

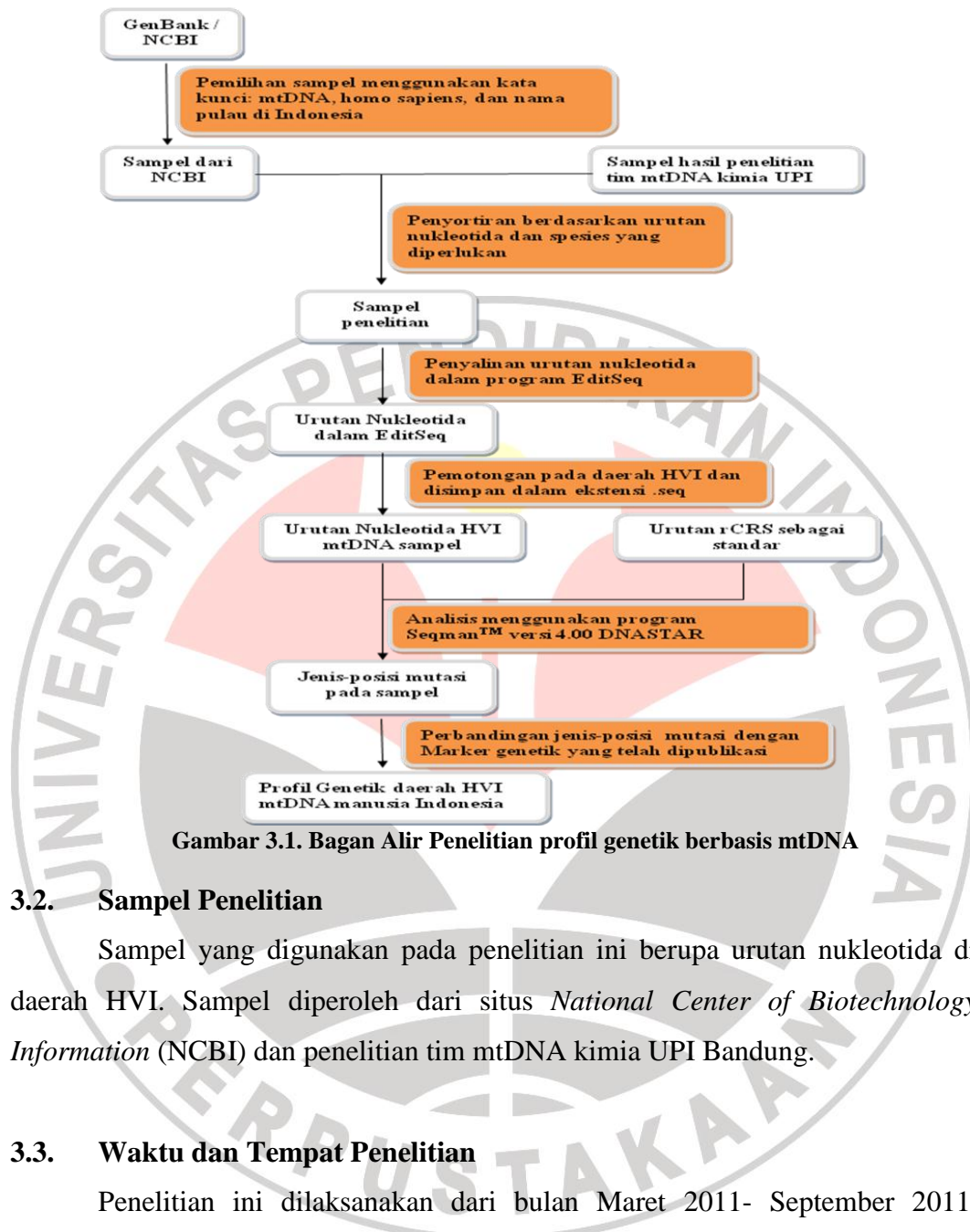
BAB III

METODE PENELITIAN

Secara garis besar langkah-langkah yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pengumpulan sampel data urutan nukleotida daerah Hipervariabel I (HVI) DNA mitokondria (mtDNA) yang berasal dari Negara Indonesia; perbandingan urutan nukleotida sampel dengan urutan nukleotida standar *revised Cambridge Reference Sequence* (rCRS), menggunakan program SeqMan™ versi 4.00 DNASTAR; serta perbandingan mutasi sampel dengan marker genetik yang telah dipublikasi di situs Mitomap.

3.1. Bagan Alir Penelitian

Garis besar keseluruhan tahapan penelitian yang dilakukan ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Bagan Alir Penelitian profil genetik berbasis mtDNA

3.2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berupa urutan nukleotida di daerah HVI. Sampel diperoleh dari situs *National Center of Biotechnology Information* (NCBI) dan penelitian tim mtDNA kimia UPI Bandung.

3.3. Waktu dan Tempat Penelitian

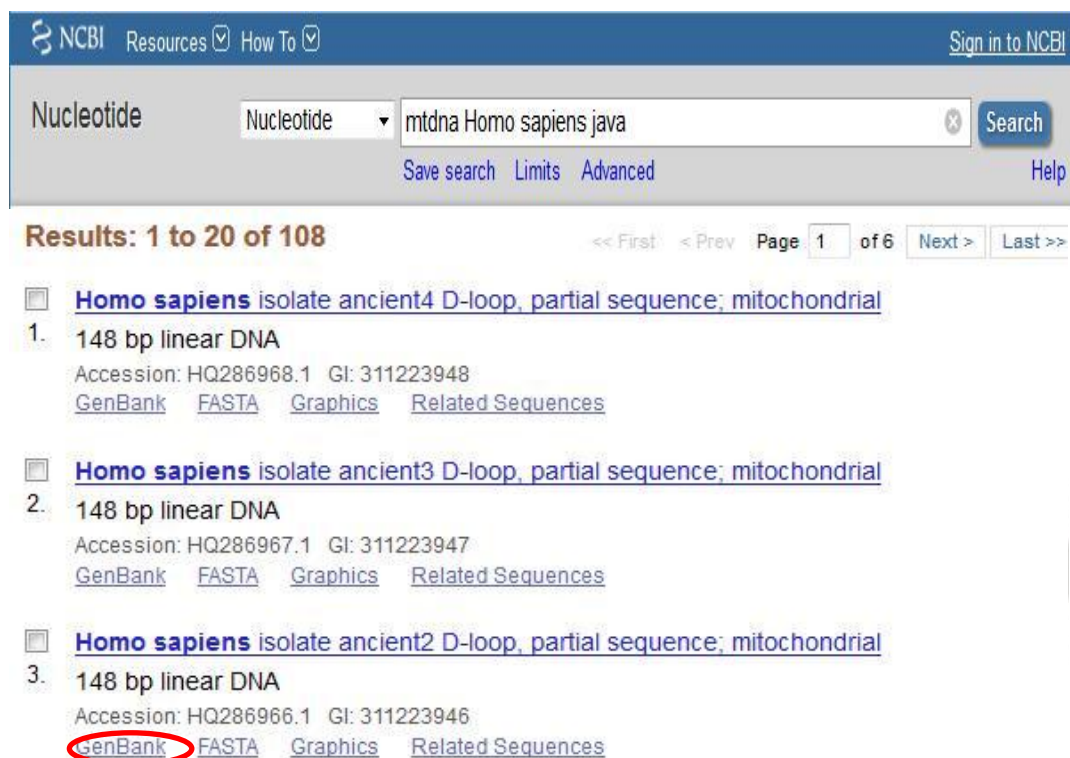
Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret 2011- September 2011. Penelitian dilakukan di Jurusan Pendidikan Kimia UPI Bandung.

3.4. Tahapan Penelitian

3.4.1. Pengumpulan Sampel mtDNA

Pengumpulan sampel dilakukan dengan cara penelusuran data urutan nukleotida yang dipublikasi di situs NCBI (<http://ncbi.nih.gov>), dan yang dipublikasi

oleh tim penelitian mtDNA Kimia UPI. Proses penelusuran urutan nukleotida sampel di situs NCBI dilakukan dengan menggunakan kata kunci mtDNA, *Homo sapiens* dan nama pulau di Indonesia pada mesin pencari yang terdapat di situs tersebut, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Tampilan setelah Dimasukkan Kata Kunci pada Mesin Pencari NCBI.
Kata kunci yang digunakan adalah *mtDNA*, *Homo Sapiens*, dan *java* (salah satu kepulauan yang ada di Indonesia) dengan jenis data *nucleotide*. (<http://ncbi.nih.gov>).

Dengan dimasukkannya kata kunci pada mesin pencari, sistem akan memuat informasi singkat mengenai daftar sampel yang relevan. Informasi tersebut berupa jumlah nukleotida (panjang basa), nomor akses pada NCBI. Informasi dari sampel yang lebih lengkap akan muncul pada saat *link* GenBank (ditunjukkan dengan marker merah pada Gambar 3.2) dibuka. Informasi yang ditampilkan memuat nomor akses, organisme yang diteliti, lokasi tempat sampel diperoleh, judul artikel, nama peneliti, nama jurnal tempat artikel dipublikasikan,

panjang nukleotida beserta urutan dan posisinya dalam mtDNA. Tampilan mengenai informasi lengkap sampel ditunjukkan pada Gambar 3.3.

Homo sapiens isolate TNB D-loop, partial sequence; mitochondrial

GenBank: HQ286964.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS HQ286964 809 bp DNA linear PRI 10-NOV-2010
 DEFINITION Homo sapiens isolate TNB D-loop, partial sequence; mitochondrial.
 ACCESSION HQ286964
 VERSION HQ286964.1 GI:311223944
 KEYWORDS .
 SOURCE mitochondrion Homo sapiens (human)
 ORGANISM [Homo sapiens](#)
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
 Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;
 Catarrhini; Hominidae; Homo.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 809)
 AUTHORS Susilo,T.B., Rizal,Y., Ahmad,A.S., Noer,A.S. and Misana,A.
 TITLE mtDNA D-loop/HVS I/II human of Sangiran Java
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 809)
 AUTHORS Susilo,T.B., Rizal,Y., Ahmad,A.S., Noer,A.S. and Misana,A.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (19-SEP-2010) Department of Chemistry, Faculty of
 Mathematics and Nature Sciences, ITB Bandung Java, Ganesa 10,
 Bandung, West Java 14035, Indonesian

FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..809
 /organism="Homo sapiens"
 /organelle="mitochondrion"
 /mol_type="genomic DNA"
 /isolate="TNB"
 /isolation_source="Solo, Sangiran Java"
 /db_xref="taxon:9606"
 /country="Indonesia"
 /PCR_primers="fwd_name: ML, fwd_seq: tgatttcacggaggatggtg,
 rev_name: HV2R, rev_seq: ctgttaaaagtgcataccgcc"
 D-loop <1..>809
 /note="HVS"

ORIGIN
 1 tatggggaaa gcagatttgg gtaccaccca agtattgact caccatcaa caacggctat
 61 gtatttcgta cactactgcc agccaccatg aatattgtac agtaccataa atacttgacc
 121 acctgtagta cataaaaacc caatccacat caaaaccccc ccctcatgct tacaagcaag
 181 tacagcaatc aaccttoaac tatcacacat caactgcaac tccaagcca cccctcacc
 241 actaggatac caacaaacct acccaccctt aacagtacat agtacataaa gccatttacc
 301 gtacatagca cattacagtc aaatcccttc tctcccccac ggatgacccc cctcagatag
 361 ggggtcccttg accaccatcc tccgtgaaat caatatcccg cacaagagtg ctactctctc
 421 cgctccgggc ccataaacct tgggggtagc taaagtgaac tgtatccgac atctggttcc
 481 tacttcaggg tcataaagcc taaatagccc acacgttccc cttaataag acatcacgat
 541 ggatcacagc tctatcacc tattaaccac tcacggggagc tctccatgca ttgtgtattt
 601 tctgtctggg ggtgtgcacg cgatagcatt gcgagacgct ggagccggag caccctatgt
 661 cgcagtatct gtctttgatt cctgcctcat tctattattt atcgcaccta cgttcaatat
 721 tacaggcgaa cataactaca agtgtgttaa ttaattaatg cttgtaggac ataataata
 781 tggatgtctg cacagcgctt tccacacag
 //

Gambar 3.3. Informasi lengkap Sampel. tampilan yang muncul pada saat *link GenBank* dibuka

Data yang muncul dari mesin pencari selanjutnya dipilih untuk mendapatkan data yang sesuai, berupa urutan nukleotida daerah mtDNA dari populasi yang diinginkan. Urutan nukleotida diunduh dengan cara membuka link FASTA (ditunjukkan dengan marker hijau pada Gambar 3.3). Hasil yang diperoleh berupa urutan nukleotida dari satu kode akses (Gambar 3.4).

[Display Settings:](#) FASTA

Homo sapiens isolate TNB D-loop, partial sequence; mitochondrial

GenBank: HQ286964.1

[GenBank](#) [Graphics](#)

```
>gi|311223944|gb|HQ286964.1| Homo sapiens isolate TNB D-loop, partial sequence;
mitochondrial
TATGGGAAAAGCAGATTGGGTACCACCCAAGTATTGACTCACCCATCAACAACCGCTATGTATTTGTA
CATTACTGCCAGCCACCATGAATATTGTACAGTACCATAAATACTTGACCACCTGTAGTACATAAAAAACC
CAATCCACATCAAACCCCCCTCATGCTTACAAGCAAGTACAGCAATCAACCTTCAACTATCACACAT
CAACTGCAACTCCAAAGCCACCCCTCACCCACTAGGATACCAACAAACCTACCCACCCCTAACAGTACAT
AGTACATAAAGCCATTACCGTACATAGCACATTACAGTCAAATCCCTTCTCGTCCCCATGGATGACCCC
CCTCAGATAGGGTCCCTTGACCACCATCCTCGTGAAATCAATATCCCGCACAAGAGTGCTACTCTCCT
CGCTCCGGGCCATAACACTTGGGGTAGCTAAAGTGAAGTGTATCCGACATCTGGTTCCTACTTCAGGG
TCATAAAGCCTAAATAGCCACACGTTCCCTTAAATAAGACATCACGATGGATCACAGGTCTATCACCC
TATTAACCACTCACGGGAGCTCTCCATGCATTGGTATTTTCGTCTGGGGGTGTGCACGCGATAGCATT
GCGAGACGCTGGAGCCGGAGCACCCCTATGTCGAGTATCTGTCTTTGATTCTGCTCATTCTATTATT
ATCGCACCTACGTTCAATATTACAGGCGAACATACTTACAAGTGTGTTAATTAATTAATGCTTGTAGGAC
ATAATATACATGGATGTCTGCACAGCGCTTCCACACAG
```

Gambar 3.4. Contoh Data Urutan Nukleotida dari Sampel HQ286964.

Data urutan nukleotida kemudian disalin ke dalam program EditSeq, selanjutnya dilakukan proses pemotongan urutan nukleotida sehingga diperoleh urutan HVI mtDNA. Urutan mtDNA kemudian disimpan dalam ekstensi .seq untuk digunakan pada tahap analisis lebih lanjut. Hal yang serupa dilakukan pada sampel yang diperoleh dari hasil penelitian tim mtDNA kimia UPI.

3.4.2. Perbandingan data Urutan Nukleotida dengan rCRS

Tahapan penelitian selanjutnya adalah membandingkan urutan HVI mtDNA yang telah disimpan dalam ekstensi .seq dengan rCRS. Proses analisis dilakukan dengan cara *line alignment* menggunakan program SeqMan™ versi 4.00 DNASTAR. Program secara otomatis menandai basa yang berbeda dengan basa standar rCRS dengan warna merah.

3.4.3. Perbandingan Mutasi Sampel dengan Marker Genetik yang telah dipublikasi

Jenis-posisi mutasi sampel yang diperoleh dari proses *alignment* selanjutnya dibandingkan dengan marker genetik yang telah dipublikasi pada situs Mitomap (mitomap.org). Apabila mutasi pada sampel merupakan mutasi yang baru, maka mutasi tersebut dapat diduga sebagai kandidat marker genetik untuk daerah Indonesia. Di sisi lain, jika jenis-posisi mutasi sudah terdaftar pada mitomap, maka dilakukan penelusuran lebih lanjut untuk mengetahui keberadaannya pada populasi atau penyakit tertentu.

