

RAGAM ALEL DAN KEKUATAN PEMBEDA LIMA LOKUS MIKROSATELIT DNA AUTOSOM MASYARAKAT SUKU BATAK DI DENPASAR DAN BADUNG

I Ketut Junitha¹⁾ dan Yossy Carolina²⁾

¹⁾ Staf Laboratorium DNA Forensik , UPT Forensik Universitas Udayana

²⁾ Alumni Program Studi Biologi F MIPA Universitas Udayana

Jalan Raya Kampus Bukit Jimbaran, Kuta, Badung, 80361

juneth@unud.ac.id

Abstract

Five loci of microsatellites DNA autosomal that is: D2S1338, D13S317, D16S539, D18S351, and D19S433 used to determination kind of allele and power of discrimination each locus of Batak ethnic in Denpasar and Badung. DNA sample were amplified used five pairs of primer D2S1338, D13S317, D16S539, D18S351, and D19S433 loci in PCR machine used PCR mix Invitrogen with annealing temperature range of 48-56°C. The result of this research was found 54 alleles. The most allele was found on D2S1338 locus, 13 alleles followed by D18S351, 12 alleles, D13S317 and D19S433 locus each 10 alleles and the least one is 8 allele on D16S539 locus. The highest of power of discrimination that is 0,984 D2S1338 locus followed by D18S351, D19S433, D16S539 and of D13S317 0,973, 0,956, 0,949, and 0,947 respectively. The five loci in this studied had many kind of alleles and high degree of power discrimination value so that loci is useful to forensic purpose for Batak society in Bali.

Key word: microsatellite, DNA autosomal, allele, power of discrimination, forensic.

PENDAHULUAN

Negara Kesatuan Republik Indonesia (NKRI) terbentuk dari berbagai suku bangsa (etnik) dengan budaya yang sangat bervariasi. Keanekaragaman budaya masing-masing etnik yang ada di Indonesia tidak terlepas dari sejarah hunian nusantara. Berdasarkan sejarahnya awalnya kepulauan Nusantara ini termasuk pulau Bali dihuni oleh masyarakat pemburu [1]. Ras Austronesia yang datang dari Cina Selatan dalam dua gelombang yaitu proto Melayu pada kurun waktu 2000 tahun sebelum Masehi dan selanjutnya deuterio Melayu pada awal Masehi. Masyarakat etnik Batak, Dayak dan Toraja termasuk proto melayu sedangkan ,masyarakat etnik Sunda, Jawa dan Bali termasuk deuterio Melayu [2]. Perbedaan asal muasal tentunya membawa budaya dan genetik yang berbeda. Perbedaan Budaya maupun genetik yang dibawa masing-masing kelompok masyarakat menyebabkan terbentuknya keunikan budaya maupun genetik masyarakat Indonesia sekarang ini. Campuran genetik dari berbagai belahan dunia pada masyarakat Indonesia akan membentuk struktur genetik tertentu di masing-masing daerah di Indonesia. Seperti Masyarakat Bali sekarang ini terbentuk melalui percampuran orang – orang dari asal yang berbeda dimana pada orang Bali terdapat sebanyak 83,7% membawa gen Austronesia,

12% membawa gen India dan hanya 2,2 % masih membawa gen masyarakat pra neolitikum [3].

Keunikan budaya suku-suku bangsa (etnik) di Indonesia menjadi daya tarik pariwisata masing-masing daerah termasuk Bali. Pulau Bali merupakan tujuan wisata utama dunia dimana kota Denpasar dan kabupaten Badung merupakan dua daerah yang pariwisatanya sangat berkembang. Perkembangan pariwisata ini menarik banyak orang dari luar Bali baik dari manca negara maupun dari dalam negeri datang untuk tujuan berwisata maupun untuk berbisnis dari kegiatan wisata. Kedatangan mereka ke Bali baik untuk tujuan wisata maupun bisnis bila menjadi korban kecelakaan atau tindak pidana ketika kartu identitasnya tidak lagi melekat padanya akan cenderung menjadi MR/MRS X. Di RS sanglah terdapat beberapa jenazah yang tidak diketahui identitasnya baik berciri warga Negara asing (WNA) maupun warga Negara Indonesia [4]. Untuk lebih memudahkan melakukan penelusuran identitas korban demikian maka diperlukan adanya database DNA etnik-etnik yang ada di Bali melalui penelitian penentuan ragam alel pada etnik-etnik yang ada di Bali.

DNA mikrosatelit merupakan penanda genetik yang digunakan untuk analisis forensik untuk menyelesaikan persoalan di masyarakat seperti paternitas (ragu ayah), bayi tertukar, identifikasi pelaku perkosaan, korban bencana tanah longsor,

musibah kebakaran dll [5]. Penelitian menggunakan penanda DNA mikrosatelit kromosom Y pada laki-laki masyarakat Bali untuk database klan-klan Masyarakat Bali menggunakan empat lokus yaitu DYS19, DYS390, DYS393 dan DYS395 telah dilakukan [6],[7],[8]. Penelitian menggunakan penanda DNA mikrosatelit autosom dilakukan pada masyarakat Bali Mula Sembiran kecamatan Tejakula Buleleng pada delapan lokus yaitu D2S1338, D3S1358, D5S818, D7S820, D11S1984, D13S317, D16S539 dan D21S11 mendapatkan 48 alel dengan rata-rata kekuatan pembeda sebesar 0,76 [9]. Struktur genetik dan mutasi DNA mikrosatelit lima lokus (D2S1338, D16S539, D18S51, FGA dan TIPOX) tiga generasi masyarakat Bali mendapatkan sebanyak 30 ragam alel dengan kekuatan pembeda tinggi [10]. Dengan kecepatan mutasi relative tinggi maka penanda DNA mikrosatelit sangat cocok digunakan untuk membedakan antar populasi maupun individu untuk kepentingan forensik [11], [12], [13]. Untuk kepentingan analisis DNA seperti pada kasus paternitas data frekuensi alel masing-masing populasi atau masyarakat sangat diperlukan karena indeks paternitas dan kekuatan pembeda (*power of discrimination*) bisa dihitung hanya bila tersedia data frekuensi alel masing-masing lokus yang digunakan dalam analisis DNA pada populasi setempat. Masing-masing populasi menggunakan lokus yang berbeda disesuaikan dengan lokus-lokus yang memberikan ragam alel yang lebih banyak dan nilai pembeda yang tinggi [14].

Etnik Batak merupakan salah satu etnik dari suku bangsa di Indonesia yang berkembang di wilayah Sumatera Utara yang secara mitologi merupakan keturunan dari Si Raja Batak [15]. Dengan berbagai profesinya kemudian mereka tersebar hampir ke seluruh wilayah Indonesia termasuk Bali khususnya Kota Denpasar dan kabupaten Badung. Masyarakat etnik Batak yang ada di kota Denpasar maupun Kabupaten Badung mungkin langsung datang dari Sumatera Utara sebagai tempat perkembangan awal maupun dari wilayah lainnya di Indonesia yang mungkin membawa mutan gen penanda yang telah bermutasi maupun campuran dari etnik lain di tempat mereka berinteraksi. Oleh karena itu masyarakat etnik Batak di Bali khususnya kota Denpasar dan kabupaten Badung memiliki struktur genetik khas. Dengan latar belakang di atas maka perlu dilakuksn

penelitian untuk mengetahui ragam alel dan truktur genetik masyarakat etnik Batak di Bali khususnya di Kota Denpasar dan Kabupaten Badung dalam usaha pembuatan database DNA penduduk Bali untuk kepentingan forensik.

Metoda Penelitian

Sebelum dilakukan pengambilan sampel sel epitel atau darah kepada calon probandus dijelaskan terlebih dahulu tujuan penelitian dan manfaat penelitian baik bagi kepentingan ilmu, masyarakat luas maupun masyarakat yang bersangkutan serta teknik pengambilan sampel sel yang akan dilakukan (*informed consent*). Kalau mereka bersedia secara sukarela menjadi probandus dilanjutkan dengan wawancara pengisian data diri probandus maupun ayah ibu dan kakek nenek baik dari garis keturunan ayah maupun ibu. Dilanjutkan dengan pengambilan sampel sel menggunakan *cotton bud* steril. Sampel sel dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi volume 1,5 ml yang telah diisi dengan 0,5 ml buffer pelisis DPZ. Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode fenol chloroform presipitasi alcohol [16] dengan modifikasi (tanpa proteinase K dan tanpa inkubasi 55°C selama 2 jam). Sampel DNA diamplifikasi pada mesin PCR menggunakan lima pasang primer yaitu D2S1338, D13S317, D16S539, D18S351, dan D19S433 dengan PCRMix Invitrogen suhu annealing 50-54°C 30 sebanyak siklus. Aplikon dielektroforesis pada PAGE 6 % dan visualisassi DNA dengan pewarnaan perak nitrat [17]. Ragam atau ukuran alel ditentukan dengan memplot jarak migrasi pita-pita DNA amplikon sampel diplot pada kertas semilog [18]. Frekuensi alel dan keragaman dianalisis dengan program Arlequin versi 3.5 dan kekuatan pembeda (*PD*) dihitung sesuai rumus Butler [13] pada program Microsoft office Excell.

Hasil dan Pembahasan

Dari hasil amplifikasi diperoleh sampel yang teramplifikasi sebanyak 47-56 sampel berturut-turut dari yang paling banyak 56 sampel pada lokus D2S1338 diikuti oleh lokus D19S433 sebanyak 55 selanjutnya lokus D13S317, D18S315, dan D16S539 yang masing-masing secara berturut-turut sebagai berikut yaitu 49, 48 dan 47 sampel DNA. Dari jumlah sampel yang teramplifikasi pada ke lima lokus yang dianalisis secara keseluruhan diperoleh sebanyak 54

ragam alel seperti disajikan pada tabel 1. Ragam alel paling banyak diperoleh pada lokus D2S1338 yaitu sebanyak 14 yang diikuti oleh D18S351 sebanyak 12

ragam, lokus D13S317 dan D19S433 masing-masing 10 ragam serta yang paling sedikit sebanyak 8 ragam pada lokus D16S539.

Tabel 1. Ragam alel dalam jumlah basa dan frekuensinya.

No	Lokus D2S1338		Lokus D13S317		Lokus D16S539		Lokus D18S351		Lokus D19S433	
	Alel	Frek	Alel	Frek	Alel	Frek	Alel	Frek	Alel	Frek
	1	157	0,018	168	0,061	136	0,032	274	0,010	180
2	161	0,009	172	0,020	144	0,213	278	0,094	184	0,036
3	165	0,036	176	0,184	148	0,064	282	0,031	188	0,127
4	169	0,054	180	0,061	152	0,202	286	0,042	192	0,064
5	173	0,080	184	0,194	156	0,223	290	0,115	196	0,273
6	177	0,107	188	0,112	160	0,138	294	0,208	200	0,136
7	181	0,080	192	0,286	164	0,043	298	0,094	204	0,064
8	185	0,098	196	0,031	168	0,085	302	0,073	208	0,191
9	189	0,125	200	0,041			306	0,156	212	0,064
10	193	0,089	204	0,010			310	0,063	216	0,009
11	197	0,116					314	0,104		
12	201	0,116					318	0,010		
13	205	0,045								
14	209	0,027								
Ragam alel		14		10		8		12		10

Dari data pada tabel 1, semua lokus yang diteliti memiliki ragam alel yang tinggi 8-14 ragam sehingga dari segi banyaknya ragam alel dan frekuensi masing-masing alel pada semua lokus juga kecil-kecil. Banyaknya ragam alel dan meratanya frekuensi masing-masing alel pada setiap lokus akan berpengaruh pada nilai keragaman genetik (*h*) maupun nilai pembedanya (*PD*). Kisaran panjang alel pada masing-masing lokus pada masyarakat etnik Batak di Bali mirip dengan kisaran panjang alel pada masyarakat etnik Dayak [19] maupun etnik Bali [9], [20]. Hal ini menunjukkan bahwa alel-alel sama masing-masing lokus tersebar pada masyarakat etnik Batak dan Dayak dari keturunan proto melayu dan Etnik Bali dari keturunan deuteron melayu [2]. Namun berdasarkan frekuensi alel masing-masing lokus tampak ada perbedaan. Untuk lokus D2S1338 pada masyarakat etnik Batak yang memiliki frekuensi tertinggi adalah alel 197pb dan 201pb sedangkan pada masyarakat etnik Dayak alel dengan frekuensi tertinggi terdapat pada alel 193pb dan 173pb demikian juga pada masyarakat Bali Mula Sembiran alel tertinggi adalah alel dengan ukuran panjang 173pb dan 185pb [9]. Demikian juga pada etnik Bali lainnya hasil penelitian laksmi [20] yang

menemukan alel 185pb merupakan alel dengan frekuensi tertinggi.

Pada lokus D16S539 antara masyarakat etnik Batak dan Dayak alel yang memiliki frekuensi tinggi terdapat pada alel dengan panjang berkisar antara 144-156pb berbeda dengan etnik Bali, alel dengan frekuensi tinggi terdapat pada alel dengan ukuran panjang basa antara 152 -161pb. Untuk Lokus D13S317 walupun kisaran panjang alel antara etnik Batak dan Dayak mirip dari 160-204pb, tetapi terdapat perbedaan pada frekuensi alel tertinggi. Pada masyarakat etnik Batak frekuensi alel tertinggi ditemukan pada alel 192pb sedangkan pada masyarakat etnik Dayak alel tertinggi frekuensinya pada alel berukuran 176pb demikian juga pada etnik Bali [19], [9].

Keragaman (*h*) genetika dan kekuatan pembeda (*PD*) semua lokus pada penelitian ini sangat tinggi rata-rata 0,964 dan 0,963. Hal ini menunjukkan bahwa ke lima lokus mikrosatelit yang diteliti sangat baik digunakan untuk analisis DNA untuk kepentingan paternitas. Nilai kekuatan pembeda (*PD*) tinggi untuk lokus D2S1338, D13S317 dan D16S539 juga ditemukan pada masyarakat etnik Dayak rata-rata di atas 0,9. Nilai kekuatan pembeda ditentukan oleh banyaknya ragam alel dan pemerataan frekuensinya

pada masing-masing lokus. Makin banyak ragam alel dan semakin merata frekuensinya akan meningkatkan nilai pembeda masing-masing lokus dan oleh karenanya semakin baik digunakan dalam analisis DNA untuk kepentingan forensik. Penggunaan lokus-lokus dengan nilai pembeda tinggi dalam analisis DNA akan memperkecil peluang dua individu (orang) yang tidak berhubungan keluarga memiliki profil DNA yang sama dalam satu populasi. Negara Kesatuan Republik Indonesia (NKRI) adalah

Negara yang tersusun oleh berbagai suku-bangsa (etnik) yang berasal dari nenek moyang yang berbeda-beda oleh karena itu penelitian DNA mikrosatelit untuk kepentingan forensik sangat perlu dilakukan dalam rangka penyediaan database profil DNA masing-masing etnik yang ada. Lokus berbeda mungkin akan cocok untuk masing-masing masyarakat di Indonesia yang multi etnis sama halnya perbedaan lokus yang digunakan pada masyarakat Eropa dan Amerika [14].

Tabel 2. Keragaman (*h*) dan nilai kekuatan pembeda (*PD*)

Lokus	Keragaman (<i>h</i>)	Kekuatan pembeda (<i>PD</i>)
D2S1338	0,916 ± 0,054	0,984
D13S317	0,832 ± 0,060	0,947
D16S539	0,839 ± 0,078	0,949
D18S351	0,887 ± 0,067	0,973
D19S433	0,847 ± 0,070	0,956
Rata-rata	0,864 ± 0,055	0,963

Kesimpulan:

Kelima lokus yaitu D2S1338, D13S317, D16S539, D18S351 dan D19S433 sangat baik digunakan untuk analisis DNA pada masyarakat etnik Batak di Bali.

Ucapan Terimakasih:

Dengan ini kami menyampaikan terimakasih kepada seluruh masyarakat etnik Batak di Kota Denpasar dan Badung khususnya probandus yang telah bersedia membantu penelitian ini, semoga kerelaannya bermanfaat bagi kita semua.

Daftar Pustaka:

- [1] Sutaba, I M. 1980. Prasejarah Bali. B.U. Yayasan Purbakala Bali. Denpasar
- [2] Bellwood, P. 2000. Prasejarah Kepulauan Indo Malaysia. PT. Gramedia Sarana Utama Jakarta.
- [3] Karafet, T.M., J.S. Lansing, A.J. Red, J.C. Watkin, S. P. K. Surata. W.A. Arthawiguna, L. Meyer, M. Bamshad, L.B. Jorde and M. F. Hammer. 2005. Balinese Y-chromosomal perspective on the Peopling of Indonesia: Genetic Contribution from Pre-Neolithic Hunter-Gatherer, Austronesia farmer, and India Trader. Human Biology, Februari, Vol.77(1):93-113 Jawa Post, Kamis 29 Januari 2016

- [4] Junitha, I K. 2012. Peranan Analisis DNA Dalam Penyelesaian Masalah di Masyarakat. Orasi Ilmiah, Pidato Pengukuhan Guru Besar Tetap dalam Bidang Biologi pada Fakultas MIPA, Universitas Udayana. Kamis 20 Desember 2012.
- [5] Junitha, I K., S.K. Sudirga dan M. S. Winaja. 2009. Variasi Genetik DNA Mikrosatelit Kromosom Y Soroh Pasek Kayu Selem di Bali. Berkala Penelitian Hayati. Edisi Khusus No 3A: 39-43
- [6] Junitha I K. dan B. Suryobroto. 2010. Hubungan Genetik Pria Masyarakat Sembiran dan Tri Wangsa di Bali. Biosfera 27(1): 1-8
- [7] Junitha I K. and N. L. Watiniasih. 2014. Male Genetic Diversity of Siwa Brahmin Clan in Bali based on y-chromosomal microsatellite DNA. JBAH 4(1):30-35.
- [8] Junitha I K. dan I. B. Alit. 2011. Ragam Alel Mikrosatelit DNA Autosom pada Masyarakat Bali Aga Desa Sembiran kabupaten Buleleng Bali. Biota. 16(1): 63-69.
- [9] Laksmi A. S., I K. Junitha dan N. L. Watiniasih. 2015. Struktur Genetik dan ragam Alel Tiga Generasi Masyarakat Bali Berdasarkan Lima Lokus Penanda DNA Mikrosatelit Autosom. Jurnal Metamorfosa. Vol II. No 2. 2015.

- [10] Bowcock A.M., A. Ruiz-Linares, J. Tomfohrde , E. Minch, Kidd Jr, & Cavalli-Sforza. 1984. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*, 368: 455-457.
- [11] Jin L., P.A. Hunderhill, M. Bacristiani and J.M. Robertson.1997. Defining Microsatellite Alleles by Genotyping Global Indigenous Human Population and Non Human Primates. *J. Forensic Sci.* 42(3):496-499.
- [12] Butler J.M. 2006. *Forensic DNA Typing : Biology, Technology and Genetic of STR*. Second edition. Elsevier Academic Press. New York. Shewale J. G. 2014. *Forensic DNA Analysis*, CRC Press. New York
- [13]Anonimus, 1984. *Ungkapan Tradisional Sebagai Informasi Kebudayaan Daerah Sumatera Barat*. Jakarta. Departemen pendidikan dan Kebudayaan.
- [14] Sambrook D. and D.W. Russel. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- [15] Tegelstorm, H. 1986. Mitochondria DNA in Natural Population: an improved routine for screening of genetic variation based on sensitive silver staining. *Electrophoresis* 7: 226-229.
- [16] Hutscinson F., 2001. DNA band size semi-log plotting, Cancer research center. Science Education Partnership. 06. 26.01
- [17] Junitha I K. dan L. E. Octavia. 2015. *Studi pendahuluan Variasi Genetik Masyarakat Dayak di Kota Palangkaraya Kalimantan Tengah Berdasarkan Enam Locus Mikrosatelit Autosom*. Prosiding Seminar Biosain2 , Jurusan Biologi F MIPA Unud , Gedung Agro Komplek, kampus Sudirman. Denpasar, 19-20 November 2015. ISBN: 978-602-294-093-7. Hal: 242-247
- [18] Laksmi A.S. 2015. *Keragaman Genetik dan Deteksi Mutasi Tiga Generasi Masyarakat Bali Berdasarkan penanda DNA Mikrosatelit Autosom*. Tesis Pasca Sarjana Unud (tidak dipublikasikan).