuah polong kuning. F₁ berbuah polong hijau. F₂ dengan perbandingan fenotipe 3 hijau : 1 kuning. Pada perkawinan resiproknya digunakan serbuk sari yang berasal dari tanaman yang berbuah polong kuning dan diberikan kepada bunga dari tanaman berbuah polong hijau.

Tetua	♀hh	X	♂HH	Resiprokal	♂hh	X	♀HH
	Kuning		hijau		kuning		hijau
F1	Hh				Hh		
F2	3 (1HH + 2 Hh): 1hh				3 (1HH + 2 Hh): 1hh		
	3 kuning : 1 hijau				3 kuning : 1 hijau		

Modifikasi Rasio Monohibrid

Inkomplit dominant. Setelah *Discovery of Mendelian*, perkembangan genotipe dengan melakukan beberapa riset, cepat menjadi jelas prinsip segregasi mendel menjelaskan variasi pewarisan sifat, bahwa bila tipe rasio fenotipe 3:1 atau 1:1 tidak diamati. Dalam kasus ini, segregasi alel terjadi, namun hasilnya ada modifikasi oleh genotipe yang diekspresikan dan digabungkan menjadi kelompok fenotipe.

Pada diskusi sebelumnya, kita hanya mempertimbangkan dominant penuh, dalam alel dominan secara penuh menutupi ekspresi alel resesit. Tidak semua alel menunjukkan dominant penuh. Sebagai contoh, warna bunga pukul empat ada merah (C^RC^R), merah muda (C^RC^r) atau putih (C^rC^r). Bunga yang heterozigot adalah berwarna intermedier, kontras, heterozigot pada kebun ercis yang mempunyai bunga yang sama pada dominant homozigot. Oleh karena warna merah muda memberikan penampakan yang menipis untuk bunga heterozigot, alel, tidak nampak menutupi alel lain secara penuh. Alel C^R dan C^r selanjutnya dikatakan *exhibit incomplete dominance*. Intercross diantara bungan heterozigot menghasilkan rasio 1 merah, 2 merah muda dan 1 putih.

Codominance. Dua alel dikatakan codominant bila kedua alel secara penuh berfungsi dan ekspresi individunya sendiri sendiri ketika dalam kondisi heterozigot. Dalam codominance, seperti inkomplit dominant, pengaruh penipisan tidak terjadi. Heterozigot menunjukkan lain dalam campuran yang tidak seimbang pada pemisahan kedua alel.

Salah satu contoh pewarisan codominance adalah warna bulu sapi. Pada sapi Shorthorn, homozigot ekspresinya adalah merah dan putih. Heterozigot ekspresinya merah kelabu atau roan. Pengamatan warna roan menunjukkan adanya campuran warna merah (C^RC^R) dan putih (C^rC^r) pada bulu sapi. Masing-masing bulu ada merah atau putih, tidak satu warna seperti warna inkomplit dominant. Intercross diantara antara heterozigot menghasilkan 1 merah, 2 roan dan 1 putih.

Gen lethal.

Tipe modifikasi lain bila gen mempunyai pengaruh merusak secara ekstrim selama perkembangannya yang disebut lethal pada kondisi homozigot. Salah satu sifat lethal terjadi pada tikus. Dua alel yang berpengaruh terhadap warna bulu tikus adalah A dan A^y. Tikus AA adalah normal, A A^y adalah tikus berwarna kuning, dan A^yA^y adalah lethal. Bila tikus kuning saling dipersilangkan, terjadi modifikasi rasio fenotipik menjadi 2 kuning dan 1 normal.

Rangkuman

1. Menurut model pewarisan sifat Mendel, gen diasumsikan berpasangan didalam sel organisme berderajat tinggi. Pasangan gen yang berbeda tersebut disebut alel.
2. Prinsip genetika segregasi, hanya satu dari pasangan gen yang dibawa dalam gamet, fertilisasi menyebabkan penyatuan pasangan gen. Prinsip ini terjadi pada semua reproduksi seksual organisme.
3. Bila dominant secara penuh, heterozigot tidak dapat dibedakan fenotipnya dari dominant homozigot, keturunan resesif hanya dapat dihasilkan dari individu heterozigot. Persilangan menunjukkan bahwa individu dominant heterozigot dihasilkan dari perkawinan dominant x resesif yang mengacu pada testcross.
4. Perbedaan derajat dominansi dapat dijelaskan oleh aktivitas alel. Dapat berupa incomplete (parsial) dominant dan codominance
5. Ada sejumlah factor yang dapat merubah rasio genotipik menjadi rasio fenotipik. Sebagai contoh, secara klasik rasio monohybrid 3 : 1 pada dominant penuh dapat berubah menjadi 1:2:1 pada incomplete dominant atau codominance dan 2:1 pada sifat lethal.

Prinsip Independent Assortment

Mendel tidak saja menganalisa sifat pewarisan pada sifat tunggal. Ia juga menentukan rasio yang dihasilkan bila dua sifat yang berbeda yang berpisah dipertimbangkan secara simultan pada perkawinan yang sama. Sebagai contoh, dalam satu persilangan Mendel mempelajari pewarisan tekstur biji (bulat vs keriput) dan warna kotiledon (kuning vs hijau). Tujuan percobaannya adalah untuk menentukan pengaruh pewarisan satu sifat yang mungkin ditransmit kepada sifat yang lainnya. Sifat yang berbeda dicirikan oleh gen yang berbeda pula. Bila alel salah satu sifat adalah A dan a, kita membangun alel secara komplit pada sifat yang berbeda sebagai B dan b. Gen yang berbeda, seperti A dan B atau a dan b, mengacu pada gen yang bukan sealel (*non allelic genes*). Alel, dengan kontras, adalah bentuk alternatif dari gen yang sama. Dalam

terminologi modern, kita mengatakan bahwa pernyataan Mendel dengan pewarisan dua sifat yang berbeda bertalian dengan kombinasi tingkah laku gen yang bukan sealel selama pembentukan gamet dan pengaruhnya, jika banyak, satu pasang gen pada segregasi yang lainnya.

Hukum Mendel II. Prinsiple of independent assortment: segregasi gen yang bukan sealel menjadi gamet secara bebas mengelompok kepada alel yang lain, menghasilkan proporsi yang sama untuk semua tipe gamet.

Dua Pasang Gen

Dengan menyilangkan *true-breeding* tanaman ercis berbiji bulat dan berwarna kuning dengan keriput-hijau. Perhatikan a adalah alel resesif untuk biji keriput, dan A alel dominan untuk biji bulat. Hal yang sama, b menampilkan alel resesif untuk warna hijau, dan B dominan untuk alel kuning. Ingat pasangan alel A dan a adalah bukan sealel dengan B dan b

Simbol perkawinan biji bulat-kuning dengan keriput-hijau adalah AABB x aabb. Menurut prinsip segregasi gen mendel, setiap gamet hanya berisi satu dari pasangan alel. Gamet akan selalu berisi satu dari pasangan gen yang dimiliki oleh tetuanya. Juga bahwa gabungan gamet melalui fertilisasi disimpan kembali sejumlah gen pada generasi berikutnya. Mengikuti ilustrasi sebagai berikut:

Parent	AABB	x	aabb
	Bulat-kuning		keriput-hijau
Gamet	AB		ab
F ₁		AaBb	
		Bulat-kuning	

F₁ dari persilangan ini disebut dihibrid sebab hibrid terdiri atas dua pasang sifat yang kontras.

Mendel selanjutnya menyilangkan dihibrid F₁ yang dibiarkan menyerbuk sendiri, hasil perkawinan dalam bentuk AaBb x AaBb. Oleh karena gamet mengandung hanya satu dari pasangan alel, empat macam gamet dibentuk dari tanaman F₁: AB, aB, Ab dan ab. Ilustrasi persilangannya sebagai berikut:

Dihybrid cross (F ₁ x F ₁)	AaBb	x	AaBb
Gamet	¼ AB		¼ AB
	¼ Ab		¼ Ab
	¼ aB		¼ aB
	¼ ab		¼ ab

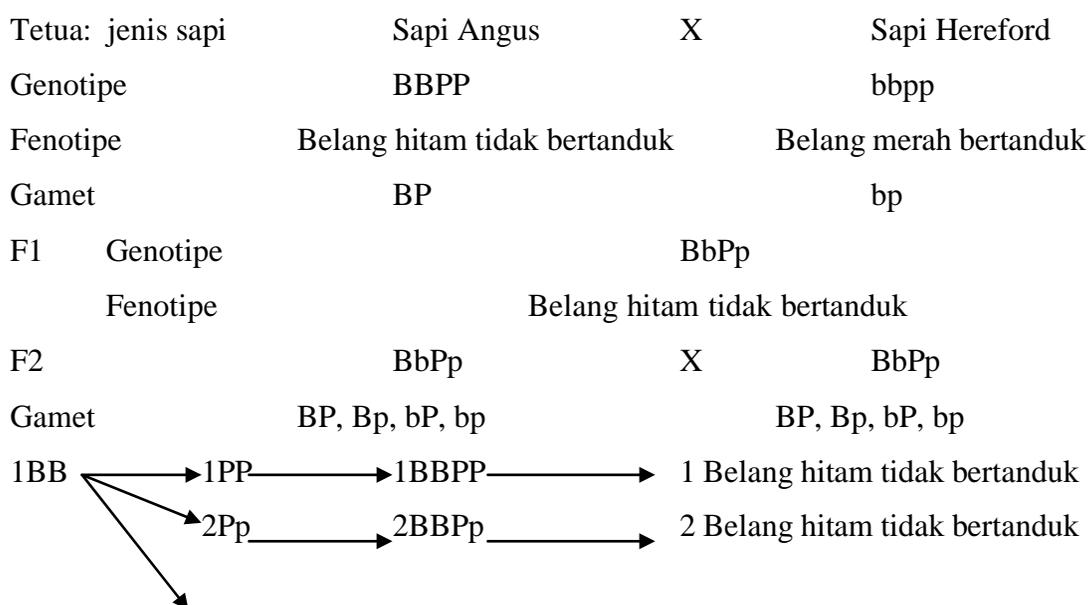
Gamet	$\frac{1}{4}$ AB	$\frac{1}{4}$ Ab	$\frac{1}{4}$ aB	$\frac{1}{4}$ ab
$\frac{1}{4}$ AB	1/16 AABB 1	1/16 AABb 2	1/16 AaBB 3	1/16 AaBb 4
$\frac{1}{4}$ Ab	1/16 AABb 5	1/16 AAbb 6	1/16 AaBb 7	1/16 Aabb 8
$\frac{1}{4}$ aB	1/16 AaBB 9	1/16 AaBb 10	1/16 aaBB 11	1/16 aaBb 12
$\frac{1}{4}$ ab	1/16 AaBb 13	1/16 Aabb 14	1/16 aaBb 15	1/16 aabb 16

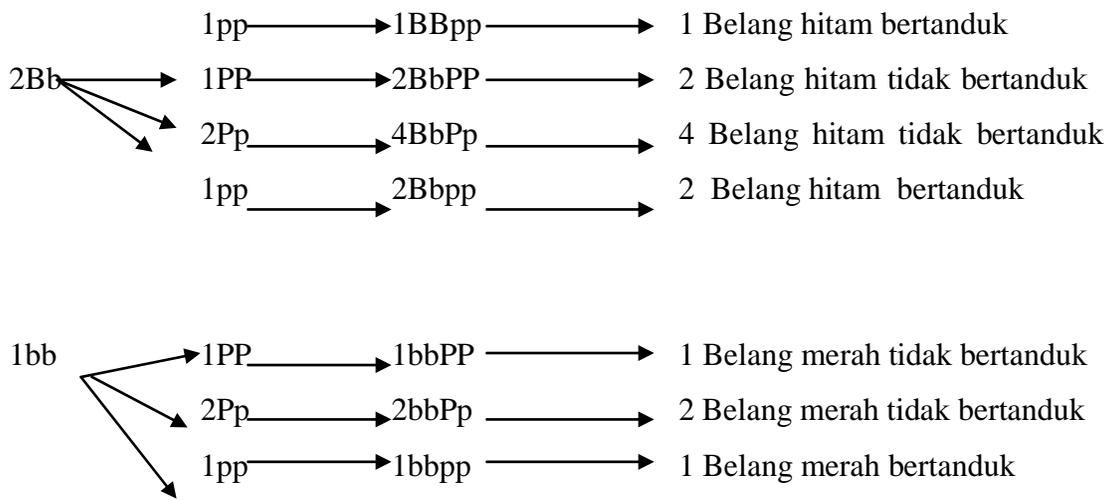
Rasio genotipe dan fenotipe hasil persilangan AaBb x AaBb

Genotipe	No.Punnet square	Proporsi genotipe	fenotipe	Proporsi fenotipe
AABB	1	1/16	Bulat-kuning	9/16
AABb	2 5	2/16	Bulat-kuning	
AaBB	3 9	2/16	Bulat-kuning	
AaBb	4 7 10 13	4/16	Bulat-kuning	
AAbb	6	1/16	Bulat hijau	3/16
Aabb	8 14	2/16	Bulat hijau	
aaBB	11	1/16	Keriput kuning	3/16
aaBb	12 15	2/16	Keriput kuning	
aabb	16	1/16	Keriput hijau	1/16

Hasil percobaan Mendel pada persilangan AaBb x AaBb menghasilkan 556 keturunan : 315 bulat kuning, 108 bulat hijau, 101 keriput kuning, 32 keriput hijau dengan rasio 9:3:3:1.

Pada sapi, dikenal warna belang hitam dominant terhadap belang merah, tidak bertanduk (*polled*) dominant terhadap bertanduk (*horn*). Hasil persilangan antara pejantan homozigot Belang hitam–tidak bertanduk dengan induk Belang merah–bertanduk seperti dibawah ini:





Rasio fenotipis pada F₂ : 9 : 3 : 3 : 1 antara Belang hitam tidak bertanduk : Belang hitam bertanduk : Belang merah tidak bertanduk : Belang merah bertanduk.

Pada sapi Shorthorn dikenal ada tiga warna yang bersifat codominance; merah, roan, dan putih. Bila dikawinkan diantara sapi-sapi Tidak bertanduk-Roan (heterozigot) maka diperoleh 3 tidak bertanduk merah, 6 tidak bertanduk roan, 3 tidak bertanduk putih, 1 bertanduk merah, 2 bertanduk roan dan 1 bertanduk putih.

Pada tanaman bunga pukul empat (*Mirabilis jalapa*) dikenal ada yang berdaun lebar (LL), sempit (ll) dan dalam keadaan heterosigot (Ll) berdaun sedang. Bunganya ada yang berwarna merah, merah muda dan putih. Bila disilangkan diantara tanaman berdaun sedang-berwarna merah muda didapatkan rasio fenotipis; 1 lebar-merah, 2lebar merah muda, 1 lebar putih, 2 sedang merah, 4 sedang merah muda, 2 sedang putih, 1 sempit merah, 2 sempit merah muda dan 1 sempit putih.

Lebih Dari Dua Pasang Gen

Bila tanaman ercis berbiji bulat (B), warna biji kuning (K) dan berbunga merah (M) disilangkan dengan keriput-hijau-putih, pada F₁ diperoleh tanaman bulat-kuning-merah. F₂ sebagai dibawah ini.

Tetua	BBKKMM	X	bbkkmm
	Bulat-kuning-merah		keriput-hijau-putih
F ₁	BbKkMm		
	Bulat-kuning-merah		
F ₂	Gamet	$2^n = 2^3 = 8$	Kombinasi pada F ₂ = $(2^n)^2 = (2^3)^2 = 64$ kombinasi.

Diskusikan rasio genotipe dan fenotipe hasil persilangan tersebut.

VI. PENYIMPANGAN HUKUM MENDEL

Interaksi Pasangan Alel

Biasanya, dianggap bahwa suatu sifat genetik pada suatu individu ditentukan oleh sepasang gen. Sekarang akan dilihat pada beberapa kejadian sebuah sifat dapat ditentukan oleh dua atau lebih pasangan gen. Hasil dari gen yang bukan sealel bersama-sama pada kejadian ini menghasilkan satu fenotipe. Pengaruh yang dihasilkan oleh banyak gen ini biasanya banyak terdapat diantara organisme, sebab sering sebuah sifat dibentuk melalui rangkaian pengembangan yang kompleks, dengan gen yang berbeda mengontrol bagian yang berbeda pula dari keseluruhan proses.

Salah satu akibat dari pengaruh yang dihasilkan dari banyak gen ini adalah terjadinya beberapa pengelompokan fenotipe. Contoh klasik adalah bentuk jengger pada ayam domestik. Breed Leghorn berjengger -single, Wyandotte mempunyai tipe jengger yang berbeda yaitu -rose, sebaliknya Brahma berjengger -pea. Bila ayam Wyandotte dan Brahma disilangkan, hybrid F_1 semua berjengger -Walnut, bentuk jengger yang berbeda dari tetuanya. Intercross diantara F_1 menghasilkan keturunan F_2 dengan rasio 9 walnut : 3 rose : 3 pea : 1 single, seperti rasio klasik dihibrid Mendel pada dominant penuh. Dengan menggunakan simbol alel R,r dan P,p genotipe R-P- = walnut, R-pp = Rose, rrP- = pea dan rrpp = single. Breed Wyandotte adalah RRpp, Brahma rrPP, Leghorn adalah rrpp, dan F_1 walnut adalah RrPp.

Interaksi antara Gen-gen yang Bukan Sealel

Bila dua atau lebih pasangan gen berpengaruh pada pemunculan sifat yang sama, interaksi gen yang bukan sealel (disebut interaksi epistatis) dapat memodifikasi rasio fenotipe. Definisi Epistasis sama dengan dominant, kecuali bahwa dominant meliputi hubungan antara alel dari gen yang sama, sebaliknya epistasis meliputi interaksi antara gen yang berbeda.

Ada tiga tipe interaksi epistasis. Tipe interaksi ini dapat memodifikasi rasio 9:3:3:1. Ketiga tipe interaksi sebagai berikut:

<i>Cplementary gene interaction</i>	$9:7 = 9: (3+3+1)$
	$9:3:4 = 9 : 3 : (3+1)$
<i>Modifier gene interaction</i>	$13:3 = (9+3+1) : 3$
	$12:3:1 = (9+3) : 3 : 1$
<i>Duplicate gene interaction</i>	$15:1 = (9+3+3) : 1$

Modifikasi rasio dihibrid diringkas pada tabel 3

Tabel 3. Interaksi antara Gen-gen yang Bukan Sealel yang Menghasilkan Modifikasi Rasio Klasik Mendel 9:3:3:1.

Type of interaction	Phenotypic Ratio			
	A-B-	A-bb	aaB-	aabb
Rasio klasik Mendel	9	3	3	1
<i>Complementary gene Interaction</i>	9	7		
	9	3	4	
<i>Modifier gene interaction</i>	12		3	
	12	3		1
Duplicate gen interaction	15			1

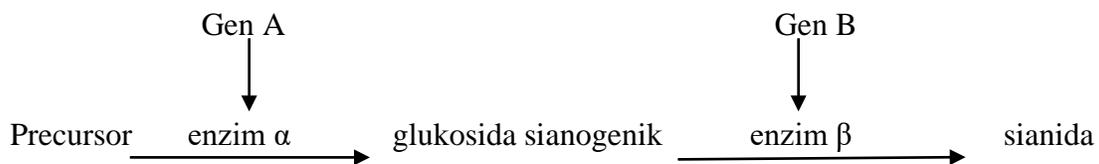
Complementary gene interaction

Gen komplementer berperan bersama-sama dalam biokimia yang sama atau jalur pengembangan. Fungsi satu gen dibutuhkan untuk ekspresi gen yang lain. Kedua genotipe homosigot resesif menghasilkan fenotipe yang identik, rasio menjadi 9:7. Genotipe aaB-, A-bb dan aabb menghasilkan satu fenotipe. Kedua alel dominan, bila berada bersama-sama saling melengkapi satu dengan yang lainnya dan menghasilkan fenotipe yang berbeda.

Sebagai contoh interaksi gen komplementer adalah pada semanggi putih (*white clover*). Beberapa galur tanaman ini mempunyai kandungan sianida (HCN) yang tinggi, yang lainnya mempunyai kandungan sianida rendah. Produksi HCN yang tinggi ditunjukkan oleh hasil alel dominan pada masing-masing dua pasang alel (A-B-). Jika tidak ada satu alel dominan pada pasang gen, tanaman tidak menghasilkan HCN. Persilangan dihibrid (AaBbXAaBb) memberikan 9:7 rasio fenotipe: (9A-B-): (3A-bb + 3aaB- + 1aabb) = 9 mengandung HCN tinggi : 7 rendah.

Sianida diketahui dihasilkan dari substrat glukosida sianogenik oleh katalis enzimatik. Suatu galur semanggi mempunyai enzim tetapi tidak mempunyai substratnya. Strain lain membuat substrat tetapi tidak mampu mengubahnya menjadi sianida.

Pada tanaman *White clover*, sianida dihasilkan dari substansi glukosida sianogenik melalui reaksi yang dikatalis oleh enzim khusus (enzim β), enzim lain (enzim α) berespon terhadap pembentukan glukosida sianogenik dari precursor (pendahulu). Kenyataannya dua enzim yang berbeda sebagaimana dua gen yang berbeda diliputi didalam pembentukan sianida yang disarankan bahwa gen A dan B akan dikontrol oleh enzim α dan β . Reaksi biokimia kemungkinannya adalah:



Tanaman yang kurang gen A secara fungsional, seperti aaB- dan aabb, juga kurang berfungsinya enzim α dan tidak pernah menghasilkan glukosida sianogenik. Tanpa substrat yang diperlukan pada reaksi yang kedua, setiap tanaman tidak membentuk HCN. Hal yang sama, tanaman secara fungsional tidak ada gen B adalah ber-HCN negatif. Pada kasus ini, tanaman yang kehilangan enzim β tidak akan mampu mengubah glukosida sianogenik menjadi sianida.

Bila gen A = ada enzim yang mampu mengubah precursor menjadi glukosida sianogenik, B = ada enzim yang mampu mengubah glukosida sianogenik menjadi sianida, maka persilangan antara tanaman dengan kandungan rendah dengan rendah sebagai dibawah ini:

Tetua	Genotipe	AAbb	X	aaBB
	Fenotipe	HCN rendah		HCN rendah
	Gamet	Ab		aB
F ₁	Genotipe		AaBb	
	Fenotipe		HCN tinggi	
F ₂	Genotipe	AaBb	x	AaBb
	Fenotipe	HCN tinggi		HCN tinggi
	Gamet	AB, Ab, aB, ab		AB, Ab, aB, ab

Rasio genotipe dan Fenotipe: 9 A-B- : 7(3 A-bb + 3 aaB- + 1 aabb) = 9 HCN tinggi : 7 HCN rendah.

Modifier Gene Interaction

Gen modifier dapat menekan atau sebaliknya aktivitas gen lain. Salah satu contoh modifier gene adalah warna bulu pada ayam. Dua pasang gen berpengaruh terhadap warna bulu adalah I, i (dimana I- inhibits; menekan ekspresi warna dan i tidak menekan) dan C, c (C- ekspresi warna bila absennya inhibit dan cc tidak berwarna). Dalam kejadian ini, I adalah modifier gen dominant, dengan pengaruh inhibitor, dan c adalah gen resesif yang tidak menghasilkan warna. Breed White Leghorn berwarna putih sebab homozigot terhadap gen dominant I. White Silkie tidak berwarna sebab homozigot terhadap gen c. Perkawinan diantara kedua breed (IICC x iicc) menghasilkan F₁ bergenotipe IiCc. F₁ berwarna putih sebab ada aksi gen inhibit I. Tetapi intercross diantara F₁ (IiCc x IiCc) menghasilkan rasio 13 : 3.

(9 I-C- + 3 I-cc) : 3 iiC- : 1 iicc = 13 putih : 3 berwarna
 I- inhibit dan ii dan C- cc tidak
 Tidak berwarna berwarna berwarna

Duplicate Gene Interaction

Interaksi gen duplikat berarti bahwa pasangan gen terpisah atau sendiri berfungsi identik dalam pemunculan suatu sifat. Sebagai contoh, bentuk kapsul biji shepherd purse. Jika alel dominan A atau B hadir, bentuk kapsul biji adalah triangular. Jika hanya gen resesif saja ada (aabb), bentuknya ovoid. Dihibrid cross (AaBb x AaBb) menghasilkan rasio fenotipe 15 : 1.

(9 A-B- + 3 A-bb + 3 aaB-) : 1 aabb = 15 triangular : 1 ovoid

A- dan/atau B- semua resesif
 Menampakkan menampakkan
 Triangular ovoid

VII.

SIFAT-SIFAT MULTI FAKTOR

Definisi Alel Ganda

Semua pewarisan sifat yang telah kita bicarakan sebelumnya meliputi Lokus dengan gen tunggal dan dengan dua alel. Tetapi sebagaimana didiskusikan pada bab sebelumnya, sejumlah alel terbentuk dari sebuah gen tidak terbatas pada dua alel. Alel baru dibangun sebagai akibat mutasi dari gen tipe liar atau alel lainnya. Mutasi ini terjadi beberapa waktu selama sejarah dari spesies yang bersangkutan. Selanjutnya, beberapa alel terbentuk dari sebuah gen yang ada didalam populasi, bahkan individu diploid dapat mengandung lebih dari dua alel (jika heterosigot) dan hanya mengandung satu alel (jika homosigot). Bila tiga atau lebih alel dibentuk dari sebuah gen yang ada didalam populasi, disebut dengan Alel Ganda (*multiple Alleles*).

Dominansi pada Alel Ganda

Bila seluruh alel dalam seri alel ganda menunjukkan incomplete dominant atau codominance, setiap genotipe menunjukkan fenotipenya. Pada kejadian ini, jumlah fenotipe sama dengan jumlah genotipenya. Tipe dominansi menghasilkan jumlah fenotipe maksimal untuk jumlah alel tertentu. Dengan perkataan ekstrim, alel dalam seri alel ganda menunjukkan dominan penuh (sebagai contoh, A1 dominan terhadap A2 dominan terhadap A3). Setiap alel dominan terhadap alel lainnya. Pada kejadian ini, jumlah fenotipenya adalah minimum, sama dengan jumlah alelnya.

Contoh dominansi pada alel ganda adalah pada kelinci. Warna kelinci tipe liar adalah agouti, ditunjukkan oleh gen C^+ warna alternative yang ada meliputi Chinchilla, Himalayan, dan albino. Kelinci Chinchilla adalah berwarna abu-abu, sebagai percampuran berwarna dengan putih. Gen chinchilla adalah alel dari C^+ , yaitu C^{ch} . Kelinci Himalaya adalah putih dengan warna hitam pada bagian tertentu (telinga, hidung dan ekor). Gen himalaya adalah alel dari C^+ juga, yaitu C^h .

Perkawinan diantara kelinci berbagai warna menunjukkan bahwa C^+ dominan terhadap semua alelnya, C^{ch} dominant terhadap C^h , dan C^h dominant terhadap c . Dominansinya diringkas sebagai $C^+ > C^{ch} > C^h > c$. Hubungan antara genotipe dan fenotipe keempat kelinci sebagai dibawah ini.

Genotipe	Fenotipe
$C^+C^+, C^+C^{ch}, C^+C^h, C^+c$	Agouti
$C^{ch}C^{ch}, C^{ch}C^h, C^{ch}c$	Chinchilla
C^hC^h, C^hc	Himalayan
Cc	Albino

Beberapa seri alel ganda lain diketahui sebagai dominant yang sederhana. Tetapi beberapa seri alel ganda merupakan pencampuran yang kompleks, dengan beberapa alel menunjukkan dominant penuh, lainnya incomplete dominant atau codominance.

Golongan Darah sitem ABO

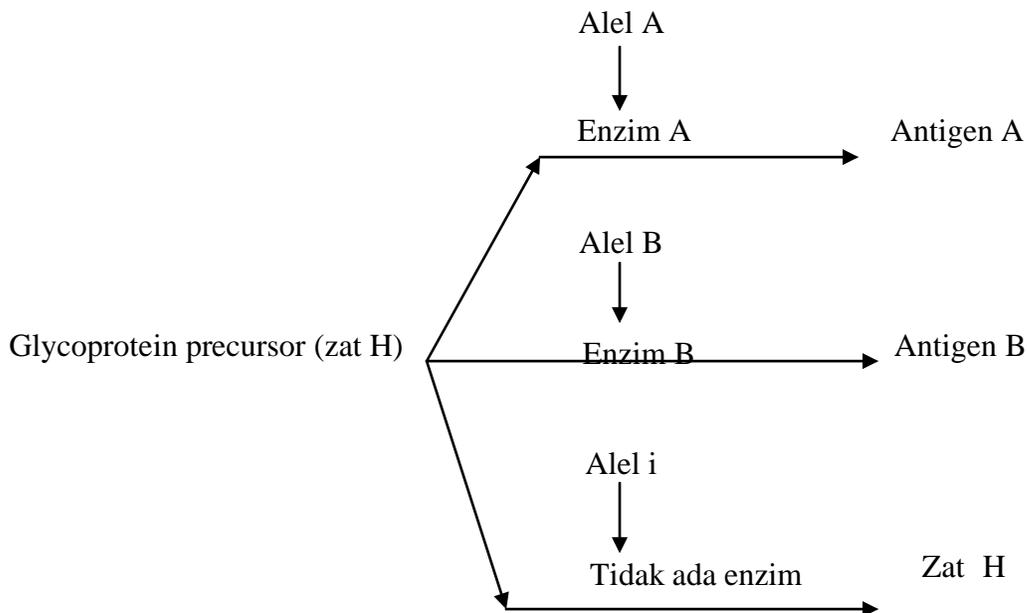
Seri alel yang berespon terhadap golongan darah ABO berisi tiga alel, yaitu I^A , I^B dan i . Alel I^A dan I^B adalah codominance dan dominan penuh terhadap i ($I^A = I^B > i$). Dominansi mengikuti fenotipe dan genotipe seperti dibawah ini:

Fenotipe (gol darah)	A	B	AB	O
Genotipe	I^A, I^A, I^Ai	I^B, I^B, I^Bi	I^AI^B	ii

Tipe golongan darah seseorang didasarkan atas antigen yang berada pada sel darah merah. Antigen adalah molekul kompleks, biasanya protein atau derivatnya. Bila tubuh dimasuki molekul asing, antibody akan terbentuk. Antibodi adalah molekul protein yang dihasilkan oleh individu yang berespon terhadap antigen asing. Dalam system golongan darah ABO, antigen adalah molekul glycoprotein yang besar (gula-protein kompleks) yang merupakan bagian dari membrane sel darah merah. Ada dua tipe antigen yang berbeda terdapat pada molekul gula secara alami yaitu tipe A dan B.

Kedua tipe antigen dibangun dari prekursor atau molekul inti yang disebut Zat H, yang normalnya berlokasi pada sel darah merah (Gambar 1).

Enzim A dikodekan oleh alel I^A yang mengkatalisasi zat H untuk menghasilkan antigen A. sedangkan enzim yang dikodekan oleh alel I^B mengubah zat H menjadi antigen B. Alel i tidak mempunyai enzim, selanjutnya zat H dalam sel darah merah menjadi individu ii . Lebih lanjut genotipe $I^A I^A$ atau $I^A i$ hanya mempunyai antigen A, genotipe $I^B I^B$ atau $I^B i$ hanya memiliki antigen B, $I^A I^B$ yang heterozigot memiliki kedua antigen dan individu ii tidak mempunyai antigen.



Gambar 1. Biosintesis antigen A dan B dalam sel darah Merah

Uji golongan darah ABO didasarkan atas penggumpalan, reaksi terjadi bila sel darah merah yang berisi satu atau dua antigen dicampur dengan serum yang berisi antibody tertentu. Setiap orang mampu menghasilkan berbagai antibody yang berbeda, setiap tipe antibody dapat mengenal dan mengkombinasikan dengan hanya satu antigen tertentu. Reaksi antara antigen dengan antibody adalah sangat spesipik.

Pada tahun 1900, Karl Landsteiner, bekerja di Viena, mengamati bahwa sel-sel darah merah yang dikoleksi dari seseorang kadang-kadang bersatu menjadi menggumpal bila dicampur dengan serum dengan orang lain. Bila penggumpalan terjadi antigen yang berada pada sel darah merah dari individu pertama bereaksi dengan antibody dari serum orang kedua. Reaksi ini menyebabkan sel darah merah menempel satu dengan yang lainnya sehingga dengan cepat darah mengendap, membentuk masa sel yang menggumpal disebabkan oleh adanya antigen-antibody tertentu, reaksi antigen A hanya dengan anti-A-antibodi, dan antigen B bereaksi hanya dengan anti-B_antibodi. Selanjutnya sel darah merah dari individu tipe A akan menggumpal hanya bila diekspose dengan serum anti-A, individu tipe B akan menggumpal hanya bila diekspose

dengan serum anti-B., tipe individu AB akan menggumpal bila diekspose dengan anti serum lainnya, dan individu tipe O bereaksi dengan tidak ada anti serum. Reaksi antigen-antibody terbentuk berdasarkan atas uji tipe darah. Lansteiner kemudian pada tahun 1930 mendapatkan hadiah nobel karena investigasi reaksi golongan darah ini.

Gambaran yang luar biasa dari system ABO adalah bahwa setiap orang secara otomatis memiliki antibody pada darahnya melawan antigen mana saja yang tidak ada pada sel-sel darah merahnya. Dengan kata lain, sebelum kontak dengan antigen A atau B asing tidak ada persyaratan untuk produksi antibody. Setiap tipe darah berisi antigen dan antibody seperti dibawah ini :

Tipe darah	Antigen pada sel darah merah	Antibody pada serum
A	Hanya tipe A	Hanya anti B
B	Hanya tipe B	Hanya anti A
AB	Tipe A dan B	Tidak ada anti A atau anti B
O	Tidak ada tipe A dan B	Anti A dan B

Dalam sistem kekebalan tubuh, kontak nyata dengan antigen asing dibutuhkan sebelum antibody tertentu dihasilkan kehadiran secara otomatis anti A dan anti B pada tipe darah tertentu dijelaskan lansleiner menemukan penggumpalan bila darah dua orang yang berbeda tipe golongan darah dicampur. Pernyataan tentang sistem ini memberikan informasi kombinasi yang tidak cocok dalam tranfusi darah. Penggumpalan saluran darah resipien yang ditranfusi akan menjadi fatal. Ketidakcocokan kombinasi terjadi bila sel darah merah donor yang membawa antigen yang berkoresponden terhadap antibody pada serum reipien. Sebagai contoh, donor tipe A dan resipien tipe B merupakan kombinasi yang tidak sesuai, oleh karena serum seseorang bertipe B berisi antibody A.

Adanya antibody juga dicatat pada Cross-matching tes yang digunakan pada kesesuaian untuk tranfusi. Individu bertipe O, tidak memiliki antigen, merupakan *-donor universal*. Tipe golongan darah O berisi kedua antibody, bahkan praktis dalam tranfusi seseorang dari semua tipe darah selain tipe O. Pada situasi ini, darah ditranfusi sangat lambat, mengikuti kehadiran antibody serum donor bercampur secara cepat pada darah resipien. Tabel berikut ini mengkombinasikan tipe darah ABO yang diperbolehkan dalam tranfusi darah.

Selanjutnya 500.000 antigen A atau B berlokasi pada sel darah merah, kelompok antigen lain juga telah dikenal ada sekitar 20 sistem golongan darah telah diidentifikasi, mengandung minimal 20 lokus gen yang berbeda yang diliputi pada antigen. Sistem golongan darah lain ini meliputi MN, Duffy, Dugo, Kell, Lewis,

Lutheran, dan Rh. Disebabkan reaksi antigen antibody pada sistem ini tidak mempunyai pengaruh disebabkan oleh ketidaksesuaian ABO atau Rh, tidak secara rutin diuji untuk tipe darah ini. Golongan darah MN, sebagai contoh, berisi dua antigen, tipe M dan tipe N. Khususnya alel Lm dan Ln, alel ini adalah codominan, menghasilkan tiga kelompok fenotipe: M (LmLm), MN (LmLn), dan N (LnLn).

Golongan Darah Rh.

Sistem golongan darah Rh dikenal/diketahui untuk reaksi ketidaksesuaian yang dapat berpengaruh terhadap fetus atau janin yang baru lahir. Sebagai dalam sistem ABO, antigen berlokasi pada sel-sel darah merah individu dari genotipe tertentu. Hanya 10.000-20.000 antigen Rh terdapat pada sel-sel darah merah, lebih sedikit jumlahnya daripada antigen A dan B. Antigen Rh diketahui sebagai Faktor Rh; individu yang memiliki faktor Rh disebut Rh positif. Kurang lebih 85 persen orang Amerika berRh positif. Persentase yang lebih rendah dari orang-orang yang telah memiliki faktor Rh disebut Rh negatif.

Dasar genetik sistem Rh tidak diketahui dengan pasti. Kita tahu bahwa ada sepuluh kelas antigen Rh. Dua hipotesis telah dikembangkan untuk menjelaskan sistem ini, yaitu oleh Weiner dan oleh Fisher dan Race. Menurut Weiner, lokus gen tunggal dengan alel ganda, sama dengan sistem ABO, berespon terhadap sifat Rh. Weiner mengidentifikasi ada sepuluh alel pada lokus tersebut, secara umum adalah r , r' , r^1 , R^0 , R , R^{1W} , R^2 dan R^Z .

Tabel 4. Dua Hipotesis Sistem Gen Rh dan Antigennya.

Genes Present		Antigen							
Weiner	Fisher-Race	Rh ₀	hr _{ll}	hr'	rh'	rh	hr	rh _{ll}	(Weiner)
		D	E	c	C	Ce	ce	E	(Fisher-Race)
R ⁰	Dce	+	+	+	-	-	+	-	
R ¹	DCe	+	+	-	+	+	-	-	
R ^{1W}	DC ^W e	+	+	-	+	+	-	-	
R ²	DcE	+	-	+	-	-	-	+	
R ^Z	DCE	+	-	-	+	-	-	+	
r	dce	-	+	+	-	-	+	-	
r'	dCe	-	+	-	+	+	-	-	
r _{ll}	dcE	-	-	+	-	-	-	+	

Setiap alel ini ditentukan oleh satu atau lebih variasi tipe antigen Rh, seperti Rho, rh¹, hr', rh dan rh¹. Tabel 3 menunjukkan tipe antigen dengan masing-masing alel.

Tipe yang menyebabkan masalah besar dalam tranfesi dan kehamilan adalah Rho, antigen ini dihasilkan oleh alel $R^0, R^I, R^{IW}, R^2,$ dan R^Z , tetapi tidak oleh alel dengan huruf kecil. Fenotipe dan genotipe dengan alel satu atau lebih huruf besar diketahui sebagai Rh positif dan fenotipe dihasilkan dari kombinasi huruf kecil dinyatakan sebagai Rh negatif. Bila disimbolkan R adalah alel dengan huruf besar dan simbol r adalah alel dengan huruf kecil, kita dapat membuat dasar genetik untuk sifat Rh dengan alel-alel ini. Genotipe R- adalah ber-Rh positif dan rr, Rh negatif.

Sebagai kontras, Fisher dan Race berhipotesa bahwa ada tiga lokus yang menghasilkan antigen, lebih dari satu lokus dengan beberapa alel. Ketiga lokus itu adalah d, c, dan e dan diasumsikan lokusnya sangat dekat satu sama lainnya pada kromosom yang sama. Setiap lokus memiliki sedikitnya dua alel (D dan d; c, c^w , dan c; E dan e) menghasilkan berbagai kemungkinan genotype seperti pada tabel di atas. Mayor antigen, dengan simbol Rho pada sistem Weiner, disebut antigen D oleh Fisher dan Race. Semua genotipe yang berisi satu alel D menghasilkan antigen dan Rh positif. Genotipe pada kondisi homozigot dd tidak menghasilkan antigen dan Rh negatif.

Hadir atau tidaknya antigen Rho (atau D) diperlukan untuk darah donor atau resipien. Akan menjadi komplikasi bila darah ber-Rh positif ditranfusi pada seseorang yang ber-Rh negative, menyebabkan resipien membuat anti Rh antibodi. Sebagaimana dengan sistem kekebalan (sistem ABO), antibodi dihasilkan hanya jika individu ber-Rh negative diekspose dengan antigen. Individu yang diekspose selanjutnya akan sensitive atau kebal.

Masalah akan terjadi apabila wanita ber-Rh negative menjadi sensitive dan terus menerus menjadi hamil dengan anak yang dikandung ber-Rh positif. Selama tiga trimester kehamilan. Antibodi ibunya diteruskan melalui plasenta ke dalam sistem darah fetus. Penyebaran anti Rh antibodi dapat berpengaruh berbahaya. Sel-sel darah merah fetus yang ber-Rh positif akan bereaksi dengan anti Rh antibody yang terdapat pada ibunya, menyebabkan anemia haemolisis (lisis pada sel darah merah fetus). Sel-sel darah merah yang muda (erythroblast) masuk ke dalam saluran darah fetus untuk mengganti sel-sel darah merah dewasa. Aksi ini disebut dengan kondisi *erythroblastosis fetalis*. Semakin besar kondisi ini semakin besar juga pengaruhnya. Di atas 10% fetus akan lahir sebelum waktunya. Bayi yang lahir hidup mungkin premature, jika lahir sesuai waktunya, akan membutuhkan transfuse darah amat segera disebut perfusi. Dalam keadaan ringan bayi akan menderita kuning ringan, tranfusi tidak diperlukan.

Wanita ber-Rh negatif biasanya sensitive bukan melalui tranfusi tetapi dari perembesan darah dari fetus yang ber-Rh positif ke dalam sirkulasi darah selama kehamilan sebelumnya. Perembesan ini mengakibatkan sensitifitas pada sang ibu. Oleh

karena sensitive, ibu yang ber-Rh negatif berespon sangat kuat terhadap kontak lebih lanjut dengan antigen Rho (antigen D). Antibodi yang kuat berespon terhadap Rh positif fetus pada kehamilan berikutnya dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel darah merah fetus. Ketidaksesuaian Rh biasanya tidak menjadi masalah pada kelahiran bayi ber-Rh positif pertama, akan berpengaruh pada kehamilan berikutnya.

VIII. DETERMINASI SEKS

Determinasi sex adalah cara penentuan jenis kelamin pada hewan dan manusia yang dilambangkan dengan huruf tertentu.

Kalau berbicara tentang seks maka ingatannya kita akan tertuju pada makhluk jantan dan betina atau laki dan perempuan yang berbeda. Jenis kelamin pada makhluk hidup dibedakan atas jenis jantan dan betina, walaupun di alam juga terdapat tumbuhan dan hewan tingkat tinggi yang hemafrodit, artinya dalam tubuh makhluk hidup dapat dihasilkan gamet jantan maupun betina.

Adanya perbedaan ini dipengaruhi oleh 2 faktor :

1. Genetik

Adalah hal yang paling menentukan jenis kelamin makhluk karena bahan genetik ada dalam kromosom, sehingga adanya perbedaan antara jantan dan betina ditentukan oleh komposisi kromosom.

2. Faktor Lingkungan

Biasanya ditentukan oleh keadaan fisiologis. Jika kadar hormon kelamin dalam tubuh tidak seimbang dapat mempengaruhi penampilan fenotipnya, sehingga jenis kelamin makhluk hidup dapat berubah.

Pada tahun 1891, Henking seorang ahli biologi bangsa Jerman, mengawali penelitian tentang hubungan kromosom dengan jenis kelamin. Dalam penelitian yang dilakukan pada spermatogenesis beberapa serangga, berhasil ditemukan suatu struktur di dalam inti sel yang dinamakan -badan X. Penelitian-penelitian selanjutnya menghasilkan kesimpulan bahwa badan X adalah sebuah kromosom. Oleh sebab itu badan X disebut sebagai kromosom X.

Khusus pada *Drosophila*, penentuan jenis kelamin didasarkan pada **Index Kelamin** yang merupakan *rasio antara jumlah kromosom X dengan jumlah pasangan autosom*. Bila rasionya lebih besar atau sama dengan setengah, jenis kelaminnya jantan.

Bila lebih besar atau sama dengan satu jenis kelaminnya betina. Dan bila lebih besar dari setengah dan lebih kecil dari satu lalat tersebut merupakan lalat intersex.

	lalat jantan	\leq lalat intersex	\leq lalat betina
	0	1/2	1
Contoh: AAXX		$IK = 2X/2A = 1$	lalat betina
AAXY		$IK = X/2A = 0,5$	lalat jantan
AAXXX		$IK = 3X/2A = 1,5$	lalat betina
AAXXY		$IK = 2X/2A = 1$	lalat betina
AAXO		$IK = X/2A = 0,5$	lalat jantan
AAAXX		$IK = 2X/3A = 0,6$	lalat intersex

Beberapa tipe penentuan jenis kelamin

Penentuan jenis kelamin pada makhluk hidup lain dapat dilihat pada tabel berikut:

Organisme	Determinasi Sex	
	Jantan	Betina
Manusia	XY	XX
Drosophilla	XY	XX
Belalang	XO	XX
Aves, Kupu, Ikan, Reptil	ZZ	ZW
Ayam	ZZ	ZO
Lebah	n	2n

I. Tipe XY

1. Pada lalat buah (*Drosophila melanogaster*).

Lalat ini banyak dipakai dalam bidang penelitian genetika karena jumlah kromosomnya sedikit sehingga mudah diamati. *Drosophila melanogaster* mempunyai 8 buah kromosom, yang terdiri atas :

- 6 buah kromosom tubuh dimana jantan dan betina bentuknya sama
- 2 buah kromosom kelamin dimana jantan dan betina bentuknya tidak sama

2. Manusia

Manusia memiliki 46 kromosom (23 pasang kromosom). Kromosom manusia terdiri dari 22 pasang kromosom tubuh dan 1 pasang kromosom seks (kromosom kelamin). Pria memiliki sepasang kromosom seks yang diberi symbol XY. Sedangkan perempuan juga memiliki sepasang kromosom seks yang diberi symbol XX. Laki-laki menghasilkan sperma yang mengandung gamet (sel kelamin) X atau Y. pada waktu terjadi pembuahan, pertemuan sel sperma Y dan sel telur X akan membentuk individu XY (laki-laki). Sedangkan pertemuan sel sperma X dan sel telur X akan membentuk individu XX (Perempuan). Jadi, kemungkinan anak yang di lahirkan itu laki-laki atau perempuan adalah 50 %.

Peranan kromosom X dan Y pada manusia adalah:

Kromosom X membawa gen-gen yang menentukan sifat perempuan

Kromosom Y membawa gen-gen yang menentukan sifat laki-laki

Perbedaan kromosom pada manusia dengan *Drosophila melanogaster* adalah:

Pada *Drosophila melanogaster* kromosom Y tidak mempengaruhi penentuan jenis kelamin jantan. Pada manusia berapapun banyaknya kromosom X asalkan mempunyai kromosom Y maka orang tersebut adalah laki-laki.

Kelainan kromosom pada manusia

1. Kelainan pada kromosom kelamin

Contoh :

- Sindrom Turner, dimana individunya perempuan, sedangkan formula kromosomnya adalah 22 autosom + XO dan orang ini mandul
- Sindrom Klinefelter, dimana individunya laki-laki, sedangkan formula kromosomnya adalah 22 autosom + XXY dan orang ini mandul
- Wanita super, dimana formula kromosomnya adalah 22 autosom + XXX, dimana individu ini meninggal waktu masih kanak-kanak karena alat tubuh tidak berkembang sempurna
- Pria XYY, dimana orang ini sangat agresif dan sering dijumpai di LP

2. Kelainan pada autosom

Kelainan ini dimiliki oleh kedua jenis kelamin, dimana hal ini terjadi karena adanya non-disjunction

Contoh : Sindrom Down. Sindrom ini terjadi karena adanya kelebihan kromosom pada autosom No. 21, dimana individunya memiliki 3 buah autosom No. 21

Apabila terjadi non-disjunction selama oogenesis (pembentukan sel telur) maka akan menjadi abnormal

- a. 3 pasang autosom + XX + 3 pasang autosom + X akan menjadi wanita super dan hidupnya tidak lama (mati)
- b. 3 pasang autosom + XX + 3 pasang autosom + Y akan menjadi wanita yang mempunyai kromosom Y (individu ini akan fertile, seperti lalat biasa)
- c. 3 pasang autosom + 0 + 3 pasang autosom + X akan menjadi jantan yang steril
- d. 3 pasang autosom + 0 + 3 pasang autosom + Y akan lethal, sehingga lalat YO tidak dikenal

Kesimpulan :

Dengan adanya non-disjunction, membuktikan bahwa kromosom Y pada lalat *Drosophila melanogaster* tidak mempunyai pengaruh pada penentuan jenis kelamin, karena :

- a. Lalat XXY adalah betina
- b. Lalat X0 adalah jantan

C.B Bridges menyatakan bahwa faktor penentu betina terdapat pada kromosom X, sedangkan faktor penentu jantan terdapat pada autosom

Peranan kromosom X dan Y pada *Drosophila melanogaster*

Kromosom X :

- * memiliki gen-gen yang menentukan sifat betina
- * membawa kehidupan, karena lalat yang memiliki kromosom X (lalat Y0) adalah lethal.

Kromosom Y :

- * Tidak mempunyai pengaruh pada penentuan jenis kelamin (jantan dipengaruhi oleh autosom)
- * Menentukan kesuburan (fertilitas) karena lalat yang tidak memiliki kromosom Y (X0) adalah mandul/steril.

Bentuk kromosom kelamin dibedakan atas :

- Kromosom X berbentuk batang lurus, betina mempunyai 2 buah kromosom X
- Kromosom Y berbentuk sedikit bengkok pada salah satu ujungnya. Kromosom Y lebih pendek dari kromosom X. Makhluk jantan memiliki 1 kromosom X dan 1 kromosom Y.

Karena kromosom pada betina sejenis (XX) maka disebut homogametic, sedangkan pada jantan disebut heterogametic karena berbeda (XY).

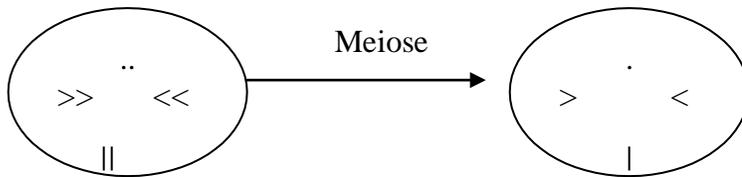
Dalam keadaan normal betina akan membentuk 1 macam sel telur yang bersifat haploid (3 pasang autosom + X), jantan akan membentuk 2 macam spermatozoayang haploid (3 pasang autosom + X dan 3 pasang autosom + Y).

Apabila sel telur dibuahi oleh spermatozoa yang membawa kromosom X, maka akan menjadi betina yang diploid (3 pasang autosom + XX), sedangkan bila sel telur dibuahi oleh spermatozoa yang membawa kromosom Y, maka akan menjadi jantanyang diploid (3 pasang autosom + XY).

Terkadang pada waktu pembentukan sel kelamin (meiose) sepasang kromosom kelamin tidak memisahkan diri, melainkan tetap berkumpul disebut non disjunction.

Gambar :

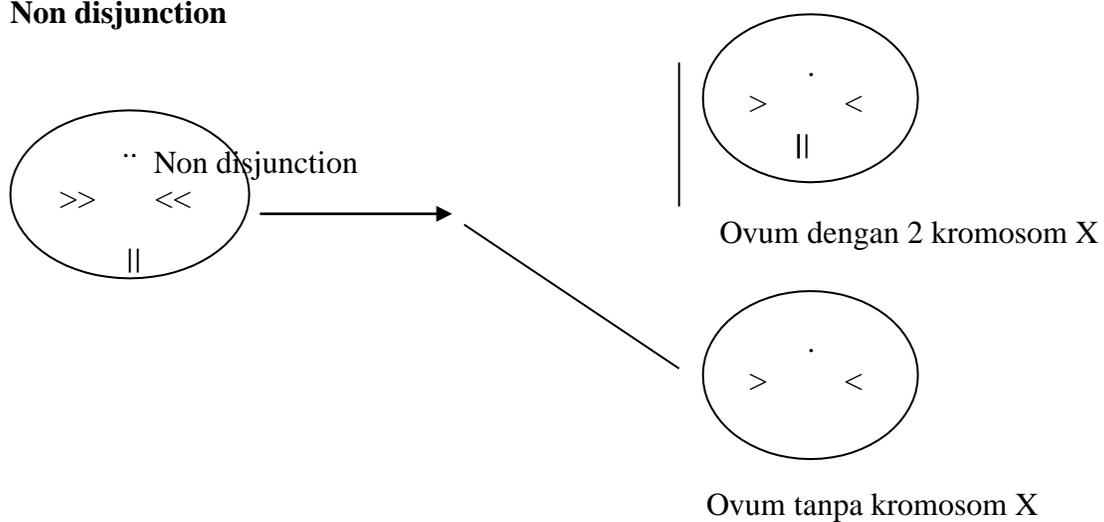
Normal



Inti sel lalat betina

ovum normal dengan 1 kromosom X

Non disjunction



3. Pada hewan menyusui

Mengikuti sistem XY yang betina = XX, sedang yang jantan = XY

4. Pada tumbuhan berumah dua

Contohnya salak : mengikuti sistem XY

II. Tipe XO

Pada beberapa serangga, khususnya ordo Hemiptera (kepik) dan ordo Orthoptera (belalang), hewan jantannya bersifat heterogametik. Sel gamet yang dihasilkan jantan ada dua macam, yaitu X dan O (tanpa kromosom kelamin, namun subur), berbeda halnya pada *Drosophila melanogaster* bersifat fertile.

Pada saat pembuahan, pertemuan sel telur X dan sel sperma X membentuk individu XX (belalang betina), sedangkan sel telur X dan sperma O membentuk individu XO (belalang jantan).

III. Tipe ZW (kebalikan dari manusia)

Contoh : Kupu-kupu, ikan, reptile dan burung

Makhluk jantan memiliki sepasang kromosom kelamin yang sama bentuknya disebut bersifat homogametic (ZZ), sedangkan yang betina bersifat heterogametic (ZW).

IV. Tipe ZO

Contoh : Pada unggas (ayam, itik, dsb)

Yang betina (ZO) bersifat heterogametic, sedangkan yang jantan (ZZ) bersifat homogametic. Betina hanya memiliki 1 kromosom kelamin, bentuknya berbeda dengan belalang, jantan memiliki 1 macam kromosom kelamin.

Seks membalik sebagian

Ayam betina dewasa dapat kembali berubah menjadi jantan dan berlaku seperti ayam jantan. Hal ini disebabkan karena rusaknya ovarium/ovarium diserang penyakit. Tetapi susunan kromosomnya tetap sama. Ayam betina normal mempunyai 2 gonad (kanan dan kiri). Yang kiri berkembang menjadi ovarium, sedangkan yang kanan mengalami degenerasi. Pada ayam yang membalik jenis kelaminnya, ovarium kiri rusak, sedangkan yang kanan menjadi testis.

V. Penentuan jenis kelamin lebah madu

Penentuan jenis kelamin lebah madu dan hymenoptera lain tidak berdasarkan kromosom seks, karena mereka tidak memiliki kromosom seks. Lebah jantan memiliki jumlah kromosom yang haploid, sedangkan lebah betina diploid.

Pada umumnya sel telur yang haploid dihasilkan dari pembelahan meiosis khusus. Pengaturan jenis kelamin pada keturunannya sangat khas dan tidak dimiliki oleh hewan lainnya. Selain ditentukan oleh kromosom seks, jenis kelamin juga ditentukan oleh faktor lain, misalnya faktor ploidi sel. Ploidi sel adalah jumlah set kromosom. Contohnya penentuan jenis kelamin pada lalat buah.

IX. PENURUNAN SIFAT TERKAIT SEKS

1. Seks Influence (Sifat yang Dipengaruhi oleh Seks)

Istilah faktor keturunan (hereditas) hampir sama artinya dengan nasib atau takdir. Karakteristik yang diturunkan dari satu generasi ke generasi berikutnya dianggap tidak dapat diubah. Orang beranggapan bahwa anak yang lahir dari orang tua yang berbakat musik akan diberkahi dengan kemampuan bermusik. Hal ini biasanya masih dianggap takdir. Hasil eksperimen ditemukan bahwa lingkungan dan faktor eksternal dapat mengubah cara kerja gen. Gen-gen yang dorman (tak aktif) dapat diaktifkan.

Selain menyebabkan pembelahan sel dan mentransmisikan sifat-sifat dari orang tua ke anak, gen bekerja tanpa henti pada tingkatan jauh lebih langsung. Perkawinan antara seorang wanita cantik dan laki-laki yang pintar belum tentu lahir jenius yang tampan. Gen-gen tersebut terlihat berjajar dari atas ke bawah sepanjang garis vertikal, yang merupakan simbol dari kromosom. Huruf abjad ada yang ditulis dengan huruf besar dan kecil. Huruf besar menunjukkan sifat yang dominan dari gen, sedangkan huruf kecil menunjukkan sifat yang resesif dari gen.

Ada beberapa sifat keturunan yang tampak pada kedua macam jenis kelamin, tetapi pada salah satu sex jumlahnya lebih besar dibanding sex lainnya. Hal ini terjadi karena gen-gen autosom yang ekspresinya dipengaruhi oleh sex. Misalnya sex yang lebih sering dijumpai pada pria adalah bibir sumbing, kepala botak, celah bibir dan langit-langit, juga gangguan mental akibat genetik. Gen ini disebut dengan sex influenced gene, merupakan gen dominan yang biasanya memperlihatkan pengaruh sama pada semua jenis, tetapi ada gen-gen tertentu yang dipengaruhi jenis kelamin. Gen dominan akan memperlihatkan pengaruhnya pada individu jantan dan betina. Banyak contoh sifat keturunan yang ditentukan oleh gen autosom ekspresinya dipengaruhi oleh seks. Sifat itu tampak pada kedua macam seks, tetapi pada salah satu seks ekspresinya lebih besar dari pada untuk seks lainnya. Perempuan misalnya, perempuan lebih sering menderita penyakit autoimun, tetapi sebaliknya laki-laki lebih sering berkepal botak dibandingkan dengan perempuan.

Contoh :

1. Kepala botak

Kepala botak ini bukan akibat penyakit atau kekurangan gizi dalam makanan, tetapi benar-benar keturunan. Walaupun lazimnya kepala botak terdapat pada laki-laki, namun, sekali-kali dapat dilihat adanya perempuan dengan kepala botak. Biasanya, kepala botak baru dapat terlihat setelah orang berusia 30 tahun. Diwaktu kanak-kanak atau remajanya masih berambut normal. Pada awalnya, kepala botak dikira disebabkan

Pewarisan sifat ini sama persis dengan pewarisan sifat pada kepala berambut botak yang telah diuraikan sebelumnya.

Genotip	Laki-laki	Perempuan
TT	Telunjuk pendek	Telunjuk pendek
Tt	Telunjuk pendek	Telunjuk Panjang
tt	Telunjuk panjang	Telunjuk panjang

3. Warna mahagony pada sapi Ayshire
4. Sifat bertanduk pada domba
5. Sifat berjambang pada kambing

2. Seks Limited (Sifat yang Dibatasi oleh Seks)

Pengertiannya adalah suatu sifat yang hanya tampak pada jenis kelamin tertentu saja. Beberapa sifat yang dibatasi oleh seks, misalnya:

- a. Pembentukan payudara dan ovum serta kemampuan menghasilkan sel telur pada perempuan
- b. Pembentukan kumis, prostat dan testes serta kemampuan untuk membentuk spermatozoa pada laki-laki
- c. Gen pengatur sifat kelamin sekunder. Hal ini hanya tampak pada jenis kelamin tertentu. Sifat kelamin sekunder pada pria, antara lain adanya kumis, jakun, suara besar. Sedangkan sifat kelamin sekunder pada wanita antara lain kulit halus, pinggul besar, dan suara tinggi.

Pada hewan dan tumbuh-tumbuhan pun dikenal beberapa peristiwa yang menunjukkan bahwa ekspresi gen dibatasi oleh seks. Contohnya saja warna pada sayap kupu-kupu Semanggi. Kupu-kupu jantan selalu berwarna kuning, tetapi yang betina dapat berwarna kuning dan putih.

Warna putih dominan, tetapi hanya memperlihatkan diri pada kupu-kupu betina. Jika P merupakan gen untuk warna putih (pada kupu-kupu betina saja), sedangkan p untuk warna kuning, maka ekspresi gen yang dibatasi oleh seks itu sebagai berikut:

<i>Genotip</i>	<i>Kupu-kupu jantan</i>	<i>Kupu-kupu betina</i>
PP	Kuning	Putih
Pp	Kuning	Putih
pp	Kuning	Kuning

3. Sex Linked (Terpaut Seks)

1. Gen yang terdapat pada kromosom X

- a. Disebabkan oleh gen resesif
 - b. Disebabkan oleh gen dominan
- a. Disebabkan oleh gen resesif, contohnya:
- ❖ Tautan Seks pada *Drosophila melanogaster*
Contoh : lalat mata merah dan mata putih

- ❖ Tautan Seks pada manusia

- Tautan Seks pada *Drosophila*

Peristiwa yang menunjukkan adanya hubungan antara sifat keturunan dan sifat kelamin telah diketahui sejak 600 SM; misalnya peristiwa darah sukar membeku pada luka yang diderita anak laki-laki. Morgan mengawinkan lalat jantan bermata putih dengan lalat betina normal (bermata merah). Berdasarkan percobaan Morgan membuat hipotesis berikut.

1. Faktor warna merah pada mata dominan terhadap mata putih. Gen resesif yang menentukan warna merah putih hanya memperlihatkan pengaruhnya pada lalat jantan.
2. Gen yang menentukan warna mata *Drosophila* tertaut pada kromosom X. selanjutnya, Morgan menyatakan bahwa gen yang terdapat pada kromosom seks (X) disebut tertaut seks. Dari hasil penelitian, didapatkan 20 macam gen tertaut kromosom X pada lalat *Drosophila*

- Tertaut Seks Pada Manusia

Ada sekitar 150 sifat menurun pada manusia yang kemungkinan besar disebabkan oleh gen-gen tertaut X, misalnya buta warna, hemofilia, dan anadontia.

1. Buta warna

Ada dua macam buta warna, yaitu **buta warna total** dan **buta warna merah hijau**. Penderita buta warna total hanya dapat melihat warna hitam dan putih. Buta warna disebabkan oleh gen resesif, cb (dari kata -color blind) yang tertaut kromosom X. Apabila gen resesif berpasangan dengan kromosom X, tidak menyebabkan buta warna, tetapi individu yang bersangkutan membawa sifat buta warna (carier). Apabila gen resesif berpasangan dengan kromosom Y, akan menyebabkan pria buta warna.

2. Hemofilia

Adalah suatu penyakit menurun yang mengakibatkan darah sukar membeku. Jika orang normal mengalami luka, darahnya akan segera membeku dalam waktu 5-7 menit, sedangkan penderita hemofilia darahnya baru akan membeku antara 50 menit hingga 2 jam. Sehingga, dapat mengakibatkan kematian karena kehabisan darah.

3. Anadontia

Merupakan kelainan menurun yang disebabkan oleh gen resesif pada kromosom X. penderita Anadontia tidak pernah memiliki benih gigi di dalam tulang rahangnya, sehingga gigi tidak akan tumbuh. Kelainan ini lebih sering dijumpai pada pria. Alel A menentukan orang yang bergigi normal, alel resesif a menentukan orang yang anadontia.

b. Disebabkan gen dominant

Contoh : gigi coklat dan mudah rusak, karena kurang email. Kelainan disebabkan oleh gen dominant B yang terdapat pada kromosom X. Allelnya resesif b menentukan gigi normal.

Ciri khas dari pewarisan gen-gen yang terdapat pada kromosom X adalah adanya pewarisan silang (criss cross inheritance).

Rangkai Kelamin pada Ayam

Penentuan jenis kelamin pada ayam mengikuti tipe Z0. Jantan ZZ, betina Z0.

Pada ayam ada juga gen-gen yang terdapat pada kromosom kelamin, misalnya :

- a. B = gen untuk bulu bergaris-garis
b = gen untuk bulu polos

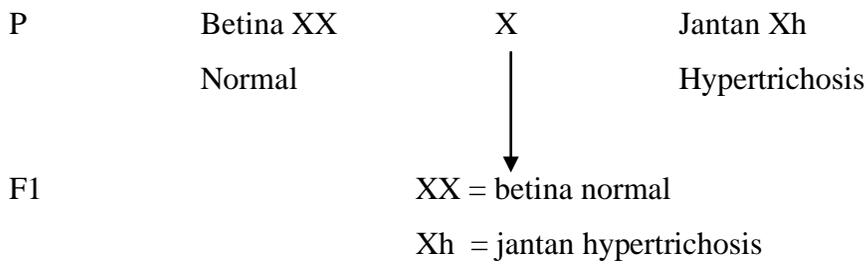
P	Betina B0 Z0 Bulu bergaris	X ↓	Jantan bb ZZ Bulu polos
F1	Bb = jantan bulu bergaris b0 = betina bulu polos		
F2	Bb = jantan bulu bergaris bb = jantan bulu polos B0 = betina bulu bergaris b0 = betina bulu polos		

- b. K = gen yang menyebabkan bulu pada anak ayan tumbuh cepat k
= gen yang menyebabkan bulu pada anak ayan tumbuh lambat

2. Gen yang terdapat pada kromosom Y

Kromosom Y jauh lebih sedikit mengandung gen, karena ukurannya lebih pendek dibandingkan kromosom X. Kromosom Y hanya dimiliki oleh jantan, maka gen pada kromosom Y diwariskan pada keturunan laki-laki saja.

Contoh : Hypertrichosis, yaitu tumbuhnya rambut pada bagian-bagian tertentu ditepi daun telinga. Disebabkan karena gen resesif h yang terdapat pada kromosom Y.



Gen rangkai Y tidak banyak jumlahnya karena :

- a. Kromosom Y adalah kromosom yang paling kecil
- b. Kromosom Y relative sedikit pengaruhnya yang dapat dilihat pada sindrom priaXYY (tidak menderita abnormalitet yang parah, sukar dibedakan dari yang normal).
- c. Orang perempuan (XX) adalah individu normal, walaupun ia tidak memiliki kromosom sama sekali.

X. PENURUNAN SIFAT LETHAL

Gen lethal adalah gen yang dalam keadaan homozigotik dapat menyebabkan kematian individu yang memilikinya.

1. Gen lethal dominant

Contoh :

1. Kaki pendek pada ayam (creeper) karena menderita achondroplasia

CC = lethal, cc = tulang normal, Cc = creeper

P = ♀ Cc X ♂ Cc
Creeper Creeper

F1 = CC = lethal

Cc = creeper (cacat)

cc = normal

2. Pada sapi

Ada gen resesif am, bila homozigot resesif (amam) akan lethal. Sapi lahir tidak mempunyai kaki sama sekali. Sapi homozigot dominant AmAm dan heterozigot Amam adalah normal.

3. Pada unggas

Telah ditemukan sekitar 30-40 gen fatal. Beberapa gen fatal pada ayam yang dalam keadaan homozigot resesif akan menyebabkan kematian pada ayam (lethal) sebelum menetas, selain contoh di atas adalah :

Gen ch (chondrodystrophy), yang menyebabkan tulang tubuh tumbuh secara abnormal. Gen ini resesif autosom dan dalam keadaan homozigot (chch) menyebabkan embrio mati pada penetasan dini, walaupun kadang-kadang ada yang dapat bertahan samapi penetasan 21 hari.

Gen wg (wingless), yang dalam keadaan homozigot menyebabkan embriotidak mempunyai sayap atau setidaknya tumbuh secara rudimenter.

Gen mx (abnormal maxillae), menyebabkan rahang atas tidak ada atau tumbuh secara abnormal.

Gen md (missing madibulae), yang seperti gen mx, tetapi terhadap pertumbuhan rahang bawah.

Gen dp (diplopodia), yang menyebabkan kerangka kaki dobel.

Cara mendeteksi dan mengeliminir gen-gen lethal

Gen lethal bisa dieliminir dengan jalan mengadakan perkawinan berulang kali pada individu yang menderita cacat akibat adanya gen lethal. Hal ini lebih mudah dilakukan pada hewan dan tumbuhan dibandingkan pada manusia.

XI. HUKUM KEMUNGKINAN (PROBABILITY)

Dalam Ilmu Genetika, kemungkinan ikut mengambil peranan penting. Misalnya mengenai pemindahan gen-gen dari induk/orang tua ke gamet-gamet, pembuahan sel telur oleh spermatozoon, berkumpulnya kembali gen-gen di dalam zigot sehingga dapat terjadi berbagai macam kombinasi.

Sesungguhnya banyak hal tidak akan terhindar dari adanya kemungkinan yang harus dihadapi. Misalnya: saudara ingin bepergian sedangkan udaranya mendung tentunya menghadapi kemungkinan akan turun hujan ataukah tidak, seorang mahasiswa yang menantikan hasil ujiannya tentunya menghadapi kemungkinan apakah ia akan

lulus ataukah tidak, seorang mahasiswa yang kos (menumpang) dan pulang dari kuliah tentunya menghadapi kemungkinan akan mendapat telur ataukah tahu dan tempe sebagai lauk pauk, seorang ibu yang hendak melahirkan anak tentunya menghadapi kemungkinan apakah anaknya nanti laki-laki ataukah perempuan. Masih banyak contoh lainnya semacam itu.

Dalam Ilmu Genetika, kemungkinan ikut mengambil peranan penting. Misalnya mengenai pemindahan gen-gen dari induk/orang tua ke gamet-gamet, pembuahan sel telur oleh spermatozoon, berkumpulnya kembali gen-gen di dalam zigot sehingga dapat terjadi berbagai macam kombinasi.

Dasar-Dasar Teori Kemungkinan

Agar supaya kita lebih memahami teori kemungkinan, ada baiknya apabila kita mengenal dasar-dasarnya terlebih dahulu.

1. Kemungkinan atas terjadinya sesuatu yang diinginkan ialah sama dengan perbandingan antara sesuatu yang diinginkan itu terhadap keseluruhannya.

Singkatnya :

$$K_{(x)} = \frac{x}{x+y}$$

K = kemungkinan

$K_{(x)}$ = besarnya kemungkinan untuk mendapat (x)

$x + y$ = jumlah keseluruhannya.

a. Uang logam mempunyai dua sisi, yaitu sisi atas (disebut juga kepala) dan sisi bawah (disebut juga ekor). Jika kita melakukan tos (melempar uang logam ke atas) dengan sebuah uang logam, berapa kemungkinannya kita akan mendapat kepala ?

Jawabnya :

$$K_{(\text{kepala})} = \frac{\text{kepala}}{\text{kepala+ekor}} = \frac{1}{1+1} = \frac{1}{2}$$

b. Jika kita melempar sebuah dadu, berapa kemungkinannya akan mendapat angka 6?

Jawabnya : Sebuah dadu mempunyai 6 sisi, masing-masing diberi angka dari 1 sampai

6. Jadi ada satu angka 6.

$$K_{(\text{angka6})} = \frac{\text{angka 6}}{\text{jumlah sisi}} = \frac{1}{6}$$

Jadi kecil sekali kemungkinannya untuk mendapat angka 6.

c. Berapa kemungkinannya seorang ibu akan melahirkan anak laki-laki?

Jawabnya: Dalam keadaan normal hanya ada dua kemungkinan bagi seorang ibu di waktu hendak melahirkan anaknya, yaitu akan lahir seorang laki-laki atau seorang perempuan.

$$K_{()} = \frac{\text{angka 6}}{\text{jumlah sisi}} = \frac{1}{6}$$

$$K_{(\text{♂})} = \frac{\text{♂}}{\text{♂} + \text{♀}} = \frac{1}{1 + 1} = \frac{1}{2}$$

d. Di dalam sebuah kantong terdapat 20 bola berwarna, terdiri dari 5 bola merah, 12 kuning dan 3 hijau. Jika saudara disuruh mengambil sebuah bola dari dalam kantong (tentunya tanpa dilihat), berapa kemungkinannya akan mendapat sebuah bola hijau?

$$K_{(\text{hijau})} = \frac{\text{bola hijau}}{\text{jumlah semua bola}} = \frac{3}{20}$$

e. Dalam perayaan Sekaten di alun-alun Yogyakarta, sebuah stand menyelenggarakan undian. Dengan membayar Rp. 500,— pe-ngunjung diperkenankan menarik sehelai kartu dari setumpuk kartu bridge. Jika ia bisa mendapatkan kartu Aas (dengan tanda huruf A), ia akan menerima sebuah radio transistor seharga Rp. 4.000,— sebagai hadiah. Berapa kemungkinannya ia akan mendapat hadiah itu?

Jawabnya: Setumpuk kartu bridge terdiri dari 52 helai kartu, di antaranya terdapat 4 helai kartu Aas.

$$K_{(\text{Aas})} = \frac{\text{jumlah kartu Aas}}{\text{jumlah seluruh kartu}} = \frac{4}{52} = \frac{1}{13}$$

Jadi kecil sekali kemungkinannya untuk mendapat hadiah.

b. Kemungkinan terjadinya dua peristiwa atau lebih, yang masing-masing berdiri sendiri ialah sama dengan hasil perkalian dari besarnya kemungkinan untuk peristiwa- peristiwa itu.

$$\text{Singkatnya: } K_{(x+y)} = K_{(x)} \times K_{(y)}$$

Contoh:

a. Jika kita melakukan tos dengan 2 uang logam bersama-sama (satu di tangan kiri dan satunya lagi di tangan kanan), berapa kemungkinannya akan mendapat kepala pada kedua uang logam itu?

Jawabnya :

$$K_{(\text{kepala})} = \frac{1}{2}$$

$$K_{(\text{kepala} + \text{kepala})} = \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$$

Dapat diartikan bahwa setiap 4 kali melakukan tos dengan dua uang logam bersama-sama, kesempatan untuk mendapat kepala pada dua uang logam itu adalah satu kali saja.

- b. Berapa kemungkinannya bahwa dua anak pertama dari suatu keluarga adalah laki-laki?

Jawabnya: Di muka telah diketahui bahwa kemungkinan lahirnya anak laki-laki atau perempuan adalah sama, yaitu $\frac{1}{2}$.

$$K_{(\♂ + ♀)} = \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$$

Hal ini dengan mudah dapat dibuktikan sebagai berikut:

<i>Anak pertama</i>	<i>Anak kedua</i>
laki-laki	perempuan
perempuan	laki-laki
perempuan	perempuan
laki-laki	laki-laki

Dapat diartikan pula bahwa dari setiap 4 keluarga beranak dua akan diketemukan 1 keluarga yang kedua anaknya laki-laki.

- c. Suami isteri masing-masing normal tetapi pembawa gen untuk albino. Berapa kemungkinannya mereka akan mendapatkan seorang anak perempuan albino? Jawabnya:

Diagram perkawinan suami istri itu sebagai berikut :

P	♂	Aa	x	♀	Aa	dari diagram diseeleh kiri
		normal			normal	dapat diketahui bahwa :
F ₁	$\left. \begin{array}{l} AA = \text{normal} \\ Aa = \text{normal} \\ Aa = \text{normal} \end{array} \right\} = \frac{1}{4}$			$K_{(\text{albino})} = \frac{1}{4}$		
				sedangkan $K_{(\♀)} = \frac{1}{2}$		
				Maka $K_{(\♀ \text{ albino})} =$		
				$= \frac{1}{2} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{8}$		

- c. Kemungkinan terjadinya dua peristiwa atau lebih, yang saling mempengaruhi ialah sama dengan jumlah dari besarnya kemungkinan untuk peristiwa-peristiwa itu.

Singkatnya: $K(x \text{ atau } y) = K(x) + K(y)$

Contoh:

- a. Jika kita melakukan tos dengan dua uang logam bersama-sama, berapa kemungkinannya akan mendapatkan dua kepala atau dua ekor pada kedua uang logam itu?

Jawabnya : $K_{(\text{kepala})} = \frac{1}{2}$

$K_{(\text{ekor})} = \frac{1}{2}$

$$K_{(\text{kepala})} = \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$$

$$K_{(\text{dau ekor})} = \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$$

$$K_{(2 \text{ kepala atau } 2 \text{ ekor})} = \frac{1}{4} + \frac{1}{4} = \frac{2}{4} = \frac{1}{2}$$

Hal ini dengan mudah dapat dibuktikan sebagai berikut:

Uang logam I

kepala

ekor

kepala

ekor

Uang logam II

ekor

kepala

kepala

ekor

b. Jika kita menarik sehelai kartu dari setumpuk kartu bridge, berapa kemungkinannya kita akan mendapat sehelai kartu Aas atau sehelai kartu Raja (diberi tanda huruf K)?

Jawabnya:

$$K_{(\text{Aas})} = \frac{4}{52} = \frac{1}{13}$$

$$K_{(\text{Raja})} = \frac{4}{52} = \frac{1}{13}$$

$$K_{(\text{Aas atau raja})} = \frac{1}{13} + \frac{1}{13} = \frac{2}{13}$$

Penggunaan Rumus Binomium $(a + b)^n$

Untuk mencari kemungkinan biasanya dapat ditempuh jalan yang lebih mudah, yaitu dengan menggunakan rumus binomium $(a + b)^n$.

Di sini a dan b merupakan kejadian/peristiwa yang terpisah, sedangkan n menyatakan banyaknya percobaan.

Contoh:

1. Kita melakukan tos dengan 3 uang logam bersama-sama. Berapa kemungkinannya kita akan mendapatkan satu kepala dan dua ekor pada ketiga uang logam?

Jawabnya: Karena digunakan 3 uang logam, tentunya $n = 3$. Di muka telah diketahui bahwa di waktu melakukan tos dengan se-buah uang logam, kemungkinan untuk mendapatkan kepala adalah sama besarnya dengan kemungkinan untuk mendapatkan ekor, yaitu $\frac{1}{2}$.

Andaikan: a = kemungkinan untuk mendapatkan kepala ($\frac{1}{2}$).

b = kemungkinan untuk mendapatkan ekor ($\frac{1}{2}$).

$$(a + b)^3 = a^3 + 3 a^2b + 3 ab^2 + b^3$$

Sekarang kita masukkan perumpamaan di atas ke dalam rumus, sehingga:

$$K_{(1 \text{ kepala, } 2 \text{ ekor})} = 3 ab^2 = 3 \left(\frac{1}{2}\right) \left(\frac{1}{2}\right) = \frac{3}{8}$$

2. Mempelai baru tidak setuju dengan anjuran Pemerintah untuk ber-KB, karenamereka beranggapan bahwa anak adalah rezeki dari Tuhan YME. Berhubung dengan itu

mereka merencanakan mem-punyai 6 orang anak. Berapakah kemungkinannya bahwa anak-anak mereka akan terdiri dari:

- 3 anak perempuan dan 3 anak laki-laki.
- 2 anak perempuan dan 4 anak laki-laki.
- 6 anak laki-laki.
- urutan tertentu, yaitu laki-laki, perempuan, laki-laki, perempuan, laki-laki, perempuan?

Jawabnya: Karena diinginkan 6 anak, maka $n = 6$.

Untuk mencari uraian dari pangkat 6 dapat digunakan pedoman segitiga Pascal, yaitu:

			1					$(a + b)^1$	
			1	1				$(a + b)^2$	
			1	2	1			$(a + b)^3$	
			1	3	3	1		$(a + b)^4$	
			1	4	6	4	1	$(a + b)^5$	
			1	5	10	10	5	1	$(a + b)^6$
			1	6	15	20	15	6	1

Telah diketahui bahwa kemungkinan lahirnya anak perempuan dan anak laki-laki adalah sama, yaitu $\frac{1}{2}$.

Andaikan: $a =$ kemungkinan lahirnya anak laki-laki ($\frac{1}{2}$).

$b =$ kemungkinan lahirnya anak perempuan ($\frac{1}{2}$).

$$a. K_{(3 \text{ perempuan, } 3 \text{ laki-laki})} = 20 a^3 b^3 = 20 \left(\frac{1}{2}\right)^3 \left(\frac{1}{2}\right)^3 = \frac{20}{64}$$

$$b. K_{(2 \text{ perempuan, } 4 \text{ laki-laki})} = 15 a^4 b^2 = 15 \left(\frac{1}{2}\right)^4 \left(\frac{1}{2}\right)^2 = \frac{15}{64}$$

$$c. K_{(6 \text{ laki-laki})} = b^6 = \left(\frac{1}{2}\right)^6 = \frac{1}{64}$$

Jadi untuk mendapatkan kombinasi yang pertama (3 perempuan, 3 laki-laki)

kemungkinannya adalah 20 kali lebih besar daripada kombinasi yang ketiga (6 laki-laki).

d. Karena diinginkan urutan tertentu, maka digunakan dasar teori kemungkinan yang kedua, yaitu dengan mengalikan kemungkinan dari tiap peristiwa.

$$\text{Jadi } K_{(\text{♂, ♀, ♂, ♀, ♂, ♀})} = \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{64}$$

3. Suami isteri masing-masing normal tetapi heterozigotik untuk albino ingin mempunyai 4 orang anak. Berapa kemungkinannya bahwa:

- semua anak itu akan normal.
- seorang anak saja yang albino, sedang yang 3 lainnya normal.

c. anak yang terakhir saja yang albino, jika toh ada yang akan albino? Jawabnya: Karena diinginkan 4 orang anak, maka:

$$(a + b)^4 = a^4 + 4 a^3b + 6 a^2b^2 + 4 ab^3 + b^4$$

Suami isteri itu masing-masing mempunyai genotip Aa, sehingga perkawinan mereka dapat dilukiskan sbb.:

P ♂ Aa x ♀ Aa
normal normal

F₁ AA = normal }
Aa = normal } = ¾
Aa = normal }
aa = albino = ¼

Dari diagram perkawinan di samping ini dapat dilihat, bahwa kemungkinan lahirnya anak normal dan anak albino tidak sama, yaitu ¾ untuk anak normal dan ¼ untuk anak albino.

Berhubung dengan itu, andaikan:

a. = kemungkinan lahirnya anak normal (¾).

b. = kemungkinan lahirnya anak albino (¼).

a. $K_{(4 \text{ normal})} = a^4 = \left(\frac{3}{4}\right)^4 = \frac{81}{256}$

b. $K_{(3 \text{ normal, 1 albino})} = 4 a^3b = 4\left(\frac{3}{4}\right)^3\left(\frac{1}{4}\right) = \frac{108}{256}$

c. $K_{(\text{normal, normal, normal, albino})} = \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{1}{4} = \frac{108}{256}$

Nampaknya pertanyaan b) dan c) seolah-olah sama, tetapi sebenarnya lain. Perhatikan saja jawabannya !

XII. PENELITIAN GENETIKA

Genetika merupakan suatu ilmu yang mempelajari hal-hwal tentang gen mulai dari susunan kimia gen, peranan gen dalam penentuan sifat atau performans suatu individu dan cara penurunan sifat-sifat individu yang ditentukan oleh gen itu sendiri.

Pada individu khususnya ternak sifat-sifat yang dimiliki dapat digolongkan atas dua macam yaitu sifat kualitatif dan sifat kuantitatif. Sifat kualitatif seperti warna bulu, ada tidaknya tanduk, dan sebagainya ditentukan oleh satu atau dua pasang gen, sedangkan sifat kuantitatif seperti produksi daging, produksi telur, produksi susu, dan sebagainya ditentukan oleh banyak gen (multi faktor).

Dalam ilmu genetika lebih banyak membahas mengenai sifat kualitatif, sedangkan sifat kuantitatif akan dibahas pada Ilmu Pemuliaan Ternak.

Penelitian genetika dapat dilaksanakan dalam 3 bentuk, yaitu :

1. Observasi/survey lapangan
2. Recording
3. Penelitian/percobaan

Observasi

Penelitian genetika dalam bentuk observasi/survey lapangan adalah dengan cara mengamati fenomena penurunan sifat di lapangan. Selain itu, kita juga dapat melihat pedigree (silsilah) dari sifat yang kita amati. Selanjutnya hasil yang di dapat dianalisis menggunakan Chi-Square Test (X^2).

Contoh: penurunan sifat warna pada sapi. Pada perkawinan sapi hitam dengan hitam menghasilkan anak-anak: 70 hitam dan 30 merah. Untuk melakukan uji Chi-Square Test (X^2) terhadap contoh di atas, terlebih dahulu dibuat tabel sebagai berikut:

Fenotip	O	E	(O-E)	(O-E) ²	(O-E) ² /E
Hitam	70	75	-5	25	25/75=0,333
Merah	30	25	5	25	25/25=1,000
Total	100	100		X^2_t	1,333

Keterangan :

Dua fenotip (hitam dan merah) df (derajat bebas/degrees of freedom) = $n-1=2-1=1$ X^2_{tabel}

$(n-1) = 3,841$ $X^2_{hitung} = 1,333 < X^2_{tabel (1)}$ — Non significant

Kesimpulan : perbandingan observasi 70 : 30 (Hitam : merah) tidak berbeda nyata dengan 75 : 25. Artinya 70 : 30 \propto 75 : 25 (3 : 1) — sapi hitam jantan dan sapi hitam betina keduanya heterozygote sebab Hh X Hh

↓
HH, Hh, Hh, hh
(3 : 1)

Recording

Recording adalah salah satu bentuk penelitian yang dapat dilakukan di bidang genetika. Dalam hal ini yang dilihat adalah catatan yang ada mengenai penurunan suatu sifat, dan selanjutnya data yang di peroleh dianalisis dengan Chi-Square Test. Pada umumnya recording dilakukan oleh perusahaan-perusahaan di bidang peternakan yang menyangkut sifat-sifat produktif ternak, misalnya bobot badan, produksi susu, produksi telur, dan lain-lain. Berdasarkan hasil analisis data dengan metode Chi-Square Test , selanjutnya para pemilik perusahaan tersebut dapat mengambil keputusan penting menyangkut perusahaan yang dimilikinya.

Contoh berdasarkan catatan yang ada pada suatu perusahaan peternakan terlihat pada perkawinan sapi warna merah muda (roan) dengan warna merah muda (roan), disamping menghasilkan warna merah dan warna putih pada keturunannya, ternyata juga muncul warna merah muda (roan). Dari perkawinan antara sapi warna merah muda (roan) dengan warna merah muda (roan) tersebut, menghasilkan 40 ekor anak,

dimana 8 ekor sapi berwarna merah, 22 ekor berwarna merah muda (roan) dan 10 ekor berwarna putih.

Untuk melakukan uji Chi-Square Test (X^2) terhadap contoh di atas, terlebih dahulu dibuat tabel sebagai berikut:

Fenotip	O	E	(O-E)	(O-E) ²	(O-E) ² /E
Merah	8	10	-2	4	4/10=0,4
Roan	22	20	2	4	4/20=0,2
Putih	10	10	0	0	0/10=0
Total	40	40		X^2_t	0,6

Keterangan :

Tiga fenotip (merah, roan dan putih) \longrightarrow df (derajat bebas/degrees of freedom) = n-1=3-1=2

$X^2_{tabel (n-1)} = 5,991 \longrightarrow X^2_{hitung} = 0,6 < X^2_{tabel (1)} \longrightarrow$ Non significant

Kesimpulan : perbandingan observasi 8 : 22 : 10 (merah : roan : putih) tidak berbeda nyata dengan 10 : 20 : 10. Artinya 8 : 22 : 10 \propto 10 : 20 : 10 (1 : 2 : 1)

Dari data ini berarti kedua fenotip warna merah muda (roan) pejantan dan induknya memiliki genotip heterozygote (Rr), sehingga kalau dibuat diagram perkawinannya dapat dilihat sebagai berikut :

$$\begin{array}{ccc} Rr & \times & Rr \\ \downarrow & & \\ RR, Rr, Rr, rr & & \\ 1 & : & 2 : 1 \\ \text{Merah} & : & \text{Roan} : \text{putih} \end{array}$$

RR = warna merah

Rr = warna merah muda (roan)

rr = warna putih

Penelitian/percobaan

Disamping kedua penelitian yang telah dijelaskan di atas, maka penelitian genetika dapat juga dilakukan dalam bentuk penelitian atau percobaan. Contohnya kita ingin mengetahui dominansi warna hitam terhadap warna putih. Mana diantara kedua warna tersebut yang dominan dan mana yang resesif. Untuk itu kita bisa melakukan bentuk penelitian dengan melakukan perkawinan langsung antara kelinci warna hitam dengan kelinci warna putih, lalu dilihat warna anak-anaknya yang dilahirkan.

Dari kelahiran anak-anaknya tersebut dapat diperkirakan :

- Mana warna yang dominan sempurna dan mana warna yang resesif
- Apakah warna hitam dan warna putih intermidier atau incomplete dominant?
- Apakah autosomal (gen yang menentukan sifat warna hitam dan putih tersebut terdapat pada autosom), sex linked (gen yang menentukan sifat warna hitam dan putih tersebut terdapat pada seks kromosom X atau Y), sex limited (suatu sifat yang hanya tampak pada jenis kelamin tertentu saja) ataukah sex influence (sifat yang dipengaruhi oleh jenis kelamin (hormone))?

Untuk analisa statistic segregasi warna anak-anaknya yang dihasilkan dari perkawinan di atas dianalisis dengan Chi-Square Test seperti contoh di atas.

XIII. UJI HIPOTESIS GENETIKA (CHI-SQUARE TEST)

Pada kenyataannya nisbah teoretis yang merupakan peluang diperolehnya suatu hasil percobaan persilangan tidak selalu terpenuhi. Penyimpangan (deviasi) yang terjadi bukan sekedar modifikasi terhadap nisbah Mendel seperti yang telah diuraikan diatas, melainkan sesuatu yang adakalanya tidak dapat diterangkan secara teori. Agar lebih jelas, berikut ini akan diberikan sebuah contoh.

Suatu persilangan antara sesama individu dihibrid (AaBb) menghasilkan keturunan yang terdiri atas empat macam fenotipe, yaitu A-B-, A-bb, aaB-, dan aabb masing-masing sebanyak 315, 108, 101, dan 32. Untuk menentukan bahwa hasil persilangan ini masih memenuhi nisbah teoretis (9 : 3 : 3 : 1) atau menyimpang dari nisbah tersebut perlu dilakukan suatu pengujian secara statistika. Uji yang lazim digunakan adalah uji X^2 (*Chi-square test*) atau ada yang menamakannya uji kecocokan (*goodness of fit*).

Untuk melakukan uji X^2 terhadap hasil percobaan seperti pada contoh tersebut di atas, terlebih dahulu dibuat tabel sebagai berikut.

Tabel 5. Contoh pengujian hasil persilangan dihibrid

Kelas fenotipe	O (hasil percobaan)	E (hasil yang diharapkan)	d = [O-E]	d ² /E
A-B-	315	$9/16 \times 556 = 312,75$	2,25	0,016
A-bb	108	$3/16 \times 556 = 104,25$	3,75	0,135
AaB-	101	$3/16 \times 556 = 104,25$	3,25	0,101
Aabb	32	$1/16 \times 556 = 34,75$	2,75	0,218
Jumlah	556	556		$X^2_h = 0,470$

Pada tabel tersebut di atas dapat dilihat bahwa hasil percobaan dimasukkan ke dalam kolom O sesuai dengan kelas fenotipenya masing-masing. Untuk memperoleh

nilai E (hasil yang diharapkan), dilakukan perhitungan menurut proporsi tiap kelas fenotipe. Selanjutnya nilai d (deviasi) adalah selisih antara O dan E. Pada kolom paling kanan nilai d dikuadratkan dan dibagi dengan nilai E masing-masing, untuk kemudian dijumlahkan hingga menghasilkan nilai X^2_h atau X^2_{hitung} . Nilai X^2_h inilah yang nantinya akan dibandingkan dengan nilai X^2 yang terdapat dalam tabel X^2 (disebut nilai X^2_{tabel}) yang disingkat menjadi X^2_t . Apabila X^2_h lebih kecil daripada X^2_t dengan peluang tertentu (biasanya digunakan nilai 0,05), maka dikatakan bahwa hasil persilangan yang diuji masih memenuhi nisbah Mendel. Sebaliknya, apabila X^2_h lebih besar daripada X^2_t , maka dikatakan bahwa hasil persilangan yang diuji tidak memenuhi nisbah Mendel pada nilai peluang tertentu (biasanya 0,05).

Adapun nilai X^2_t yang akan digunakan sebagai pembanding bagi nilai X^2_h dicari dengan cara sebagai berikut. Kita tentukan terlebih dahulu nilai derajat bebas (DB), yang merupakan banyaknya kelas fenotipe dikurangi satu. Jadi, pada contoh di atas nilai DB nya adalah $4 - 1 = 3$. Selanjutnya, besarnya nilai DB ini akan menentukan baris yang harus dilihat pada tabel X^2 . Setelah barisnya ditentukan, untuk mendapatkan nilai X^2_t pembanding dilihat kolom peluang 0,05. Dengan demikian, nilai X^2_t pada contoh tersebut adalah 7,815. Oleh karena nilai X^2_h (0,470) lebih kecil daripada nilai X^2_t (7,815), maka dikatakan bahwa hasil persilangan tersebut masih memenuhi nisbah Mendel.

Tabel 6. Tabel X^2

Derajat Bebas	Peluang						
	0,95	0,80	0,50	0,20	0,05	0,01	0,005
1	0,004	0,064	0,455	1,642	3,841	6,635	7,879
2	0,103	0,446	1,386	3,219	5,991	9,210	10,597
3	0,352	1,005	2,366	4,642	7,815	11,345	12,838
4	0,711	1,649	3,357	5,989	9,488	13,277	14,860
5	1,145	2,343	4,351	7,289	11,070	15,086	16,750
6	1,635	3,070	5,348	8,558	12,592	16,812	18,548
7	2,167	3,822	6,346	9,803	14,067	18,475	20,278
8	2,733	4,594	7,344	11,030	15,507	20,090	21,955
9	3,325	5,380	8,343	12,242	16,919	21,666	23,589
10	3,940	6,179	9,342	13,442	18,307	23,209	25,188
15	7,261	10,307	14,339	19,311	24,996	30,578	32,801
20	10,851	14,578	19,337	25,038	31,410	37,566	39,997
25	14,611	18,940	24,337	30,675	37,652	44,314	46,928
30	18,493	23,364	29,336	36,250	43,773	50,892	53,672

XIV. ANALISIS DNA

I. PENDAHULUAN

DNA adalah asam nukleat yang mengandung materi genetik dan berfungsi untuk mengatur perkembangan biologis seluruh bentuk kehidupan secara seluler. Selain itu DNA juga berperan dalam proses pewarisan sifat pada organisme. DNA memiliki struktur pilinan utas ganda yang anti paralel dengan komponen-komponennya, yaitu gula pentosa (deoksiribosa), gugus fosfat dan pasangan basa. Sebuah sel memiliki DNA yang merupakan materi genetik dan bersifat herediter pada seluruh sistem kehidupan. Genom adalah set lengkap dari materi genetik (DNA) yang dimiliki suatu organisme dan terorganisasi menjadi kromosom. Dilihat dari organismenya, struktur DNA prokariot tidak memiliki protein histon dan berbentuk sirkular, sedangkan DNA eukariot berbentuk linier dan memiliki protein histon.

Berkat fungsinya dalam pewarisan sifat maka, saat ini DNA dapat direkayasa untuk menghasilkan organisme yang unggul. Kemajuan ini tidak terlepas dari pengaruh perkembangan IPTEK yang kian modern. Untuk merekayasa DNA, banyak cara dan tahapan yang harus dilalui, yaitu tahap ekstraksi DNA, PCR dan elektroforesis. DNA dapat diekstraksi dari berbagai macam sel tubuh. Komponen sel darah, yaitu sel darah putih merupakan hal yang biasa diekstraksi, karena memiliki nukleus dimana terdapat DNA didalamnya.

Teknik PCR didasarkan pada amplifikasi fragmen DNA spesifik dimana terjadi penggandaan jumlah molekul DNA pada setiap siklusnya secara eksponensial dalam waktu yang relatif singkat. Teknik ini sangat ideal untuk mengidentifikasi patogen dengan cepat dan akurat. Secara umum proses ini dapat dikelompokkan dalam tiga tahap yang berurutan yaitu denaturasi templat, annealing (penempelan) pasangan primer pada untai tunggal DNA target dan extension (pemanjangan atau polimerisasi), sehingga diperoleh amplifikasi DNA antara 10⁶-10⁹ kali. Untuk identifikasi dan membedakan ukuran fragmen DNA, pemisahan melalui elektroforesis mutlak diperlukan.

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). Elektroferesis adalah peristiwa pergerakan partikel koloid yang bermuatan kesalah satu elektroda. Elektrotosis dapat digunakan untuk mendeteksi muatan partikel koloid. Jika partikel koloid berkumpul di elektroda positif berarti koloid bermuatan

negatif dan jika partikel koloid berkumpul di elektroda negatif berarti koloid bermuatan positif.

Rekayasa genetika atau sering disebut teknologi DNA rekombinan adalah suatu ilmu yang mempelajari mengenai pembentukan kombinasi materi genetik yang baru, dengan cara penyisipan molekul DNA ke dalam suatu vektor sehingga memungkinkannya untuk terintegrasi dan mengalami perbanyakan dalam suatu sel organisme lain yang berperan sebagai sel inang. Manfaat rekayasa genetika ini adalah mengisolasi dan mempelajari masing-masing gen tentang fungsi dan mekanisme kontrolnya. Selain itu, rekayasa genetika juga memungkinkan diperolehnya suatu produk dengan sifat tertentu dalam waktu lebih cepat dan jumlah lebih besar daripada produksi secara konvensional.

II. PEMBAHASAN

A. ANALISA DNA

2.1. Deoxyribonucleic Acid (DNA)

❖ Pengertian DNA

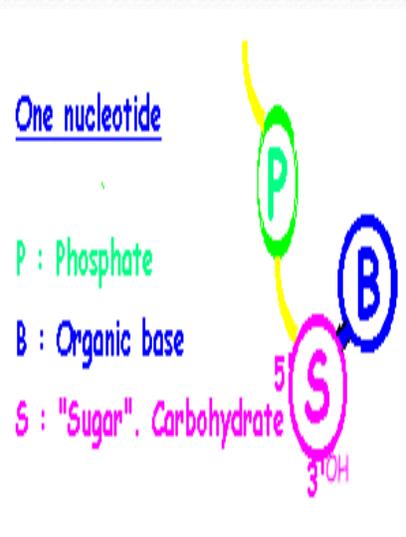
Deoxyribonucleic acid (DNA) merupakan senyawa kimia yang paling penting dalam makhluk hidup karena mengandung informasi genetik dari satu generasi ke generasi selanjutnya. Struktur DNA pertama kali dijelaskan oleh James Watson dan Francis Crick. Mereka memperoleh model DNA dari hasil foto difraksi sinar X yang dibuat oleh Rosalind Franklin dan Maurice Wilkins. Watson dan Crick menyimpulkan bahwa struktur DNA merupakan rantai ganda (double helix). Untai ganda tersusun dari dua rantai polinukleotida yang terpilin. Kedua rantai memiliki susunan antiparalel, yaitu satu rantai berorientasi dari ujung 5' ke 3' sedangkan yang lain berorientasi ujung 3' ke 5'. Ujung 5' merupakan ujung yang berakhir dengan gugus 5-fosfat dan ujung 3' berakhir dengan gugus OH. Kedua rantai dihubungkan dengan ikatan hidrogen yang menghubungkan kedua basa nitrogen (Sadava dkk.2004:218--220).



Komponen nukleotida DNA adalah gula, fosfat, dan basa nitrogen. Komponen gula pada DNA adalah gula deoksiribosa, yaitu gula ribose yang kehilangan satu atom oksigen. Basa yang ada pada DNA ada dua macam, yaitu purin dan pirimidin. Purin terbagi lagi menjadi dua macam, yaitu adenin dan guanin. Pirimidin terdiri dari dua jenis, yaitu timin dan sitosin (Sadava dkk.2004:219).

DNA

One nucleotide



P : Phosphate
B : Organic base
S : "Sugar". Carbohydrate

- Asam deoksiribonukleat (*deoxyribonucleic acid* /DNA), adalah untaian rantai nukleotida panjang yang tersusun oleh:
 - Deoksiribosa (suatu pentosa = gula dengan 5 atom karbon)
 - Asam fosforik (*Phosphoric Acid*)
 - Basa Organik (mengandung nitrogen) ~ **Purin** – Adenin(*A*) dan Guanin(*G*), atau **Pirimidine** –Citosin(*C*) dan Thimin(*T*).

❖ Fungsi DNA

DNA mempunyai fungsi-fungsi yang sangat penting bagi tubuh kita. Hal tersebut dikarenakan DNA merupakan molekul kehidupan utama di dalam sel makhluk hidup. Dari materi yang sudah disampaikan dapat diketahui bahwa DNA merupakan struktur yang sangat kompleks yang tersusun dari polinukleotida. Fungsi atau peranan DNA ini sebenarnya tidak sekadar sebagai pembawa materi genetik, melainkan juga menjalankan fungsi yang sangat kompleks pula, antara lain:

- a. DNA berfungsi sebagai pembawa materi genetika dari generasi ke generasi berikutnya.
- b. Fungsi DNA untuk mengontrol aktivitas hidup secara langsung maupun tidak langsung.
- c. Fungsi DNA berikutnya adalah melakukan sintesis protein.
- d. DNA dapat pula berfungsi sebagai autokatalis, yaitu kemampuan DNA untuk menggandakan diri (*replikasi*).
- e. Fungsi DNA sebagai heterokatalis, yaitu kemampuan DNA untuk dapat mensintesis senyawa lain.

❖ Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA merupakan langkah yang tepat untuk mempelajari DNA. Prinsipnya ada dua, yaitu sentrifugasi dan presipitasi. Sentrifugasi merupakan teknik

untuk memisahkan campuran berdasarkan berat molekul komponennya. Molekul yang mempunyai berat molekul besar akan berada di bagian bawah tabung dan molekul ringan akan berada pada bagian atas tabung.

Hasil sentrifugasi akan menunjukkan dua macam fraksi yang terpisah, yaitu supernatan pada bagian atas dan pelet pada bagian bawah (Campbell dkk. 2002: 115). Presipitasi merupakan langkah yang dilakukan untuk mengendapkan suatu komponen dari campuran (Alberts dkk. 1994: 254).

Molekul DNA harus dipisahkan dari materi sel lain sebelum diuji. Sel-selprotein terbungkus melindungi DNA di dalam lingkungan sel dapat menghalangi kemampuan analisa DNA. Sementara itu metode ekstraksi DNA dapat dikembangkan untuk memisahkan protein-protein dan materi sel-sel yang lain dari molekul-molekul DNA. Untuk pemurnian DNA sel total, diperlukan prosedur tertentu untuk menghilangkan kontaminan seperti protein dan RNA yang jumlahnya cukup besar dalam ekstrak sel. Cara baku untuk menghilangkan protein dari ekstrak sel adalah dengan menambahkan fenol atau campuran fenol dan khloroform dengan perbandingan 1:1. Pelarut organik ini menyebabkan presipitasi protein, tetapi asam nukleat (DNA dan RNA) tetap berada dalam larutan. Sedangkan molekul RNA, terutama mRNA (messenger RNA), akan hilang dengan pemberian fenol, tetapi kebanyakan molekul ini akan tetap bersama DNA. Salah satunya cara yang efektif untuk menghilangkan RNA adalah dengan enzim RNase yang akan memecah molekul ini dengan cepat menjadi subunit ribonukleotida (Brown, 1991).

Ada dua teknik utama yang digunakan saat ini untuk ekstraksi DNA pada laboratorium forensik DNA yaitu ; ekstraksi organik dan ekstraksi Chelex.

➤ **Ekstraksi organik (phenol-cloroform)**

Ekstraksi organik melibatkan penambahan beberapa bahan kimia. Pertama, *sodium Dodecylsulfate* (SDS) dan *Proteinase Kare* ditambahkan untuk membuka dinding sel sepanjang protein yang melindungi molekul DNA selagi mereka ada di dalam kromosom. Selanjutnya campuran *phenol/cloroform* ditambahkan untuk memisahkan protein dari DNA. DNA menjadi lebih dapat larut di dalam air yang mengandung campuran *organic-aqueous*. Ketika proses sentrifuge, bekas peninggalan protein dan selular yang tak dikehendaki dipisahkan dari tahap yang mengandung air dan menggandakan molekul DNA sehingga dapat ditransfer dengan baik untuk dianalisa. Beberapa protokol melibatkan dialisa *centricon 100* (Millipore, Billerica, MA) dan konsentrasi di tempat timbulnya ethanol dan untuk memindahkan heme inhibitors (Comey et al 1994). Sementara metoda ekstraksi bekerja dengan baik untuk *recovery* bobot DNA dengan molekul tinggi, ini adalah waktu menggunakan bahan

kimia yang penuh resiko dan memerlukan contoh untuk ditransfer antara banyak tabung (faktanya ini menaikkan resiko kesalahan dan kontaminasi)

➤ **Ekstraksi Chelex**

Sebuah prosedur alternatif untuk penarikan DNA yang telah terkenal dikalangan ahli forensik adalah penggunaan dari suspensi resin kombinasi yang dapat ditambahkan langsung pada sampel (misalnya, darah, bercak darah, atau semen). Diperkenalkan kepada komunitas forensik DNA pada tahun 1991, chelex^R 100 (Lab Bio-Rad, Hercules, CA) adalah pertukaran ion resin yang ditambahkan sebagai suspensi pada beberapa sampel (Walsh *et.al.*1991). chelex terdiri dari styrene divinylbenzene copolimers mengandung sepasang ion iminodiacetate yang bereaksi sebagai grup-grup kombinasi dalam ikatan ion metal polivalen seperti magnesium. Serupa dengan pengisian besi untuk menjadi sebuah magnet, beberapa ion magnesium tertarik dan terlempar keatas. Dengan memindahkan magnesium dari reaksi tersebut, DNA menghancurkan enzim-enzim dikenal sebagai nukleus yang tidak diaktifkan dan molekul-molekul DNA yang terlindungi.

Pada sebagian besar protokol, sampel biologis seperti bercak darah ditambahkan sampai dengan 5% suspensi chelex dan dididihkan selama beberapa menit untuk memecah sel-sel dan melepaskan DNA. Sebuah permulaan, langkah pencucian sebelumnya sangat membantu untuk menghilangkan kontaminasi dan hambatan yang mungkin timbul seperti heme dan beberapa protein (Willard *et.al.* 1998). Pemanasan sampai temperatur 100⁰ C memecahkan DNA protein sel sama seperti mengacaukan membran sel dan menghancurkan protein sel setelah pemusingan didalam mesin sentrifuse untuk mendorong resin chelex dan sisa-sisa selular kedaras tabung reaksi, cairan bagian atas setelah proses pengendapan dihilangkan dan dapat ditambahkan langsung ke reaksi pengerasan PCR. Meskipun demikian, proses penarikan chelex adalah suatu keuntungan bagi metode dasar pelepasan PCR karena dapat menghilangkan penghalang dari PCR dan hanya menggunakan tabung tunggal untuk pemisahan DNA yang mana mengurangi potensi laboratorium yang menyebabkan kontaminasi. Semua contoh harus secara hati-hati ditangani dengan mengabaikan metoda ekstraksi DNA untuk menghindari pencemaran sampel ke kesampel atau pengenalan tentang tambahan DNA. Proses ekstraksi memungkinkan di mana contoh DNA jadi lebih peka pada pencemaran di laboratorium dibanding pada waktu lain dalam proses analisa forensik DNA. Dengan suatu alasan laboratorium-laboratorium biasa memproses sampel-sampel petunjuk pada waktu yang berbeda dan kadang- kadang dengan lokasi yang tidak sama dari dimana sampel tersebut diambil.

Metoda yang populer untuk persiapan pengambilan referensi sampel adalah dengan menggunakan noda darah dengan mengoleskannya ke kain kapas, dikenal

dengan suatu carikan, dengan menghasilkan bulatan kira-kira 1 cm² pada kain kapas tersebut, dengan rata-rata 70.000-80.000 sel darah putih dan menghasilkan rata-rata 500ng DNA genomic. Hasil nyata akan bervariasi dengan jumlah sel-sel darah putih yang akan menunjukkan sampel dan efisiensi proses ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA disimpan secara khusus pada suhu -20°C, atau bahkan pada suhu -80°C pada penyimpanan dalam waktu lama, untuk menjaga aktifitas inti. Nucleas-nucleas adalah enzim-enzim (protein) yang ditemukan di dalam sel-sel turunan DNA untuk memungkinkan pendauran ulang menyangkut komponen-komponen nucleotide. Nucleases memerlukan magnesium untuk bekerja dengan baik sehingga salah satu pengujian untuk mencegah mereka dari mencerna DNA di dalam darah adalah menggunakan tabung *purple-topped* yang berisi bahan pengawet darah yang dikenal sebagai EDTA. EDTA meliputi, atau membalut, semua magnesium bebas dengan begitu mencegah nucleases menghancurkan DNA di dalam contoh darah yang dikumpulkan.

2.2. Prinsip Dasar PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah metode untuk amplifikasi (perbanyak) primer oligonukleotida diarahkan secara enzimatik urutan DNA spesifik. Teknik ini mampu memperbanyak sebuah urutan 10⁵-10⁶-kali lipat dari jumlah nanogram DNA template dalam latar belakang besar pada sequence yang tidak relevan (misalnya dari total DNA genomik). Sebuah prasyarat untuk memperbanyak urutan menggunakan PCR adalah memiliki pengetahuan, urutan segmen unik yang mengikat DNA yang akan diamplifikasi, sehingga oligonucleotides tertentu dapat diperoleh. Hal ini tidak perlu tahu apa-apa tentang urutan intervening antara primer. Produk PCR diamplifikasi dari template DNA menggunakan DNA polimerase stabil-panas dari *Thermus aquaticus* (Taq DNA polimerase) dan menggunakan pengatur siklus termal otomatis (Perkin-Elmer/Cetus) untuk menempatkan reaksi sampai 30 atau lebih siklus denaturasi, anil primer, dan polimerisasi. Setelah amplifikasi dengan PCR, produk ini dipisahkan dengan elektroforesis gel poliakrilamida dan secara langsung divisualisasikan setelah pewarnaan dengan bromida etidium. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan suatu teknik perbanyak (amplifikasi) potongan DNA secara *in vitro* pada daerah spesifik yang dibatasi oleh dua buah primer oligonukleotida. Primer yang digunakan sebagai pembatas daerah yang diperbanyak adalah DNA untai tunggal yang urutannya komplemen dengan DNA templatnya. Proses tersebut mirip dengan proses replikasi DNA secara *in vivo* yang bersifat semi konservatif.

PCR memungkinkan adanya perbanyak DNA antara dua primer, hanya di dalam tabung reaksi, tanpa perlu memasukkannya ke dalam sel (*in vivo*). Pada proses

PCR dibutuhkan DNA untai ganda yang berfungsi sebagai cetakan (templat) yang mengandung DNA-target (yang akan diamplifikasi) untuk pembentukan molekul DNA baru, enzim DNA polimerase, deoksinukleosida trifosfat (dNTP), dan sepasang primer oligonukleotida. Pada kondisi tertentu, kedua primer akan mengenali dan berikatan dengan untaian DNA komplementernya yang terletak pada awal dan akhir fragmen DNA target, sehingga kedua primer tersebut akan menyediakan gugus hidroksil bebas pada karbon 3'. Setelah kedua primer menempel pada DNA templat, DNA polimerase mengkatalisis proses pemanjangan kedua primer dengan menambahkan nukleotida yang komplemen dengan urutan nukleotida templat. DNA polimerase mengkatalisis pembentukan ikatan fosfodiester antara OH pada karbon 3' dengan gugus 5' fosfat dNTP yang ditambahkan. Sehingga proses penambahan dNTP yang dikatalisis oleh enzim DNA polimerase ini berlangsung dengan arah 5'→3' dan disebut reaksi polimerisasi. Enzim DNA polimerase hanya akan menambahkan dNTP yang komplemen dengan nukleotida yang terdapat pada rantai DNA templat. PCR melibatkan banyak siklus yang masing-masing terdiri dari tiga tahap berurutan, yaitu pemisahan (denaturasi) rantai DNA templat, penempelan (*annealing*) pasangan primer pada DNA target dan pemanjangan (*extension*) primer atau reaksi polimerisasi yang dikatalisis oleh DNA polimerase.

❖ **Komponen yang Dibutuhkan PCR**

- DNA cetakan (template) ~ digunakan sebagai cetakan untuk mensintesis DNA yang baru berdasarkan kaidah komplementasi Chargaff (A-T ; G-C).
- Deoksinukleotida (dNTP) ~ diperlukan sebagai bahan untuk menyusun polimer DNA yang terdiri dari dATP, dGTP, dTTP, dan dCTP yang masing-masing diikatkan oleh DNA polimerase.
- Primer ~ merupakan awal sintesis DNA, merupakan pasangan komplementer dari DNA cetakan, dengan dua jenis primer.
- DNA polimerase ~ akan mensintesis DNA bilamana ada primer dan akan mencetak utas DNA berdasarkan utas tunggal DNA cetakan.
- Larutan penyangga reaksi ~ reaksi PCR akan berlangsung bila dalam larutan penyangga terdapat ion Mg²⁺ yang akan mengikat dNTP.

❖ **Tahapan PCR**

Proses PCR terdiri dari tiga tahap, yakni denaturasi, penempelan (*annealing*), dan amplifikasi.

➤ **Denaturasi**

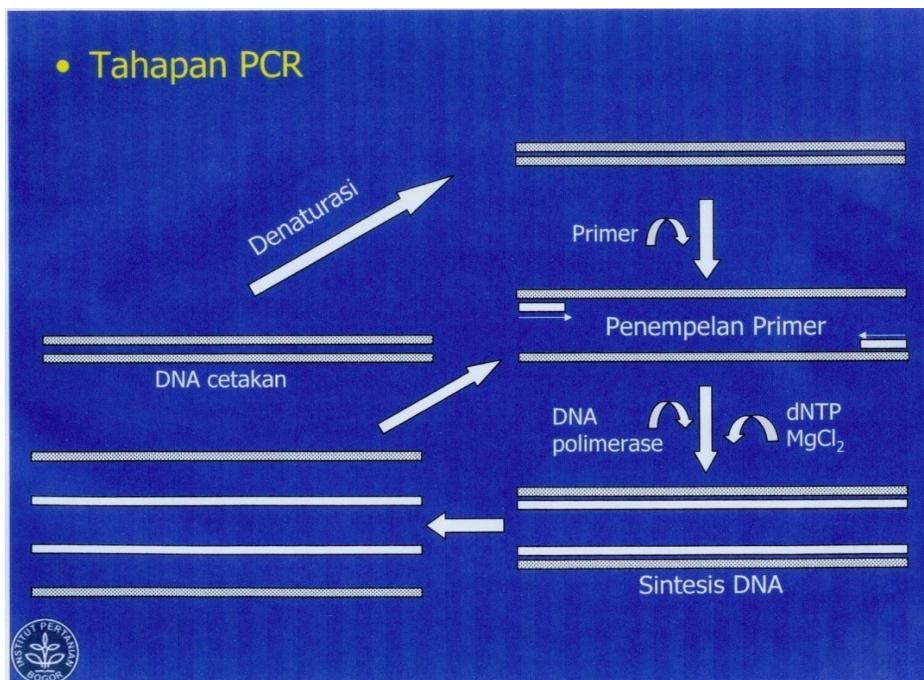
Denaturasi adalah proses penguraian materi genetik (DNA/RNA) dari bentuk heliksnya. Selama proses denaturasi, DNA untai ganda akan membuka menjadi dua untai tunggal. Hal ini disebabkan karena suhu denaturasi yang tinggi menyebabkan putusnya ikatan hidrogen diantara basa-basa yang komplemen. Pada tahap ini, seluruh reaksi enzim tidak berjalan, misalnya reaksi polimerisasi pada siklus yang sebelumnya. Denaturasi biasanya dilakukan antara suhu 90 °C – 95 °C

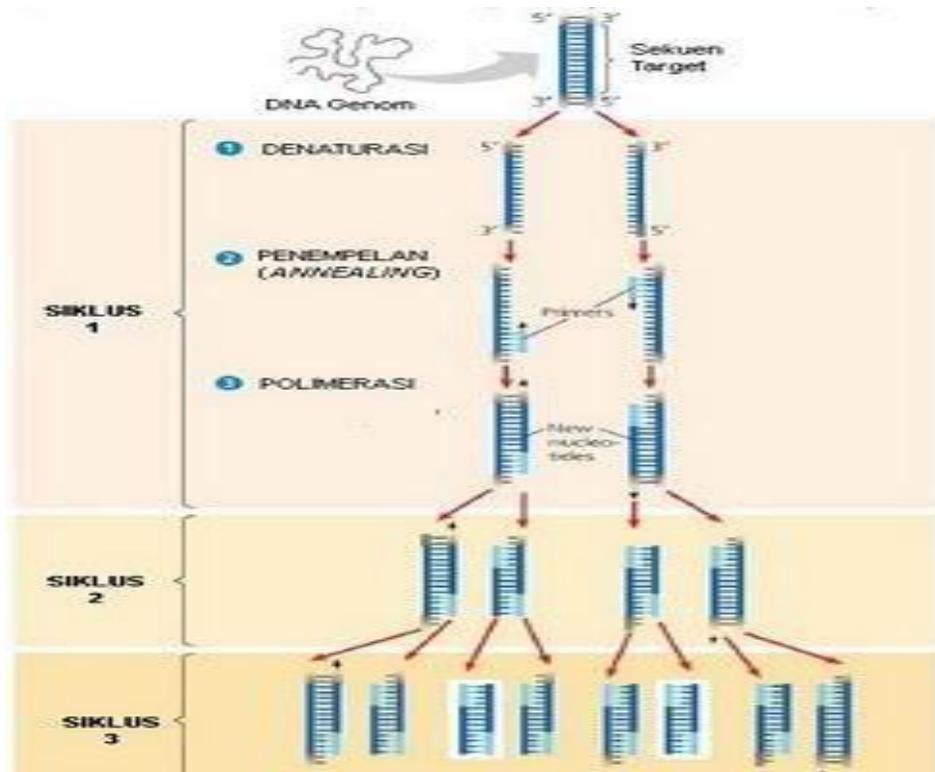
➤ **Annealing (pelekatan) atau hibridisasi.**

Annealing adalah suatu proses penempelan primer ke DNA *template* yang sekarang hanya dalam satu untai. Pada tahap penempelan primer (*annealing*), primer akan menuju daerah yang spesifik yang komplemen dengan urutan primer. Pada proses *annealing* ini, ikatan hidrogen akan terbentuk antara primer dengan urutan komplemen pada template. Proses ini biasanya dilakukan pada suhu 50 °C – 60 °C. Selanjutnya, DNA polymerase akan berikatan sehingga ikatan hidrogen tersebut akan menjadi sangat kuat dan tidak akan putus kembali apabila dilakukan reaksi polimerisasi selanjutnya, misalnya pada 72 °C.

➤ **Reaksi polimerisasi (*extension*)**

Polimerisasi adalah suatu proses pemanjangan rantai DNA baru yang dimulai dari primer. Umumnya, reaksi polimerisasi atau perpanjangan rantai ini, terjadi pada suhu 72 °C. Primer yang telah menempel tadi akan mengalami perpanjangan pada sisi 3'nya dengan penambahan dNTP yang komplemen dengan templat oleh DNA polimerase.





Jika siklus dilakukan berulang-ulang maka daerah yang dibatasi oleh dua primer akan diamplifikasi secara eksponensial (disebut ampikon yang berupa untai ganda), sehingga mencapai jumlah copy yang dapat dirumuskan dengan $(2^n)x$. Dimana n adalah jumlah siklus dan x adalah jumlah awal molekul DNA. Jadi, seandainya ada 1 copy DNA sebelum siklus berlangsung, setelah satu siklus, akan menjadi 2 copy, sesudah 2 siklus akan menjadi 4, sesudah 3 siklus akan menjadi 8 kopi dan seterusnya. Sehingga perubahan ini akan berlangsung secara eksponensial. PCR dengan menggunakan enzim *Taq DNA polimerase* pada akhir dari setiap siklus akan menyebabkan penambahan satu nukleotida A pada ujung 3' dari potongan DNA yang dihasilkan. Sehingga nantinya produk PCR ini dapat di kloning dengan menggunakan vektor yang ditambahkan nukleotida T pada ujung-ujung 5'-nya. Proses PCR dilakukan menggunakan suatu alat yang disebut *thermocycler*.

❖ Aplikasi PCR

Sejak ditemukannya metode PCR, perkembangan dunia biologi molekular dan bioteknologi semakin pesat. Beberapa contoh penerapan PCR antara lain:

- studi arkeologi gen purba, seperti fragmen DNA kuno dari gajah purba (*mammoth*) yang telah membeku selama 400.000 tahun.
- analisis tindakan kriminal dengan sedikit sampel darah, sperma, sidik jari atau jaringan
- deteksi virus papilloma pada kelamin manusia
- deteksi DNA atau RNA virus yang sulit terdeteksi, seperti HIV
- diagnosa kelainan genetik sebelum kelahiran
- peramalan hemofilia

- g. isolasi DNA dari miselium jamur dan spora
- h. pengujian kualitas air minum
- i. analisis filogenetik dalam taksonomi
- j. identifikasi polimorfisme DNA
- k. identifikasi jenis kelamin
- l. penentuan urutan nukleotida
- m. pemetaan genom manusia, dan lain-lain

2.3. Pengertian Elektroforesis

Elektroforesis adalah teknik pemisahan komponen atau molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam sebuah medan listrik. Teknik ini digunakan dengan memanfaatkan muatan listrik yang ada pada makro molekul, misalnya DNA yang bermuatan negatif. Dengan elektroforesis dapat diukur laju perpindahan atau pergerakan partikel-partikel bermuatan dalam suatu medan listrik. Pada topik ini, akan dibahas elektroforesis DNA, yang berarti komponen yang digunakan adalah DNA.

Adapun tujuan dari mempelajari elektroforesis adalah untuk ;

1. Mengetahui ukuran dan bentuk suatu partikel DNA atau RNA.
2. Digunakan untuk mengamati hasil amplifikasi dari DNA.
3. Sebagai fraksionasi yang dapat digunakan untuk mengisolasi masing-masing komponen dari campurannya, mempelajari fitogenetika, kekerabatan dan mempelajari penyakit yang diturunkan (Klug & Cummings 1994: A-6).
4. Dalam bidang kesehatan , elektroforesis digunakan untuk mengetahui ukuran dan jumlah basa dalam suatu sekuen DNA tertentu.

❖ Jenis elektroforesis

a. Elektroforesis kertas

Elektroforesis kertas adalah jenis elektroforesis yang terdiri dari kertas sebagai fase diam dan partikel bermuatan yang terlarut sebagai fase gerak, terutama ialah ion- ion kompleks. Pemisahan ini terjadi akibat adanya gradasi konsentrasi sepanjang sistem pemisahan. Pergerakan partikel dalam kertas tergantung pada muatan atau valensi zat terlarut, luas penampang, tegangan yang digunakan, konsentrasi elektrolit, kekuatan ion, pH, viskositas, dan adsorpsivitas zat terlarut.

b. Elektroforesis gel

Elektroforesis gel ialah elektroforesis yang menggunakan gel sebagai fase diam untuk memisahkan molekul-molekul. Awalnya elektroforesis gel dilakukan dengan medium gel kanji (sebagai fase diam) untuk memisahkan biomolekul yang lebih besar

seperti protein-protein. Kemudian elektroforesis gel berkembang dengan menjadikan agarosa dan poliakrilamida sebagai gel media.

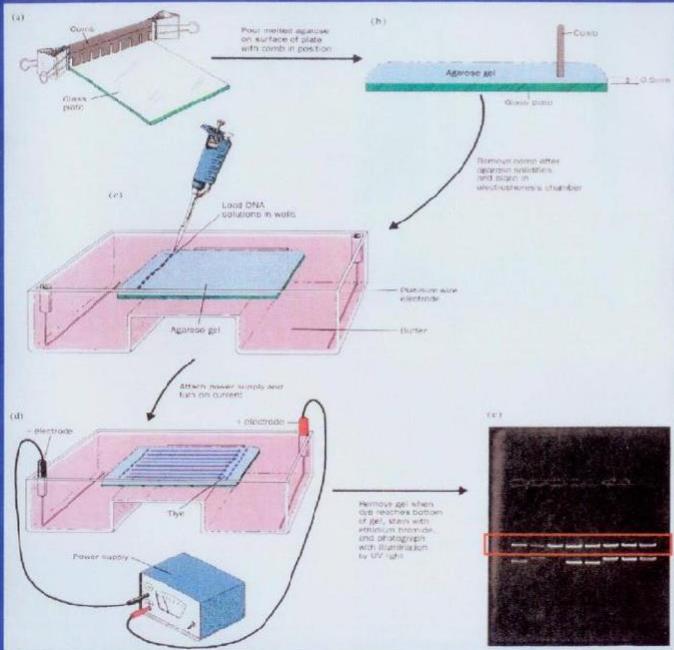
c. Elektroforesis kapiler

Elektroforesis kapiler adalah metode elektroforesis yang digunakan untuk memisahkan asam amino, protein, lipid, karbohidrat, dan nukleotida dengan resolusi tinggi yang dilakukan pada pipa kapiler berisi buffer. Metode ini mulai digunakan secara luas pada akhir tahun 1940 untuk aplikasi dalam berbagai bidang seperti bioteknologi, kimia, lingkungan, dan analisis farmasi. Elektroforesis kapiler menggunakan listrik bertegangan tinggi yang menyebabkan semua komponen ion atau molekul netral bergerak ke katoda. Deteksi dapat dilakukan dengan teknik pendeteksian spektrometri atau elektrokimia. Teknik pemisahan ini dipengaruhi oleh tegangan listrik, koefisien difusi, panjang, dan diameter pipa kapiler, serta konsentrasi sampel. Metode ini memiliki efisiensi dan selektivitas yang baik namun boros listrik karena menggunakan tegangan tinggi dan alatnya juga mahal.

❖ Prosedur Kerja Elektroforesis

Molekul DNA terpisah berdasarkan ukuran ketika dilewatkan pada matriks gel dengan aliran listrik. DNA memiliki muatan negatif, dan saat berada dalam aliran listrik, akan bermigrasi melalui gel menuju kutub positif. Molekul yang berukuran besar, memiliki kesulitan melewati pori-pori gel sehingga bermigrasi lebih lambat melalui gel dibandingkan DNA yang berukuran lebih kecil.

Teknik elektroforesis digunakan untuk memisahkan fragmen-fragmen DNA berdasarkan ukurannya.



The diagram illustrates the four stages of gel electrophoresis:

- Preparation:** A comb is used to create wells in a tray of agarose gel. The gel is then poured into a chamber.
- Running:** The gel is placed in a chamber filled with buffer. A power supply is connected to the electrodes, and the gel is run.
- Staining:** The gel is stained with ethidium bromide and viewed under UV light to visualize the DNA bands.
- Final Gel:** The stained gel is shown with distinct bands of DNA separated by size.

- DNA bermuatan negatif sehingga di elektroforesis bergerak dari kutub negatif ke positif
- Fragmen DNA yang lebih besar bergerak lebih lambat daripada fragmen lebih kecil.

Langkah kerja:**1. Mempersiapkan sampel DNA**

Mengambil sampel DNA dan ditambahkan enzim restriksi untuk memotong DNA menjadi fragmen-fragmen. Kemudian dilakukan pemanasan hingga suhu optimum enzim restriksi bekerja, kira-kira 37-40^o C selama 1 jam.

2. Pembuatan gel dan sumur

Campuran agarose gel dan loading buffer dipanaskan, setelah dipanaskan campuran didinginkan lalu dituang pada ruang elektroforesis, cetakan disisipkan pada gel, kemudian buffer ionik dituangkan di sekeliling luar ruang elektroforesis, dan gel akan mengeras pada suhu kamar, setelah itu cetakan diangkat, terbentuklah sumur gel.

3. Penuangan sampel

Setelah gel didiamkan sejenak dan memadat, sampel DNA diinjeksikan pada sumur gel menggunakan micropipet. Pastikan untuk berhati-hati agar ujung micropipet tidak menusuk dasar sumur gel

4. Proses elektroforesis

Gel yang telah siap kemudian diletakkan secara horizontal di atas kotak elektroforis yang telah berisi larutan buffer ionik. Proses elektroforesis dijalankan dengan memberikan daya listrik pada gel. Pemberian daya listrik disesuaikan dengan sampel yang akan digunakan, misalnya sebesar 50-70A, 50-60A atau 45-55A selama kurang lebih 3 jam. Setelah terlihat bahwa sampel DNA mencapai titik yang berjarak ± 3 cm dari ujung gel, maka proses elektroforesis dihentikan.

5. Pewarnaan dan visualisasi

Setelah proses elektroforesis, diperlukan pewarnaan untuk visualisasi. Gel dapat direndam pada pewarna, misalnya methylene blue atau ethidium bromida, yang akan terikat pada DNA. Kemudian gel dibilas dengan air agar pewarna pada gel luntur, sehingga dapat terlihat DNA sebagai band biru (untuk methylene blue) atau oranye (untuk ethidium bromida) yang akan terpendar saat sinar UV dipancarkan.

6. Analisis

Perhatikan fragmen DNA yang ada dimana semakin besar fragmen DNA semakin mudah terjatuh dalam matriks dan migrasinya lebih lambat, sedangkan fragmen yang kecil akan bergerak lebih cepat pada laju proporsional sesuai dengan ukurannya..

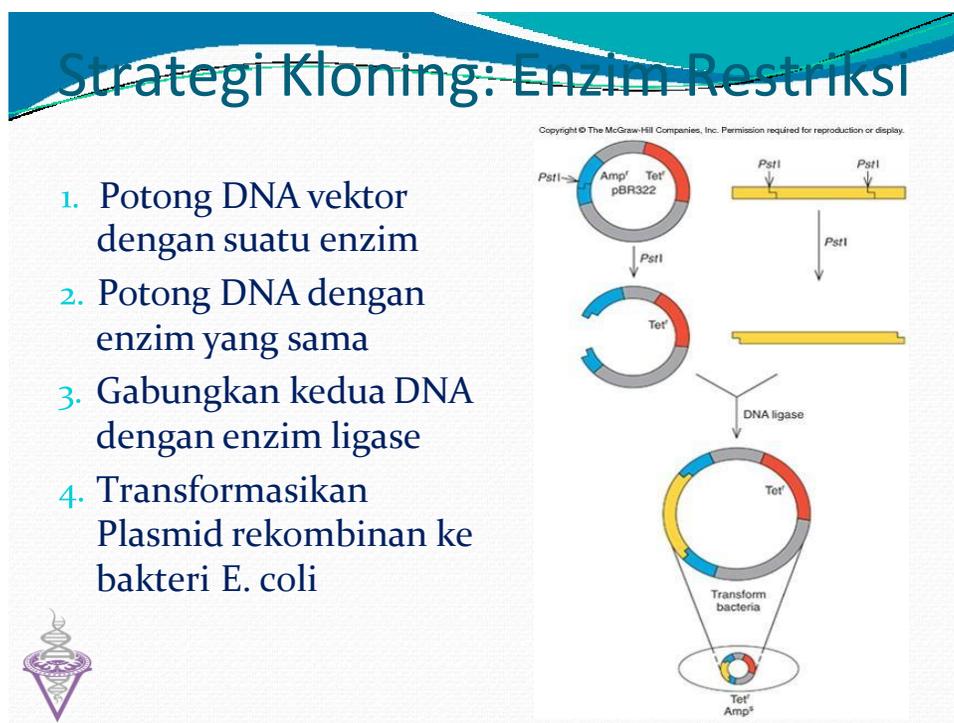
XV. REKAYASA/MANIPULASI GEN**Pengertian Rekayasa Genetik**

Rekayasa genetika atau sering disebut teknologi DNA rekombinan adalah suatu ilmu yang mempelajari mengenai pembentukan kombinasi materi genetik yang baru,

dengan cara penyisipan molekul DNA ke dalam suatu vektor sehingga memungkinkannya untuk terintegrasi dan mengalami perbanyakan dalam suatu sel organisme lain yang berperan sebagai sel inang. Manfaat rekayasa genetika ini adalah mengisolasi dan mempelajari masing-masing gen tentang fungsi dan mekanisme kontrolnya. Selain itu, rekayasa genetika juga memungkinkan diperolehnya suatu produk dengan sifat tertentu dalam waktu lebih cepat dan jumlah lebih besar daripada produksi secara konvensional.

❖ DNA Rekombinan

Kloning merupakan sarana untuk membentuk DNA rekombinan. Prosedur apapun dalam kloning DNA memiliki empat bagian penting yaitu : metode untuk menghasilkan fragmen-fragmen DNA dengan pemotongan DNA menggunakan enzim endonuklease restriksi; reaksi-reaksi yang menggabungkan DNA asing ke suatu vektor, suatu cara pengenalan rekombinan buatan ke dalam sel inang sehingga dapat berreplikasi didalamnya dan suatu metode berikutnya untuk menyeleksi klon dari sel-sel penerima yang telah memperoleh rekombinan.

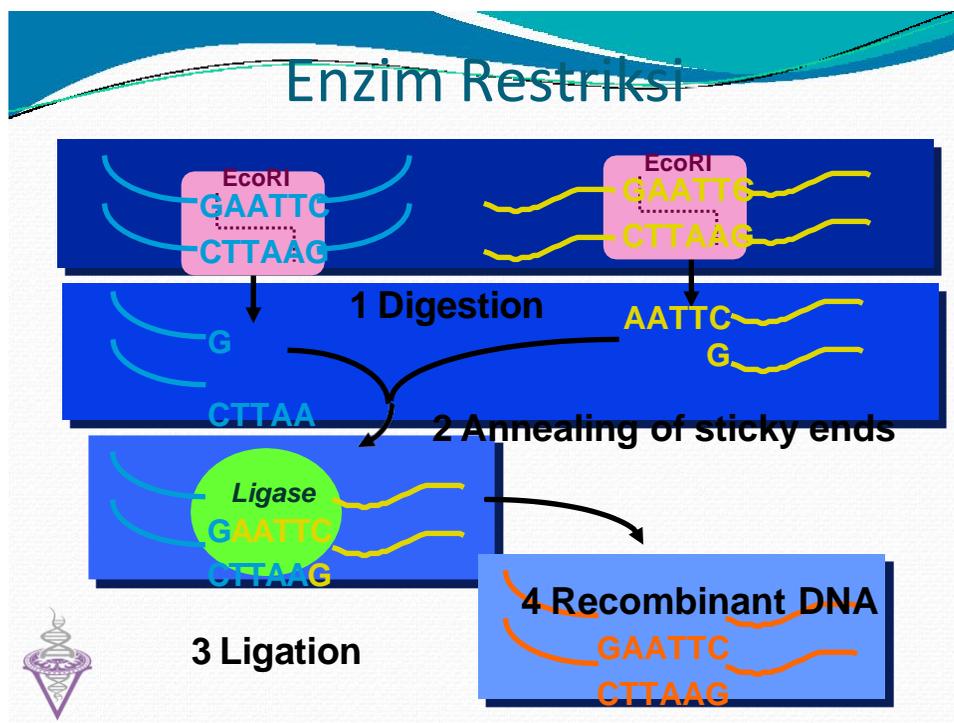


• Pemotongan DNA dengan Enzim Endonuklease restriksi

Dalam kloning gen, diperlukan adanya enzim restriksi yang dapat memotong secara tepat molekul DNA sesuai dengan yang diinginkan. Setiap vektor harus dipotong pada posisi tunggal untuk membuka lingkaran sehingga molekul DNA baru dapat diinsersikan. Molekul yang terpotong lebih dari satu kali akan terpecah menjadi dua fragmen atau lebih sehingga tidak akan berguna bagi wahana kloning. Pemotongan

DNA dilakukan untuk mendapatkan gen tunggal yang hanya terdiri dari 2 sampai 3 kbp DNA serta untuk menghasilkan fragmen yang cukup kecil yang dapat dibawa oleh vektor. Vektor kloning lebih cocok terhadap fragmen DNA dengan kisaran tertentu (Brown, 1991).

Pemotongan DNA dilakukan dengan menggunakan enzim degradatif yang disebut endonuklease restriksi yang disintesis oleh spesies bakteri tertentu. Ciri utama endonuklease restriksi ini yaitu tiap enzim mengenal urutan spesifik pada molekul DNA yang akan dipotong. Enzim *EcoRI* yang disintesis oleh *Escherichia coli* mempunyai urutan pengenalan GAATTC. Enzim *BamHI* yang disintesis oleh *Bacillus amyloliquefaciens* mempunyai urutan pengenalan GGATCC. Pada kedua enzim ini, kedua untai DNA tidak dipotong pada posisi yang tepat sama. Tetapi pemotongannya berbentuk zig-zag atau belok tajam melampaui dua atau empat nukleotid, sehingga fragmen DNA yang dihasilkan mempunyai tonjolan untai tunggal pendek pada tiap ujungnya.



Ini disebut ujung lengket atau ujung kohesif karena pasangan basa antara ujung-ujung ini dapat melekatkan kembali molekul DNA. Satu ciri penting enzim-enzim yang menghasilkan ujung lengket adalah bahwa endonuklease restriksi dengan urutan pengenalan yang berbeda dapat menghasilkan ujung lengket yang sama. *BamHI* dengan urutan pengenalan GGATCC dan *BglII* dengan urutan pengenalan AGATCT adalah contoh yang menghasilkan ujung lengket GATC. Fragmen DNA hasil pemotongan oleh salah satu enzim tersebut dapat saling disambung, karena tiap fragmen akan mempunyai ujung lengket yang komplementer (Sambrook, J. et al., 1989).

- **Penyambungan molekul DNA (ligasi).**

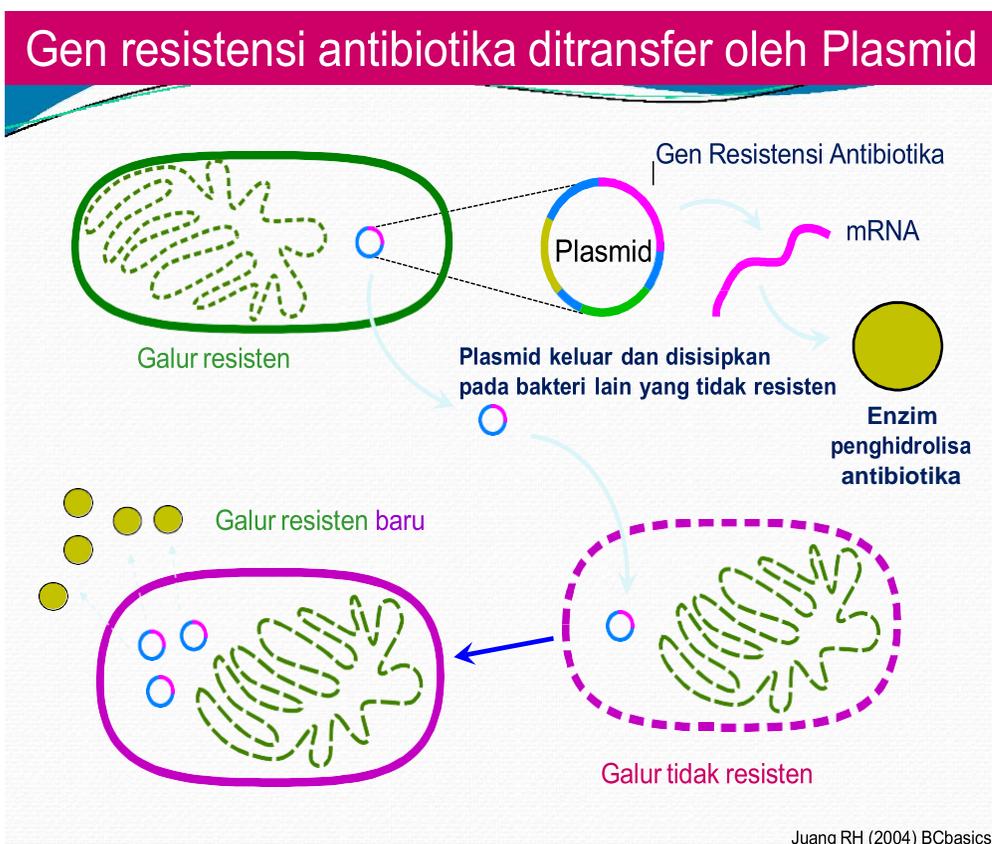
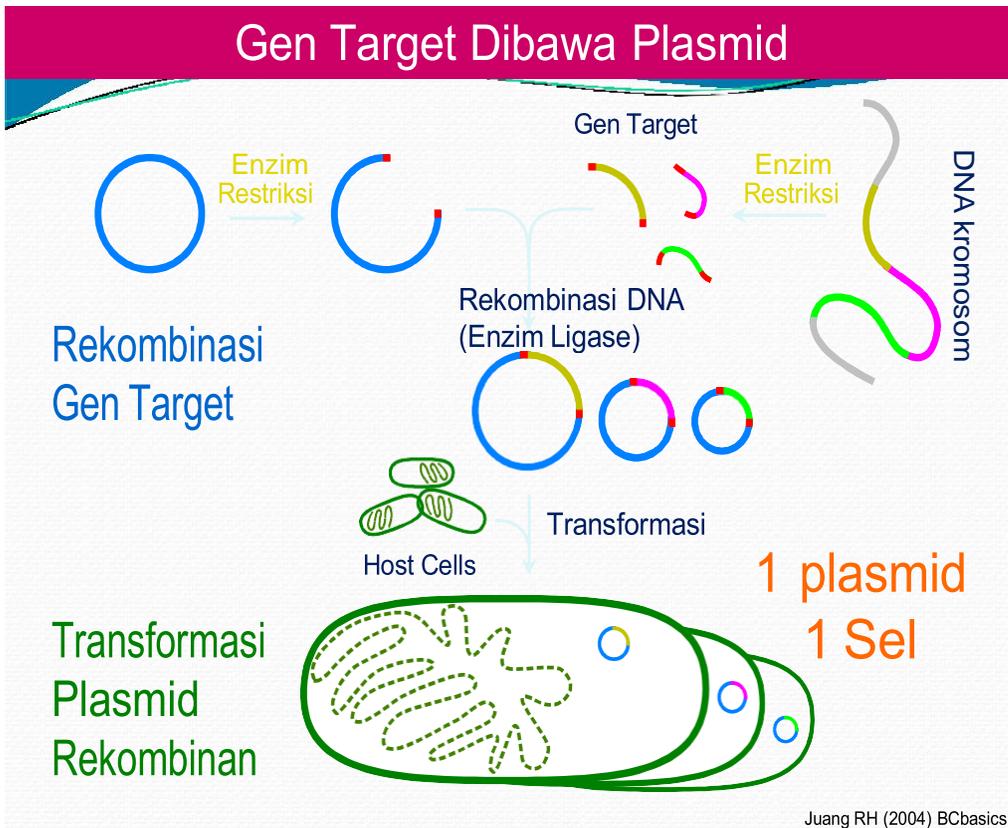
Tahap terakhir dalam penyusunan molekul DNA rekombinan adalah menyambung molekul vektor dan molekul DNA yang akan diklon. Proses ini disebut ligasi dan enzim yang mengkatalisis reaksi disebut ligase DNA.

Semua sel hidup menghasilkan ligase DNA, tetapi enzim yang dipakai biasanya dimurnikan dari *E.coli*. Ligase DNA yang dimurnikan, disamping mereparasi diskontinuitas juga akan menyambung molekul DNA secara individual atau menyambung kedua ujung molekul yang sama. Ligase ujung lengket yang komplementer lebih efisien karena ujung-ujung lengket yang cocok dapat saling berpasangan basa dengan ikatan hidrogen untuk membentuk struktur yang relatif stabil sehingga enzim dapat bekerja dengan baik dalam menyambung molekul vektor dan molekul DNA yang akan diklon.

- **Memasukkan DNA ke sel bakteri dan deteksi ekspresi gen**

Kebanyakan spesies bakteri dapat mengambil molekul DNA dari medium tempat ia ditumbuhkan. Seringkali molekul yang diambil dengan cara ini akan rusak, tetapi kadang-kadang molekul ini dapat bertahan dan mengadakan replikasi di dalam sel tuan rumah. Ini terutama akan terjadi jika molekul DNA merupakan suatu plasmid yang mempunyai tempat permulaan replikasi yang dikenal oleh sel tuan rumah.

Pengambilan plasmid dan keadaan stabil plasmid dalam sel tuan rumah biasanya dideteksi dengan mengamati ekspresi gen yang dibawa oleh plasmid. Sebagai contoh, sel *E.coli* biasanya sensitif terhadap pengaruh hambatan pertumbuhan antibiotik kanamisin. Tetapi sel yang mengandung plasmid pBI₁₂₁ resisten terhadap antibiotik tersebut. Hal ini disebabkan karena pBI₁₂₁ membawa dua gen, yaitu gen NptII untuk ketahanan terhadap kanamisin dan gen penyandi β -glukoronidase (GUS). Pengambilan pBI₁₂₁ oleh sel dapat dideteksi karena sel-sel *E.coli* ditransformasi dari keadaan sensitif terhadap kanamisin menjadi resisten terhadap kanamisin (Wirawan, 1998).



Ada beberapa bagian terpenting yang selalu digunakan dalam rekayasa genetika. Yang pertama adalah enzim seluler dan yang kedua adalah vektor. Hal tersebut akan dibahas sebagai berikut:

1. *Cellular Enzymes* / Enzim seluler

Enzim yang dipakai oleh orang-orang bioteknologi dalam memanipulasi DNA diantaranya adalah enzim Endonuklease, yaitu enzim yang mengenali batas-batas

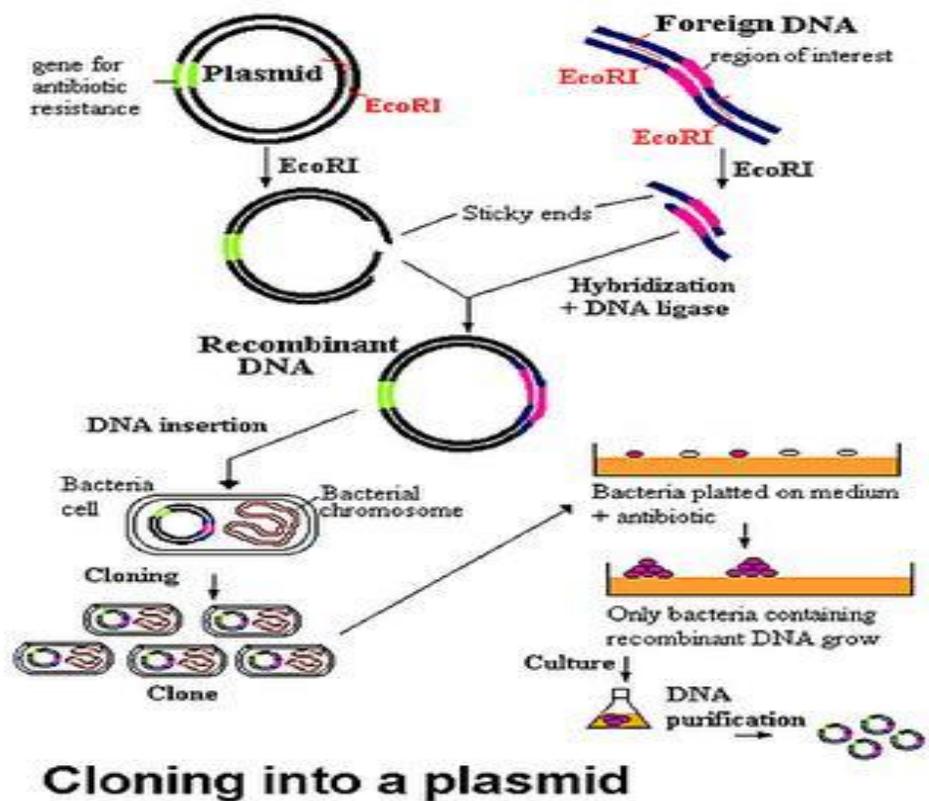
sekuen nukleotida spesifik dan berfungsi dalam proses *restriction* atau pemotongan bahan-bahan genetik. Penggunaan enzim ini yang paling umum antara lain pada sekuen *palindromik*. Enzim ini dibentuk dari bakteri yang dibuat sedemikian rupa sehingga dapat menahan penyusupan DNA, seperti genom *bacteriophage*. Ada juga DNA polimerisasi, yaitu enzim yang biasa dipakai untuk meng-*copy* DNA. Enzim ini mensintesis DNA dari sel induknya dan membentuk DNA yang sama persis ke sel induk barunya. Enzim ini juga bisa didapatkan dari berbagai jenis organisme, yang tidak mengherankan, karena semua organisme pasti harus meng-*copy* DNA mereka. Selain DNA polimerisasi, ada juga enzim RNA polimerisasi yang berfungsi untuk 'membaca' sekuen DNA dan mensintesis molekul RNA komplementer. Seperti halnya DNA polimerisasi, RNA polimerisasi juga banyak ditemukan di banyak organisme karena semua organisme harus 'merekam' gen mereka

Selanjutnya yang akan dibahas adalah enzim DNA ligase. Enzim DNA ligase merupakan suatu enzim yang berfungsi untuk menyambungkan suatu bahan genetik dengan bahan genetik yang lain. Contohnya saja, enzim DNA ligase ini dapat bergabung dengan DNA (atau RNA) dan membentuk ikatan *phosphodiester* baru antara DNA (atau RNA) yang satu dengan lainnya.

Kemudian, ada pula enzim *reverse transcriptases* yang berfungsi membentuk *blue-print* dari molekul RNA membentuk cDNA (DNA komplementer). Enzim ini dibuat dari virus RNA yang mengubah genom RNA mereka menjadi DNA ketika mereka menginfeksi inangnya. Enzim ini biasa dipakai ketika bertemu dengan gen eukariotik yang biasanya terpisah-pisah menjadi potongan kecil dan dipisahkan oleh *introns* dalam kromosom.

3. *Natural Vectors* / Vektor natural

Sebagai salah satu cara untuk memanipulasi DNA di luar sel, para ilmuwan dalam bioteknologi harus mencari membuat suatu tempat yang keadaannya stabil dan cocok dengan tempat DNA yang dimanipulasi. Sekali lagi, alam telah memberikan solusi dari masalah ini. Vektor disini mencari diartikan sebagai alat yang membawa DNA ke dalam sel induk barunya. Agar suatu metode dalam rekayasa genetika dianggap berhasil, di dalam mencari, DNA hasil rekombinan seharusnya benar-benar hanya dibawa setelah sebelumnya DNA rekombinan digabungkan dengan DNA mencari melalui enzim ligase. Namun di dalam mencari, DNA rekombinan tidak termutasi lagi membentuk DNA dengan sifat baru. Contoh dari mencari natural dari alam adalah plasmid dan virus atau *bacteriophage*.



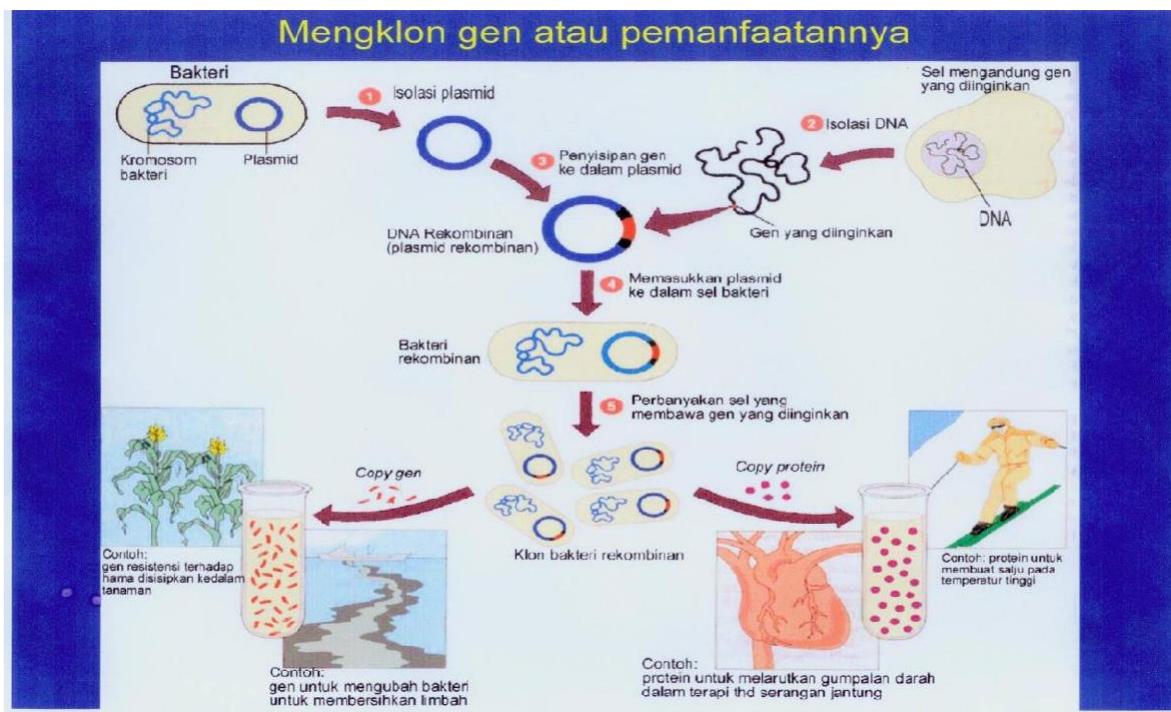
Teknologi DNA Rekombinan dan Aplikasinya

Teknologi DNA Rekombinan atau sering disebut juga rekayasa genetika adalah suatu ilmu yang mempelajari mengenai pembentukan kombinasi materi genetik yang baru dengan cara penyisipan molekul DNA ke dalam suatu vektor sehingga memungkinkannya untuk terintegrasi dan mengalami perbanyakan dalam suatu sel organisme lain yang berperan sebagai sel inang. Manfaat rekayasa genetika ini adalah mengisolasi dan mempelajari masing-masing gen tentang fungsi dan mekanisme kontrolnya. Selain itu, rekayasa genetika juga memungkinkan diperolehnya suatu produk dengan sifat tertentu dalam waktu lebih cepat dan jumlah lebih besar daripada produksi secara konvensional.

Prinsip dasar teknologi rekayasa genetika adalah memanipulasi atau melakukan perubahan susunan asam nukleat dari DNA (gen) atau menyelipkan gen baru ke dalam struktur DNA penerima. Gen yang diselipkan dan transgen penerima dapat berasal dari transgen apa saja. Misalnya, gen dari bakteri transgen diselipkan di khromosom tanaman, sebaliknya gen tanaman dapat diselipkan pada khromosom bakteri. Gen serangga dapat diselipkan pada tanaman atau gen dari babi dapat diselipkan pada bakteri, atau bahkan gen dari manusia dapat diselipkan pada khromosom bakteri. Produksi insulin untuk pengobatan diabetes, misalnya, diproduksi dalam sel bakteri *Escherichia coli* (E. coli) di mana gen penghasil insulin diisolasi dari sel transgen manusia yang kemudian diklon dan dimasukkan ke dalam sel E. coli. Dengan demikian produksi insulin dapat dilakukan dengan cepat dan murah.

Teknologi rekayasa genetika juga memungkinkan manusia membuat vaksin pada tumbuhan, menghasilkan tanaman transgenik dengan sifat-sifat baru yang khas.

Rekayasa genetika pada tanaman mempunyai target dan tujuan antara lain peningkatan produksi, peningkatan mutu produk supaya tahan lama dalam penyimpanan pascapanen, peningkatan kandungan gizi, tahan terhadap serangan hama dan penyakit tertentu (serangga, bakteri, jamur, atau virus), tahan terhadap herbisida, sterilitas dan fertilitas serangga jantan (untuk produksi benih hibrida), toleransi terhadap pendinginan, penundaan kematangan buah, kualitas aroma dan nutrisi, perubahan pigmentasi. Rekayasa Genetika pada mikroba bertujuan untuk meningkatkan efektivitas kerja mikroba tersebut (misalnya mikroba untuk fermentasi, pengikat nitrogen udara, meningkatkan kesuburan tanah, mempercepat proses kompos dan pembuatan makanan ternak, mikroba prebiotik untuk makanan olahan), dan untuk menghasilkan bahan obat-obatan dan kosmetika.



XVI. TRANSGENIK

Pada prinsipnya pengertian ternak transgenik adalah ternak yang telah disisipi atau memiliki gen asing dari spesies yang berbeda atau makhluk hidup lainnya. Penggabungan gen asing ini bertujuan untuk mendapatkan ternak dengan sifat-sifat yang diinginkan.

▪ Konsep Transgenik

Keberhasilan penemuan sejumlah teknik yang sangat sensitip kini telah dapat di aplikasikan pada transgenik, misalnya pengisolasian serta penentuan karakteristik gen, dan penentuan kuantitas produk gen.

Sebuah konsep yang bersifat fundamental dan merupakan inti teknik transgenik menurut Granner., (1997) yaitu pasangan basa komplementer membentuk ikatan hidrogen antara satu sama lain –A dengan T dan G dengan C. Dalam kloning DNA, segmen DNA tertentu dikeluarkan dari lingkungan normal dengan menggunakan salah satu diantara banyak enzim restriksi endonuklease. Segmen ini kemudian diligasikan ke dalam salah satu dari beberapa vektor dimana segmen DNA dapat diperbanyak dan diproduksi dengan jumlah yang berlebihan. Relatif mudah dilakukan pengisolasian DNA yang sudah diklonkan dan kemudian dirangkai serta digunakan sebagai pelacak (probe) dalam beberapa tipe reaksi hibridisasi untuk mendeteksi segmen DNA lainnya yang berhubungan atau yang berada didekatnya, atau digunakan untuk menentukan kuantitas produk gen seperti mRNA. Manipulasi DNA untuk mengubah struktur ini yang disebut rekayasa genetik merupakan unsur penting dalam proses kloning (misalnya pembentukan molekul kimerik) dan dapat pula digunakan untuk meneliti fragmen DNA tertentu serta menganalisis cara gen diregulasi. Molekul DNA kimerik dimasukkan ke dalam sel untuk membuat sel yang telah ditransfeksikan atau disisipkan ke dalam oosit yang telah dibuahi untuk membuat hewan transgenik.

Penyisipan molekul DNA kimerik pada oosit yang telah dibuahi dapat dimengerti karena pada tahap ini sel baru akan memulai siklus sel (Cell cyclus) didalam fase siklus sel meliputi dua tahap yaitu fase persiapan dan pembelahan, fase persiapan sendiri meliputi periode M, G1, S dan G2.

Menurut Yatim (1996) dan Bolander (1994) menyatakan bahwa G berarti gap atau senggang atau masa persiapan, G1 dimana sel sedang aktif mensintesa RNA atau transkripsi dan protein atau translansi, sedangkan S berarti masa sintesis DNA dengan cara replikasi A dari DNA lama mensintesis T DNA baru, C dari DNA lama mensintesis G dari DNA Baru, maka A lama berpasangan dengan T baru, C lama berpasangan dengan G baru, sedangkan basa Tnya ditempati U, gulanya ribosa dan tiap benang adalah tunggal. Sedangkan M adalah mitosis yang meliputi profase, metafase, anafase dan telofase. Kondisi sel fase G1, S dan G2 berpeluang untuk disisipkan DNA baru sebagai usaha rekonstruksi DNA yang diinginkan.

▪ Tujuan Transgenik

Secara khusus, tujuan produksi ternak transgenik adalah :

1. Meningkatkan produktivitas ternak

Di bidang peternakan transfer gen bertujuan untuk meningkatkan produktivitas ternak seperti konversi pakan, rataan penambahan bobot badan, mereduksi kandungan lemak, meningkatkan kualitas daging, susu, wool secara cepat sehingga dapat mengurangi biaya produksi yang harus ditanggung konsumen. Karakter dari

produktivitas ternak dikontrol oleh sejumlah gen yang dapat dipisahkan dari genom. Hasil pemetaan genom dari suatu spesies ternak membantu dalam pemilihan satu atau beberapa gen yang diinginkan dan menguntungkan secara ekonomi.

Beberapa gen yang mempunyai potensi untuk pembentukan ternak transgenik

a. *Growth Hormon (GH)*

GH banyak dilibatkan dalam pembentukan ternak transgenik. Sejumlah gen GH telah berhasil ditransfer pada ternak. Pada babi dan domba ekspresi gen GH yang ditransfer dapat diamati dari peningkatan GH pada plasma darah keturunan yang dihasilkan. Konsentrasi GH bervariasi pada ternak transgenik meskipun mempunyai struktur gen yang sama, tetapi penyisipan gen pada genom bersifat random. Pada umumnya pada babi dan domba, tidak tumbuh lebih besar dibandingkan dengan anak-anak yang dilahirkan oleh satu induk. Beberapa babi menunjukkan pertumbuhan yang lebih cepat, 17% lebih efisien dalam konversi pakan dan hanya mengandung 1/5 lemak karkas. Reduksi lemak diobservasi dari beberapa bagian jaringan intramuskular dibandingkan dengan saudara satu induk yang bukan transgenik. Ternak transgenik tidak menunjukkan adanya pertumbuhan yang lebih besar dari kontrol tetapi kandungan lemaknya lebih rendah. Pada domba transgenik hilangnya lemak tubuh dapat mengakibatkan hiperglisemia dan glukosuria. Peningkatan GH mengakibatkan sejumlah patologis termasuk degeneratif ginjal. Pada babi peningkatan GH mengakibatkan *gastric ulcers* dan *infertilitas*

b. *Growth Hormon Releasing Factor (GRF)*.

Domba dan babi transgenik telah diproduksi dengan menggunakan sekuens promotor MT dan ALB. Hanya 14% domba dan 29% babi yang dapat mengekspresikan gen MT-*human growth hormon releasing factor* (hGRF). Konsentrasi GRF pada plasma babi transgenik sekitar 130 - 380 pg/ml (MT-hGRF) dan 400 - 800 pg/ml (ALB-hGRF). Konsentrasi ini lebih tinggi 10 - 500 kali dari ternak kontrol seinduk yang bukan transgenik).

c. *Insulin like Growth Factor I (IGF I)*

Empat babi dan 7 sapi transgenik diproduksi dengan memasukkan gen IGF I ternyata hanya satu babi yang dapat mengekspresikan peningkatan level IGF I.

d. *Stimulation of muscle development*

Tikus mampu mengekspresikan gen ayam cSK1 yang secara fenotip menunjukkan adanya hipertropi pada otot dan mereduksi lemak tubuh. Gen yang ditransfer ke dalam tikus mengandung promotor *Mouse Sarcoma Virus (MSV) LTR* yang difusikan untuk mengaktifkan cSKI cDNA. Produk dari gen yang ditransfer adalah protein yang mengandung 448 asam amino yang berada dalam inti-inti otot. Gen

cSKI telah dicobakan ditransfer pada genome babi. Hasilnya menunjukkan perbedaan phenotip diantara temak yang diuji antara lain hipertropi otot pada pundak dan paha.

Produksi wool juga menjadi prioritas pada domba. *Cystein* merupakan asam amino yang mempunyai peran penting dalam produksi wool. Namun penambahan *Cystein* tidak dapat meningkatkan produksi wool karena degradasi rumen. Domba transgenik mengekspresikan IGF I dapat meningkatkan beral wool. Gen yang ditransfer mengandung promotor keratin tikus yang terikat pada IGF I cDNA. Domba transgenik hasil induksi gen cDNA IGF I yang dikendalikan oleh promotor keratin tikus dapat meningkatkan 17% produksi wool dibanding dengan saudara seinduk yang nontransgenik.

2. Meningkatkan kesehatan ternak

Aplikasi dari teknologi transgenik juga digunakan untuk memperbaiki kesehatan ternak. Beberapa pendekatan dilakukan untuk meningkatkan resistensi ternak terhadap suatu penyakit dan pembentukan antibodi.

Resistensi penyakit bisa terjadi secara alami maupun induksi antibodi. Tikus mengandung gen allel autosom dominan Mx1 yang tahan terhadap virus influenza. Interferon menstimulasi produksi protein Mx yang menjadi promotor ketahanan terhadap infeksi virus. Pada sapi transgenik Immunoglobulin A (IgA) terdeteksi dalam serum sekitar 650 $\mu\text{g/ml}$. Pada domba transgenik IgA dijumpai pada limposit.

3. Bioreaktor untuk produk-produk biomedis

Ternak transgenik memegang peran penting dalam menghasilkan produk-produk untuk pengobatan penyakit. Ribuan orang mengambil keuntungan dari produk-produk biomedik yang dihasilkan. Dari ternak transgenik. Contoh : insulin untuk pengobatan penyakit diabetes dan oksitoksin untuk merangsang kelahiran. Beberapa produk biomedik yang dapat diproduksi dari ternak transgenik antara lain:

a. *Human alpha 1 anti tripsin* (h α AT)

Weight *et. al.*, (1991) melaporkan tingginya konsentrasi h α AT pada susu domba transgenik. Konsentrasinya berkisar 1.5 - 37.5 g/l. Domba setelah berproduksi tidak menunjukkan symtomp. Aktivitas dari h α AT yang telah dipurifikasi dari susu domba menghasilkan transgenik sama dengan h α AT pada plasma darah manusia. Bila manusia defisiensi akan h α AT maka akan menderita emphysema. h α AT dapat diekstraksi dari plasma darah manusia, tetapi karena kebutuhan untuk pasien cukup besar (200 g per tahun) menjadi tidak mencukupi dan mahal.

b. *Human Lactoferin* (hLF)

Krimpenfort *et. al.* (1991) telah berhasil memproduksi temak transgenic dengan komposisi promotor α SI casein dan sekuens hLF. Meade *et al.*, (1990) mentransfer α SI casein 15 kbp dapat diekspresikan pada jaringan spesifik tikus transgenie. Gen α SI casein dapat juga dideteksi pada jaringan plasenta pada sapi perah dan hanya menghasilkan hLF pada saat laktasi.

c. Human Protein C

Velander *eta.al* (1992) menginduksikan cDNA protein C mammae (hPC) kedalam WAP untuk memproduksi babi transgenic. Babi ini menghasilkan susu yang mengandung lebih dari 1 g hPC/liter susu. Aktivitas biologi dari hPC rekombinanekuivalen dengan protein C dari plasma manusia. Protein C mengandung peran dalam regulasi hemostasis. Bila tubuh defisiensi protein C akan mengalami trombotik (*intravaskular blood clots*). Protein C berperan dalam mencegah pembekuan darah. Kebutuhan setiap tahun 96 kg dan menjadi proyek di Amerika.

d. Tissue Plasminogen Activator (TPA)

Promotor WAr tikus digunakan untuk mengespresikan beberapa hTPA cDNA pada kambing transgenik. Ebert *et al.*, (1991) mengemukakan bahwa TPA merupakan agen anti pembekuan darah, digunakan untuk pasien yang mengalami serangan jantung. Konsentrasinya sangat rendah dijumpai pada susu dan ekspresi hTPA tidak berpengaruh pada produksi susu dan kesehatan kambing transgenik. Kambing transgenic telah diproduksi dengan promotor 13 casein yang diikutkan dalam WAP dan menghasilkan konsentrasi hTPA yang lebih tinggi. Kambing mengalami agalactic setelah beranak dan ini merupakan hasil ekspresi yang spesifik.

e. Human Haemoglobin

Haemoglobin merupakan protein biomedik yang tidak dapat disintesa oleh kelenjar mammae tetapi dapat diproduksi oleh jaringan lain dari temak transgenic dan berada dalam darah (Swanson *et al.*, 1992 telah memproduksi tiga babi transgenic yang mengandung gen α dan β globin. Hasil menunjukkan 15% dari sel darah merah mengandung hHG pada hemoglobin babi. Hemoglobin dapat diekstraksi dari sel-sel darah merah baik dari manusia maupun babi kemudian dipisahkan dengan kromatografi. Hemoglobin murni dapat dimodifikasi secara kimia yaitu dengan cara polimerisasi. Produksi hH dari temak transgenik digunakan untuk transfusi darah.

▪ **Manfaat Transgenik**

Produksi ternak transgenik diperlukan di bidang peternakan. Sebagai contoh pada ternak sapi : panjangnya interval generasi, jumlah anak yang dihasilkan dan lamanya proses integrasi gen menjadi tidak efisien bila dilakukan secara konvensional. Oleh karena itu keberhasilan produksi sapi transgenik sangat diharapkan karena

memungkinkan untuk terjadinya mutasi gen secara tiba-tiba (pada satu generasi) dan lebih terarah pada gen yang diinginkan. Performans yang diharapkan dari sapi transgenik adalah sapi yang mempunyai tingkat kesuburan tinggi, efisien dalam pemanfaatan pakan, kuantitas dan kualitas produksi yang lebih tinggi serta lebih resisten terhadap penyakit. Permasalahan pada temak transgenik adalah rendahnya keturunan (*offspring*) dari ternak transgenik yang dihasilkan baik pada hewan penelitian maupun pada ternak mamalia (sekitar 1-4%) yang nantinya, menjadi prioritas peningkatan produksi ternak di bidang peternakan.

▪ ***Prosedur produksi ternak transgenik***

Produksi ternak (sapi) transgenik sangat tergantung pada kualitas embrio satu sel yang akan di injeksi. Bila embrio diperoleh secara *in vivo* maka prosedur diawali dengan superovulasi ternak donor (untuk mendapatkan banyak embrio), koleksi zigot (embrio satu sel), mikro injeksi DNA pada embrio, kultur embrio sampai fase blastosis, ditransfer pada temak resipien dan diperoleh sapi transgenic.

Pada produksi embrio secara *in vitro* dimulai dengan koleksi oosit. Oosit diaspirasi dari folikel berdiameter 2 - 5 mm dengan menggunakan jarum berukuran 18 G. Oosit dicuci dengan 3 kali dengan medium aspirasi 10 mM TALP-HEPES dan TCM-199 (dengan garam Eagle's dan L glutamin) ditambah dengan 0.3% BSA dan 2 mM NaHCO₃, sedangkan untuk IVM digunakan TCM 199 yang telah diimbui dengan hormon FSH dan estradiol. Kultur oosit dilakukan selama 22 - 24 jam dalam inkubator suhu 39°C dan 5% CO₂. Spermatozoa yang akan digunakan untuk fertilisasi dipersiapkan dengan metode *swim-up* dan konsentrasi akhir spermatozoa 1.6×10^6 /ml sperma motil.

IVF dilakukan dalam medium BSA, setelah 18 jam diharapkan telah terjadi fertilisasi, kemudian divortex selama 2 menit dalam 2 ml medium TALF-HEPES. Pada tahapan selanjutnya mikro injeksi DNA.

Tahapan selanjutnya kultur dari embrio hasil injeksi DNA. Ada 2 cara yang bisa dilakukan yaitu melalui induk perantara (*intermediated host*) maupun *in vitro* dengan *coculture*. Pada cara *pertama* embrio sapi ditransfer ke dalam UTJ (*utero tuba junction*). Embrio diflushing 6 - 9 hari setelah transfer. Cara kedua yaitu dengan *in Vitro coculture*, antara lain dengan menggunakan sel - sel granulosa dan sel - sel *oviduct*.

Tahapan terakhir adalah transfer embrio sapi pada ternak resipien. Embrio yang telah berkembang membentuk blastosit baik secara *in vivo* (melalui induk perantara) maupun yang dikultur secara *in vitro* ditransfer pada ternak resipien yang telah disinkronisasi sebelumnya.

Seekor ternak dapat dikatakan sebagai ternak transgenik bila memenuhi kriteria

1. Integrasi dari gen yang ditransfer ada pada semua sel-sel somatik.
2. Transmisi dari gen yang ditransfer stabil pada semua keturunan
3. Ekspresi dari gen yang ditransfer DNA > mRNA > protein.
4. Aktivitas biologi dari protein hasil ekspresi gen yang ditransfer.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrian M. S.R.D., R.D. Owen and R.S. Edgar. 1965. General Genetics. W H. Freeman and Company.
- Brown, T.A. 1990. Gene cloning, 2nd edition. Champman and Hall, London.
- Chapman, A.B. 1985. General and Quantitative Genetics. Elsevier Science Publishers. Tokyo.
- Cunningham, E.P. 1999. Recent Development in Biotechnology as they related to animal genetic resources for food and agriculture. FAO. <http://www.fao.org>.
- Elseth, G.D. and K.D. Baumgardner. 1984. Genetics. Addison-Wesley Publishing Company.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung
- Feradis. 2010. Reproduksi Ternak. Alfabeta. Bandung
- Handayani, R. 2009. Produksi Ternak Transgenik sebagai Upaya Meningkatkan Mutu Genetik Ternak <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/802/1/>(diakses tanggal 21 Mei 2011)
- Honegger, W., H. Burla, M.Schnitter. 1962. Genetics, Heredity, Environment and Personality. Dell Publishing Co., Inc. New York
- [http:// www.scribd.com/doc/14824776](http://www.scribd.com/doc/14824776). 2011. Tanaman Transgenik. [http:// www. scribd.com/ doc/ 14824776](http://www.scribd.com/doc/14824776) (diakses tanggal 21 Mei 2011)
- http://en.wikipedia.org/wiki/DNA_extraction diakses pada 20 Juni 2012 pukul 19.35 wita.
- <http://kirsman83.weebl.com/2/post/2010/01/isolasi-dna-buah.html> diakses pada 20 Juni 2012 pukul 19.35 wita.
- <http://www.macnature.com/2010/02/isolasi-dna-referensi-terpercaya.html> diakses pada 20 Juni 2012 pukul 19.35 wita.
- Johansson, I., J. Rendel and M. Taylor. 1966. Genetics and Animal Breeding. W H. Freeman and Company.
- Knight, R.L.1948. Dictionary of Genetics. The Chronica Botani Company. Waltham, Mass, U.S.A.

- Lasley, J. F. 1978. *Genetics of Livestock Improvement*. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey
- Martojo, H. 1994. Peranan Bioteknologi dalam Perbaikan Mutu Genetik Ternak. Makalah pada seminar sehari bersama pemuliaan ternak. Fakultas Peternakan IPB-PAU Bioteknologi, IPB. Bogor
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika*. Pustaka Wirausaha Muda. Jakarta
- Nicholas, F.W. 1987. *Veterinary Genetics*. Clarendon Press Oxford.
- Paterson, D.1969. *Applied Genetics. The Technology of Inheritance*. Aldus Books, London
- Penrose, L.S. *Recent Advances in Human Genetics*. J.A. Charchill Ltd., London
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis, 1989, *Molecular cloning : A. laboratory manual (2and.Ed.)*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York.
- Stansfield., W.D. 1991. *Genetika*. Edisi kedua. Erlangga, Jakarta
- Wirawan, I.G.P, I Nyoman Arya dan Siti Subandiyah, 1998, *Isolasi Loci Resisten terhadap CVPD (Citrus Vein Phloem Degeneration) dengan Metode Transformasi Menggunakan A.tumefaciens*, Laporan Penelitian tidak dipublikasikan

