

AMPLIFIKASI PCR KROMOSOM Y DARI BEBERAPA SUKU DI PAPUA DENGAN PENANDA MOLEKUR PRIMER M9G

¹Yulindra M. Numberi, ²Ferry F. Karwur, ³Jhubar C. Mangimbulude

^{1,2,3}Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Jl. di Ponegoro 52-60,
Salatiga - Jawa Tengah
Email: ulhin_ay@yahoo.co.id

Abstrak. Papua merupakan salah satu pulau yang terbesar di Indonesia dengan berbagai keragaman suku, bahasa dan budaya. Akan sangat menarik untuk mengkaji kembali mengenai keanekaragaman itu semua dengan penanda molekuler yang ada berupa DNA kromosom Y. Metode yang digunakan adalah dengan amplifikasi PCR untuk melihat target fragment yang diinginkan dengan menggunakan penanda (marker) M9 yang merupakan marker umum yang hampir ada di seluruh dunia termasuk di Papua yang termasuk dalam golongan ras Melanesia. DNA kromosom Y dari beberapa suku besar yang ada di Papua bersifat polimorfik dengan hasil panjang fragment target yang sama, walaupun adanya perbedaan suhu dalam mencapai target yang diinginkan sesuai dengan primer yang digunakan.

Kata kunci : Papua, penanda molekuler, Kromosom Y, Primer M9G, PCR

1. Pendahuluan

Di dataran tinggi pulau Papua terdapat sekitar 1000 bahasa, atau seperenam jumlah bahasa yang ditemukan di dunia, sehingga merupakan daerah dengan tingkat kekayaan bahasa tertinggi di dunia. Penggunaannya terkadang hanya puluhan atau ratusan orang saja (Koentjaningrat, 1971). Di daerah ini juga ditemukan puluhan bahasa lokal yang benar-benar asli dan tidak ada hubungannya dengan bahasa di bagian lain dunia ini.

Provinsi Papua dengan luas 421.981 km², terletak diantara 130°-141° Bujur Timur dan 2,25° Lintang Utara - 9° Lintang Selatan. Letak pulau ini adalah di ujung timur Indonesia dan pulau ini dihuni oleh penduduk asli dari ras Melanesia, dengan ciri-ciri fisik : berkulit hitam (coklat kopi) dan berambut keriting (ikal) serta rata-rata berperawakan besar (Wallace, 2000). Papua dipandang sebagai suatu kelangsungan dari benua Australia yang letaknya di zona tropika atas dasar topografi, alam tumbuh-tumbuhan dan hewannya.

Pada tahun 1528, gubernur pertama Portugis di Maluku Jorge de Meneses mengunjungi pulau waigeo dan mendapati penduduk yang berkulit hitam dan berambut keriting, maka dia menyebut mereka sebagai orang Papua, sedangkan wilayahnya disebut *Ilhas Dos Papua* (pulau Papua) (Tim Peneliti LIPI, 2001). Hasil pendataan Badan Pusat Statistik Papua tahun 2000 menyebutkan, ada 250 bahasa yang diujar dan 312 suku di Papua dengan suku terkecil disebut Nalka berada di Jayawijaya, yang anggotanya 13

orang, dan suku terbesar adalah Biak Numfor dengan jumlah anggota 148.104 jiwa. Dari 312 suku ini terdapat sekitar 40 suku yang termasuk paling terisolasi. Mereka tidak tahu masuk dalam distrik atau kabupaten mana karena pemerintah daerah sendiri belum pernah sampai ke daerah itu.

Dalam laporan perdana Bank Dunia/UNDP (1987), Walker dan Mansoben (1990) mencatat bahwa keanekaragaman orang Papua (sebelumnya disebut orang Irian) di Papua bertalian erat dengan pola-pola adaptasi sosial-ekonomi penduduk pada zona-zona ekologi utama yang ada. Propinsi Papua termasuk Irian Jaya barat secara geografis terdiri dari tiga jenis daerah, yaitu daerah pegunungan tengah, daerah dataran panatai di sebelah selatan dan daerah kaki gunung di sebelah utara (Mansoben, 1995).

Penggunaan penanda hayati dalam mempelajari asal-usul dan keanekaragaman manusia (termasuk kebudayaan) telah dieksploitasi sejak awal berdirinya antropologi. Landsteiner (1901) berhasil membangun penggolongan darah sistem ABO yang menjadi dasar-dasar dalam transfusi darah dan sebagai penanda genetik. Sebagai penanda genetik, sistem ABO telah dieksploitasi secara ekstensif untuk mempelajari struktur genetik populasi manusia dalam studi-studi antropologi hayati masyarakat-masyarakat suku (Harisson, 1977).

Dengan demikian dari keterangan serta hasil-hasil penelitian dan juga sejarah kebudayaan yang menjadi penanda (marker) maka akan sangat menarik untuk dapat menelusuri kembali sejarah peradaban masyarakat Papua berdasarkan dengan penanda (marker) yang sudah ada.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang bertujuan untuk menelusuri kembali sejarah peradaban masyarakat Papua dengan penanda molekuler berupa DNA dengan metode PCR. Untuk menghindari penafsiran yang berbeda maka dilakukan pembatasan berupa objek penelitian berupa penanda molekuler yang berasal dari DNA darah manusia, suku-suku yang diambil sampelnya hanya tujuh suku besar di Papua, Metode yang digunakan adalah dengan PCR.

2. Metodologi Penelitian

Sampel yang digunakan untuk penelitian adalah DNA dari darah manusia yang diperoleh dari tujuh orang mahasiswa yang telah bersedia di ambil darahnya. Darah yang telah diambil disimpan dalam tabung vacuttener yang berisi zat antikoagulan *Ethylene Diamin Tetra acetic Acid* (EDTA). Sampel-sampel darah diberi kode dengan penomoran 1-7. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah : larutan buffer, proteinase K, larutan SDS 10%, NaCl, ethanol, TE, dan akuades. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain PCR dan alat Elektroforesis.

Tabel 1. Keterangan sampel dan asal suku

Kode sampel	Keterangan suku
1	Ayamuru (sorong)
2	Danny (Wamena)
3	Yally (Wamena)
4	Mapi (Merauke)
5	Paniai (Nabire)
6	Yapen (Serui)
7	Biak (Biak)

DNA diisolasi dari 1,5 ml darah yang berasal dari pembuluh vena. Dari 7 orang dengan asal suku yang berbeda-beda. Selanjutnya DNA hasil isolasi diamplifikasi menggunakan metode PCR. Metode ini dilakukan dua kali dengan suhu dan link yang berbeda. Sampel 1-3 pada suhu 55°C dengan link 33 dan sampel 4-7 pada suhu 50°C dengan link 47. Untuk sampel 1-3 pada suhu 55°C, diprogram pada link 33 yang terdiri dari proses denaturasi pada 95°C selama 5 menit, kemudian 35 siklus (*annealing* pada 55°C selama 1 menit, *extension* pada 72°C selama 1 menit dan denaturasi kembali pada 95°C selama 5 menit) dan 72°C selama 5 menit. Sedangkan untuk sampel 4-7 pada suhu 50°C diprogram pada link 47 yang terdiri dari proses denaturasi pada suhu 95°C selama 5 menit, kemudian 35 siklus (*annealing* pada 50°C selama 1 menit, *extension* pada 72°C selama 1 menit dan denaturasi kembali pada suhu 95°C selama 1 menit) dan 72°C selama 5 menit. Primer yang digunakan untuk PCR adalah primer M9G (5'-GCAGCATATAAACTTTCAGG-3') (Kayser et al, 2000). Campuran bahan-bahan yang digunakan yaitu H₂O.RNase (20 µl), primer M9G (2 µl), DNA template pengenceran 50x (sesuai konsentrasi masing-masing sampel) sehingga total volume 25 µl. Bahan-bahan tersebut dicampur dalam tabung PCR 0,2 ml. Visualisasi produk PCR ini dilakukan melalui elektroforesis dengan cara memasukkan 7,5 µl produk PCR yang ditambahkan dengan 2 µl *loading buffer* (buffer warna) ke dalam sumur gel agarose 2%. Setelah proses elektroforesis, pita hasil PCR dapat dilihat dengan alat UV transluminator.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Analisis dan Penentuan Konsentrasi DNA

Analisis penentuan konsentrasi dengan menggunakan spektro dilakukan pada panjang gelombang 260-280 nm, dengan mengambil 20 µl sampel DNA. Hasil dari spektro ini dapat dilihat pada tabel 2 :

Tabel 2. Hasil spektrofotometer DNA sampel

Sampel	WL 260	WL 280
1	0,130	0,088
2	0,187	0,123
3	0,134	0,095
4	0,244	0,160
5	0,150	0,105
6	0,126	0,098
7	0,107	0,081

Dari hasil spektro ini, maka dapat dihitung konsentrasi masing-masing sampel untuk dapat digunakan pada analisis selanjutnya. Perhitungan konsentrasi DNA dihitung dengan rumus :

$$A_{260} \times \text{faktor pengenceran} \times 50$$

Faktor pengenceran DNA sampel adalah 50x (dari master larutan), sehingga dapat dihitung konsentrasi masing-masing sampel DNA tersebut. Berikut adalah hasil perhitungan konsentrasi DNA dari masing-masing sampel:

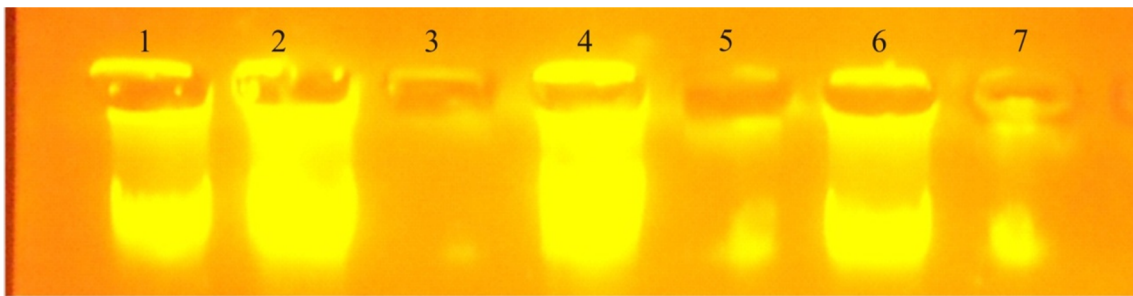
Tabel 3. Hasil perhitungan konsentrasi sampel DNA

Sampel	Konsentrasi DNA (µl)
1	3,0
2	2,1
3	2,9
4	1,6
5	2,6
6	3,1
7	3,7

Dari hasil perhitungan konsentrasi sampel di atas maka dapat dilakukan identifikasi selanjutnya yaitu dengan metode PCR dengan menggunakan konsentrasi dari masing-masing sampel.

3.2 Elektroforesis

Elektroforesis adalah suatu teknik pemisahan molekul seluler berdasarkan atas ukurannya, dengan menggunakan medan listrik yang dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan. Untuk identifikasi selanjutnya adalah dengan metode elektroforesis, pada metode ini diambil 10 μ l dari masing-masing sampel DNA dan masing-masing sampel ditambahkan 2 μ l *loading buffer*. Hasil elektroforesis murni sebelum di PCR dapat dilihat pada gambar 1.

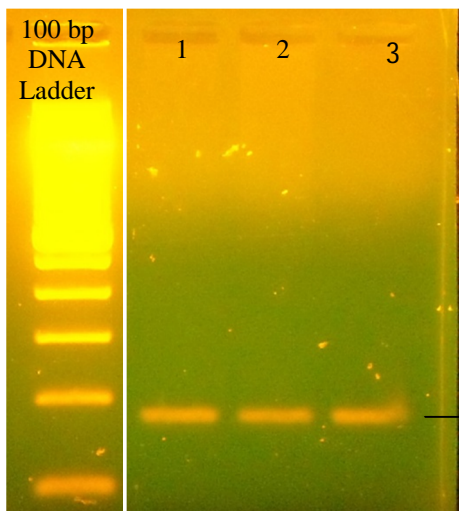


Gambar 1. Hasil elektroforesis sebelum PCR

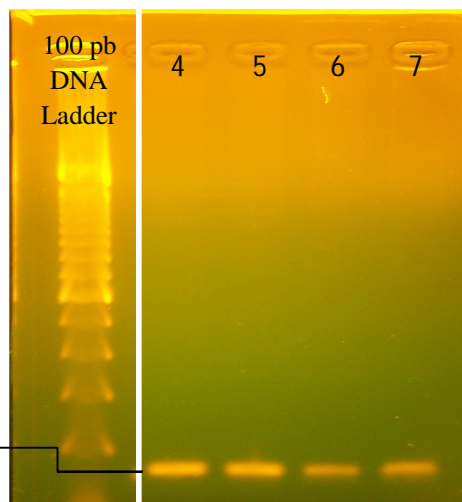
Elektroforesis sebelum PCR ini bertujuan untuk melihat apakah fragmen sampel DNA hasil isolasi dapat di running dengan baik atau tidak, hal ini akan terlihat dari pita-pita yang terbentuk seperti pada gambar 1. Dari hasil elektroforesis ini, maka dapat dipastikan hasil dari isolasi sampel DNA dapat diidentifikasi selanjutnya dengan PCR.

3.2 PCR (*polymerase chain reaction*)

PCR merupakan suatu metode untuk membuat salinan segmen spesifik dari suatu DNA dengan menggunakan sepasang primer spesifik yang membatasi fragment DNA tertentu. Produk akhir PCR divisualisasikan dengan elektroforesis. Tujuan dari metode PCR ini adalah untuk memperoleh target dan melihat apakah sampel dari beberapa suku besar yang ada di Papua ini bersifat polimorfik atau tidak. Pada penelitian ini dilakukan variasi pengenceran (master larutan) dibandingkan dengan 50x pengenceran. Elektroforesis hasil PCR pada gambar 4 menunjukkan hasil positif dengan terdapatnya berkas DNA dengan panjang basa yang sekitar 180 bp dengan marker DNA (100 bp DNA Ladder). Pada gambar hasil visualisasi produk akhir PCR DNA sampel yang diberi kode dengan penomoran, menunjukkan hasil yang positif karena terbentuk berkas DNA atau pita-pita (band) DNA.

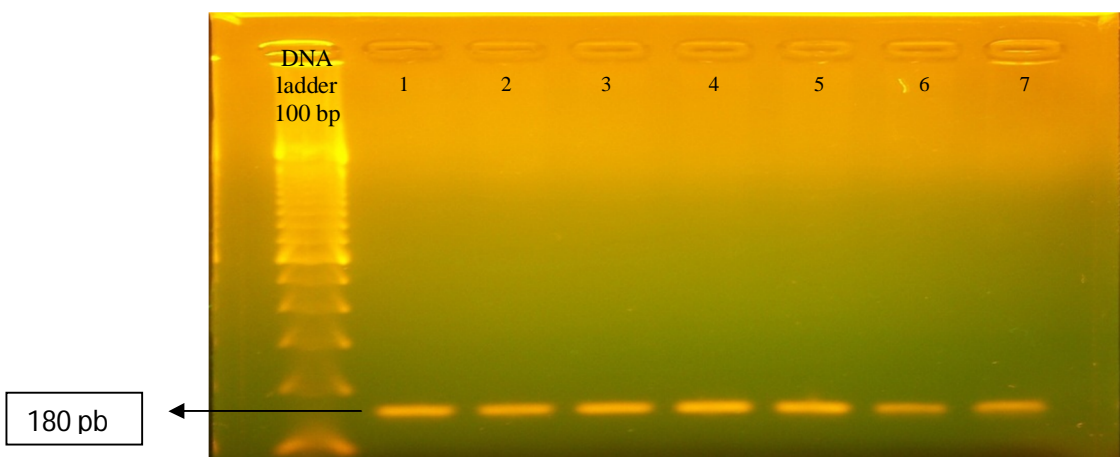


Gambar 2. Hasil PCR pada suhu 55°C di program pada link 33



Gambar 3. Hasil PCR pada suhu 50°C di program pada link 47

Pada gambar 2 dan 3 menunjukkan bahwa adanya perbedaan suhu pada saat amplifikasi dengan metode PCR. Dari hasil PCR pada gambar 2 menunjukkan sampel 1-3 yang terdiri dari suku Ayamaru (Sorong), Danny (Wamena), dan suku Yally (Wamena) yang di PCR pada suhu 55°C dengan diprogram pada link 33, sedangkan pada gambar 3 menunjukkan sampel 4-7 yang terdiri dari suku Mapi (Merauke), Paniai (Nabire), Yapen (Serui), Biak (Biak) di PCR pada suhu 50°C dan diprogram pada link 47. Perbedaan suhu diakibatkan adanya target yang berbeda-beda, terutama pada target primer yang digunakan. Dengan demikian pada penelitian ini dilakukan 2 kali proses PCR kemudian dari hasil itu baru divisualisasi dengan elektroforesis. Seperti yang ditunjukkan pada gambar 4 :



Gambar 4. Hasil elektroforesis setelah PCR

Berdasarkan gambar 4, maka dapat dilihat meskipun adanya perbedaan suhu dari sampel-sampel di atas tapi pada saat di elektroforesis secara bersamaan dengan marker DNA 100 bp, maka terlihat jelas bahwa DNA sampel ini merupakan DNA polimorfik karena tidak terjadi perbedaan panjang target seperti yang terlihat pada hasil elektroforesis, semua sampel dari 1-7 yang terdiri dari suku-suku berbeda menunjukkan panjang target yang sama yaitu pada 180 bp. Hal ini didukung juga dengan penggunaan primer yang tepat, primer yang digunakan adalah M9G. Marker M9G ini hampir ada di semua dunia kecuali di Afrika, primer ini juga merupakan leluhur umum dari mayoritas non-Afrika (Underhill et al 1997, 2000).

Suatu keuntungan dari marker kromosom Y dibandingkan dengan jika menggunakan mtDNA adalah bahwa kromosom Y bersifat polimorfisme sehingga dapat lebih baik untuk menunjukkan kekhususan suatu penduduk dan dapat menjadi lebih informatif untuk melacak suatu hubungan populasi.

4. Kesimpulan dan Saran

Dari hasil penelitian maka dapat disimpulkan, DNA kromosom dari masing-masing sampel suku dari hasil PCR menunjukkan bahwa sampel DNA bersifat polimorfik yang ditunjukkan dengan panjang target (bp) yang sama pada sekitar 180 bp. Sampel DNA memiliki perlakuan suhu yang berbeda-beda meskipun pada visualisasi akhirnya menunjukkan polimorfik.

Untuk mengidentifikasi selanjutnya sebaiknya dilakukan lagi dengan metode sekuensing untuk dapat memperoleh informasi lebih banyak dan juga dapat menentukan banyak hal dan informasi genetik yang lebih banyak.

5. Daftar Pustaka

- Diamond and Bellwood P, 2003. Farmers and Their Languages: The first Expansions. *Science* 300:597-603.
- Harrison GA, 1977 (Editor). *Population Structure and Human Variation*. Cambridge Univ. Press. London, 342p.
- Karwur, Ferry, 2009. Antropologi Molekuler Sains dan Masyarakat dalam *Majalah Bios* vol.4 no.2 oktober 2009, hal.11.
- Kayser M, Brauer S, Weiss G, Underhill PA, Roewer L, Schiefenhover W, Stoneking M (2000) melanesian origin of Polynesian Y chromosomes. *Curr Biol* 10:1237-1246.
- Koentjaraningrat, 1971. *Kebudayaan penduduk Pantai utara Irian Jaya*. Dalam: Koentjaraningrat, "Manusia dan Kebudayaan di Indonesia". Penerbit Djambatan Jakarta, hal.69-93.
- Landsteiner, K, 1901. Ueber Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wien. Klin. Wochenschr.* **14**: 1132–1134 [Translation: On agglutination phenomena of normal human blood, in S. H. BOYER (Editor), 1963, *Papers on Human Genetics*, pp. 27–31. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.]
- Mansoben, J.R. 1995 ; *Sistem Politik Tradisional di Irian Jaya*. Jakarta-Leiden: LIPI-Rijksuniversiteit Leiden.
- Morgan, T. H. 1910. Sex-limited inheritance in *Drosophila*, *Science*, 32: 120-122.

- Mourant AE, 1977. The Genetic markers of the blood. In: Harisson GA, 1977 (Editor). Population Structure Human Variation. Cambrige Univ. Press. London,342p.
- Pawley A.K. (1998). In Perpective on Bird's Head of Irian Jaya, Indonesia. Dalam: J. Miedema, C. Ode, R. Dam, (Eds). Rodopi, Amsterdam, 1998. P684.
- Underhill PA, et all. 2000. Y chromosome sequence variation and the history of human population. Nat Genet 26:358-361.
- Walker, M & Johz Mansoben. 1990. *Papua Cultures; An Overview*, Buletin Of Papua, 18:1-16.
- Watson, J. D., & Crick, F. H. C. 1953. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* **171**, 737–738.
- Yuwono, Triwibowo. 2005. Biologi molekuler. Erlangga. Jakarta.