

PRAKTIKUM GENETIKA



SEMESTER GANJIL

biologi.fst.uinjambi 
Program Studi Biologi 

HALAMAN JUDUL

TIM PENYUSUN

Ketua : Hesti Riany, M.Si.
Anggota 1. Widia Bela Oktaviani, M.Biomed.

LEMBAR PENGESAHAN

Mata Kuliah : Genetika
Kode Mata Kuliah :
Program Studi : Biologi

Menyetujui:
Jambi, Agustus 2024
Ketua Prodi Biologi

Bayu Kurniawan, S.Si., M.Si.
NIP. 199008292019031012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Modul Praktikum Genetika ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan modul praktikum ini khususnya kepada Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sulthan Thaha Saifuddin Jambi yang telah bersedia memberikan kesempatan kepada tim penyusun modul hingga tersusun modul ini dengan baik. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ketua Program Studi Biologi yang telah membantu dan memberikan dukungannya. Penulis juga menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan modul ini baik dari segi kualitas isi, bahasa maupun tampilan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap modul pembelajaran ini bermanfaat untuk semua pihak.

Jambi, Agustus 2024
Penyusun

Hesti Riany, M.Si.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	1
LEMBAR PENGESAHAN.....	3
DAFTAR ISI	5
Tata Tertib Praktikum	6
Praktikum I. Genetika Mendel: Persilangan Monohibrid dan Dihibrid	8
Praktikum II. Konsep Probabilitas: Kuantifikasi F1, Fenotip dan nilai χ^2 filial <i>Drosophila melanogaster</i>	11
Praktikum III. Alel Ganda: Penentuan Golongan Darah dan Segmen Digitalis Tengah.....	13
Praktikum IV. Genetika populasi: Perhitungan Frekuensi Suatu Karakter dalam Populasi	16
Praktikum V. Materi Genetik: Pengamatan Gen Politen	20
Praktikum VI. DNA <i>Finger Print</i>	23
Praktikum VII. Deteksi Kelainan Genetik: Karyotipe.....	32

Tata Tertib Praktikum

1) KESELAMATAN (SAFETY)

Langkah dasar:

1. Pada saat memasuki ruangan letakkan tas, buku dan alat tulis pada tempat yang telah disediakan, tidak di atas meja praktikum;
2. Bersihkan meja praktikum dengan menggunakan desinfektan sebelum memulai dan sesudah praktikum;
3. Jangan letakkan komponen yang bisa mengontaminasi di atas meja kerja, gunakan alat-alat steril sebelum mulai bekerja dengan mikroba;
4. Setelah selesai praktikum jangan meninggalkan alat dan bahan apa pun di atas meja kerja, ikuti petunjuk dan instruksi asisten/dosen pembimbing.

Untuk mencegah kecelakaan yang tidak disengaja/infeksi

1. Cuci tangan dengan cairan pembersih, lalu semprot dengan alkohol 95%, keringkan dengan tisu sebelum dan saat akan meninggalkan laboratorium;
2. Selalu gunakan peralatan perlindungan:
 - a. Jas laboratorium dipakai sebelum memasuki ruangan dan dilepaskan setelah keluar dari laboratorium. Jas laboratorium dikancingkan seluruhnya sehingga menutupi pakaian dengan sempurna. Jas laboratorium dapat membantu mencegah kontaminasi dan tumpahan pewarna yang tidak disengaja;
 - b. Sarung tangan, sarung tangan akan melindungi tangan dari kontaminasi langsung mikroorganisme dan mencegah terpapar pewarna atau reagen lain;
 - c. Masker dan kacamata pelindung (*safety google*), untuk melindungi wajah dan mata;
3. Gunakan "*paper cap*" atau ikat rambut panjang untuk mencegah terbakar oleh api Bunsen kontaminasi;
4. Gunakan sepatu tertutup selama praktikum, kecuali pada ruangan steril maka gunakan alas kaki bersih;
5. Jangan menggunakan kosmetik atau kontak lens selama di laboratorium;
6. Tidak diperkenankan, merokok, makan dan minum di dalam laboratorium;
7. Dilarang membawa media, peralatan keluar dari laboratorium tanpa seizin asisten praktikum/dosen pembimbing;
8. Laporkan segera kecelakaan kerja pada saat praktikum kepada asisten/dosen pembimbing/laboran;
9. Gunakan peralatan laboratorium sesuai prosedur, dilarang menjilat label, mencium secara langsung dan mengicip bahan dan alat praktikum;
10. Matikan alat-alat listrik jika telah selesai digunakan, jangan meninggalkan alat listrik dalam keadaan hidup (on);
11. Bicaralah seperlunya dan hindari melakukan aktivitas yang tidak diperlukan untuk menghindari distraksi dan kecelakaan di laboratorium.

2) TATA TERTIB

1. Praktikan wajib hadir sesuai dengan jadwal praktikum;

2. Praktikan wajib berpakaian yang bersih, rapi dan sopan;
3. Praktikan wajib membawa alat dan bahan praktikum;
4. Praktikan wajib mempersiapkan materi/topik praktikum.
5. Praktikan wajib meminta izin kepada dosen/asisten apabila hendak keluar dari laboratorium.
6. Praktikan dilarang makan, minum dan merokok selama praktikum berlangsung.
7. Praktikan wajib membuang sampah pada tempat yang sudah disediakan.
8. Laporan harus dibawa saat masuk pada waktu praktikum sebagai syarat mengikuti praktikum.
9. Aturan dan tata tertib yang belum tercantum akan diputuskan kemudian.

3) PENYIAPAN ALAT DAN BAHAN

1. Penyiapan alat dan bahan merupakan tanggung jawab kelompok piket;
2. Setiap kelompok menyediakan buku peminjaman alat dan mengajukan peminjaman minimal 1 minggu sebelum praktikum;
3. Periksa peralatan yang dipinjam sebelum digunakan;
4. Peralatan dikembalikan dalam keadaan baik dan bersih;
5. Kerusakan atau kehilangan peralatan harus diganti dengan peralatan yang sama dan ditanggung oleh kelompok yang bersangkutan dengan 2 kali jumlah alat/bahan yang rusak;
6. Peralatan yang dipinjam diketahui oleh dosen/asisten laboratorium.

Praktikum I. Genetika Mendel: Persilangan Monohibrid dan Dihibrid

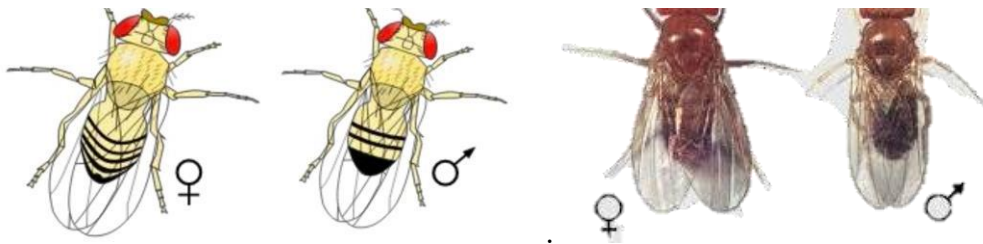
a. Tujuan

1. Mahasiswa mampu mengidentifikasi fenotip parental *Drosophila melanogaster*
2. Mahasiswa mampu membuat media perkembangbiakan dan memprediksi persilangan *Drosophila melanogaster*

b. Kajian Teori

Lalat buah, *Drosophila melanogaster* adalah 'organisme model' yang telah digunakan untuk penelitian genetika selama bertahun-tahun. Lalat ini memiliki waktu generasi yang relatif singkat, mudah disilangkan, menghasilkan keturunan dalam jumlah besar, memiliki genom yang relatif kecil, dan tidak berbahaya bagi manusia, sehingga menjadikannya sebagai sistem penelitian yang ideal untuk memahami pola pewarisan sifat dalam lingkungan laboratorium yang terkendali.

Selain itu keunggulan penggunaan lalat buah antara lain tidak memerlukan kondisi steril seperti pada mikroorganisme, mudah diperoleh karena bersifat kosmopolit, siklus hidup pendek, mudah dipelihara, lalat betina bertelur banyak, ciri morfologi mudah diamati dan memiliki 4 pasang kromosom sehingga mudah diteliti.



Gambar. 1. Perbandingan lalat buah jantan dan betina (*Drosophila melanogaster*). Lalat jantan cenderung menunjukkan bagian belakang yang gelap dan tumpul, sedangkan lalat betina menunjukkan bagian belakang yang terang dan runcing. Kredit gambar: CC BYSA 4.0 YassineMrabet

Tabel 1. Perbedaan Lalat Jantan dan Betina

Pembeda	Lalat Jantan	Lalat Betina
Ujung Abdomen	Membulat	Memanjang dan Meruncing
Jumlah Segmen Abdomen	5	7
Ukuran Tubuh	Lebih kecil	Lebih besar
<i>Sex comb</i> (Sisir kelamin)	Terdapat pada permukaan distal dari tarsus terakhir kaki depan	Tidak ada

c. Alat dan bahan

Alat: Botol vial/botol kultur, busa untuk sumbat botol, Mikroskop Stereo, Kaca Pembesar, botol bius, kuas lukis

Bahan: *Drosophila melanogaster*, alkohol 70%, eter, pasang kapas, label/spidol permanen

d. Prosedur praktikum

Penangkapan Lalat buah di alam

1. Siapkan botol selai yang bersih;
2. Masukkan potongan buah yang masak;
3. Letakkan di tempat yang terbuka dan dijaga jangan sampai ada semut yang masuk;
4. Setelah sehari atau beberapa hari, akan ada lalat yang masuk;
5. Tutuplah botol dengan kain setelah jumlah lalat yang masuk ke dalam botol cukup banyak dan ikatlah kain penutup botol dengan karet

Pembiusan Lalat Buah Identifikasi jenis kelamin *Drosophila sp.*

1. Sentakkan botol pada telapak tangan secara perlahan, supaya lalat buah yang menempel pada tutup busa dapat jatuh ke bawah;
2. Pindahkan lalat buah ke botol kosong dengan bantuan corong;
3. Tutup botol berisi lalat buah dengan sumbat busa;
4. Masukkan kapas yang telah ditetesi eter ke dalam botol berisi lalat melalui sela-sela sumbat busa;
5. Setelah lalat terbius, pindahkan lalat ke atas kertas putih atau ke dalam cawan petri;
6. Lalat akan terbius selama 1-2 menit;
7. Lakukan pengamatan dengan cepat. Apabila pengamatan belum selesai lalat sudah sadar, lakukan pembiusan sekali lagi;
8. Bedakan jenis kelamin lalat betina dan jantan, kemudian gambar kedua jenis lalat tersebut, beri keterangan bagian-bagiannya, sehingga tampak jelas perbedaan kedua jenis kelamin lalat tersebut;
9. Setelah pengamatan, lalat dimasukkan kembali pada botol medium semula.

Pembuatan medium kultur *Drosophila sp.*

1. Pisang raja 700 gram, tape singkong 200 gram, tambahkan air 300-600 ml di blender sampai halus.
2. Masukkan ke dalam panci: pisang, tape singkong dan gula merah yang sudah di hancurkan sebanyak 100 gram,
3. Aduk rata, masak selama 30 menit. Angkat.
4. Siapkan botol kultur yang sudah diisi dengan media setinggi 1-3 cm/4-5 sendok/botol, lalu tutup dengan busa penutup;
5. Siapkan 3 botol kultur dan masukkan masing-masing 1 pasang lalat jantan/betina yang telah dibius ke dalam botol kultur Anda.
6. Pastikan untuk memberi label botol dengan "P" Galur induk yang disilangkan, tanggal, dan nama Anda. Berdasarkan data pada Tabel 1, buatlah hipotesis tentang bagaimana sifat diwariskan. Misalnya, berapa

banyak gen yang terlibat? Alel mana yang mana yang mungkin dominan dan resesif? Apakah ada sifat yang terkait dengan jenis kelamin?

e. Matrik percobaan

Tabel 2. Hasil Pengamatan fenotip parental *Drosophila melanogaster*

No.	Fenotip Parental		Gambar Parental	
	Jantan	betina	Jantan	Betina
1				
2				
3				

f. Pertanyaan

1. Bagaimana ciri-ciri *D. melanogaster* yang diperoleh dari pengamatan?
2. Bagaimana perbandingan jantan betina, dan galur murni atau mutan yang didapatkan dari alam?

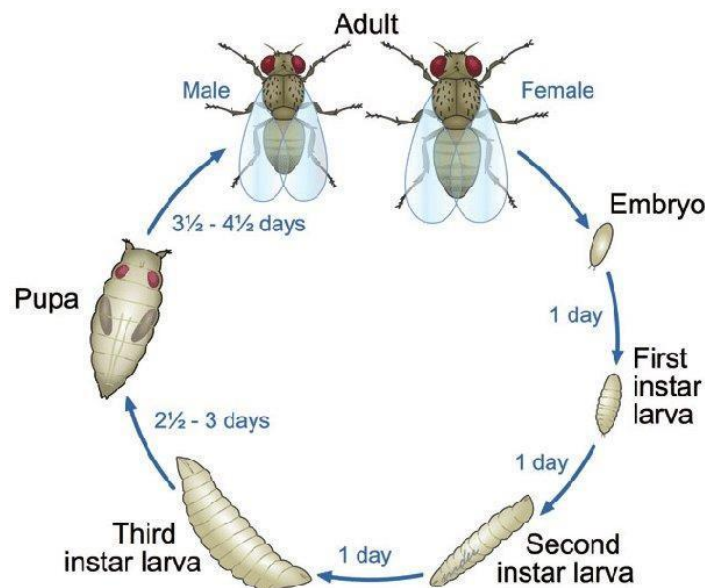
Praktikum II. Konsep Probabilitas: Kuantifikasi F1, Fenotip dan nilai χ^2 filial *Drosophila melanogaster*

a. Tujuan praktikum

1. Mahasiswa dapat melakukan perhitungan F1 *Drosophila melanogaster* dan mencari nilai χ^2 -nya
2. Mahasiswa dapat membedakan galur murni dan mutan pada F1 *Drosophila melanogaster*

b. Landasan Teori

Lalat buah termasuk dalam ordo diptera yang mengalami metamorfosis sempurna (holometabola) dengan empat stadium perkembangan yaitu telur – larva – pupa – imago. Telur-telur lalat buah diletakkan oleh betina dewasa dalam jaringan buah.



Gambar 1. Siklus hidup lalat buah *Drosophila melanogaster*

c. Alat dan Bahan

1. Alat : jarum/pinset, cawan petri, mikroskop stereo
2. Bahan: Biakan *Drosophila melanogaster* hasil persilangan

d. Prosedur Praktikum

Persilangan *Drosophila sp.* dalam medium kultur

1. Siapkan botol kultur yang sudah diisi dengan media setinggi 1-3 cm/4-5 sendok/botol, lalu tutup dengan busa penutup;
2. Siapkan 3 botol kultur dan masukkan masing-masing 1 pasang lalat jantan/betina yang telah dibius ke dalam botol kultur Anda. Pastikan untuk memberi label botol dengan "P", galur induk yang disilangkan, tanggal, dan nama Anda.
3. Setelah 1-2 hari dan terlihat telur/larva keluarkan parental dari botol kultur;

4. Setelah maksimal 12 hari dari awal persilangan bius semua F1 yang di dapat dan pindahkan ke cawan petri;
5. Ambil masing-masing *D. Melanogaster* dan amati menggunakan mikroskop stereo, amati karakter: jenis kelamin, tipe galur murni/mutan dan ciri lainnya yang ditemukan (catat pada tabel hasil yang sudah disediakan);
6. Hitung berapa rasio fenotipik yang diprediksi dari generasi F1 Anda? Dengan menggunakan total data kelas yang diamati untuk setiap persilangan, lakukan analisis chi-square untuk menentukan apakah ada perbedaan yang signifikan secara statistik antara fenotip yang diamati dan fenotipe yang diharapkan. Ingat, pada persilangan monohibrid, kita mengharapkan rasio fenotipik 3:1 rasio fenotipik pada generasi F2, sedangkan pada persilangan dihibrida kita mengharapkan rasio 9:3:3:1. Ingatlah rumus chi-kuadrat:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E} = \frac{(O_1 - E_1)^2}{E_1} + \frac{(O_2 - E_2)^2}{E_2} + \frac{(O_3 - E_3)^2}{E_3}$$

Derajat kebebasan (df) = # fenotipe F2 yang berbeda - 1. Dengan demikian, df = 1 untuk persilangan monohibrid dan df = 3 untuk persilangan dihibrida. Gunakan tabel chi-square untuk menentukan apakah nilai chi-square yang dihitung signifikan secara statistik (tabel chi-square di lampiran 1).

e. Matrik Percobaan

Tabel 1. Hasil Pengamatan fenotip dan F1

Botol ke-	Tanggal	Fenotip*		Jumlah F1	Keterangan
		Betina	Jantan		
1					Drosophila ke-1

* selain menentukan jenis kelamin lalat (dengan stereo mikroskop atau kaca pembesar), Anda diharapkan dapat mengenali fenotipe yang berbeda yang terdapat pada varietas mutan dan tipe liar. Berikan perhatian khusus pada warna mata dan bentuk sayap. Isi tabel ini dengan hasil pengamatan dan buatlah sketsa fenotipe dan jenis kelamin. Setelah selesai, pindahkan lalat ke dalam botol berisi alkohol.

f. Pertanyaan

1. Apakah ditemukan karakter F1 yang berbeda dari karakter induknya? Jika ada jelaskan kenapa hal tersebut bisa terjadi!
2. Apa saja ciri-ciri *D. melanogaster* yang bersifat mutan? Jelaskan!
3. Apakah ditemukan karakter F1 yang bersifat mutan?

Praktikum III. Alel Ganda: Penentuan Golongan Darah dan Segmen Digitalis Tengah

a. Tujuan praktikum

1. Mengenal beberapa sifat genetik pada manusia yang ditentukan oleh seri alel ganda
2. Mengetahui distribusi golongan darah sistem ABO pada populasi kelas genetika
3. Mengetahui frekuensi sifat rambut pada segmen digitalis (ruas jari tangan) kedua

b. Landasan Teori

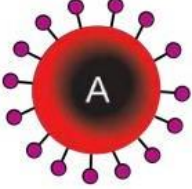
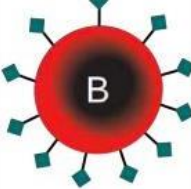
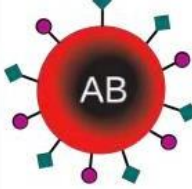
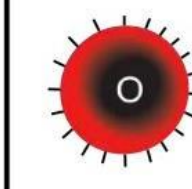






Alel adalah gen-gen yang terletak pada lokus yang sama dalam kromosom homolog. Bila dilihat dari pengaruh gen pada fenotip, alel adalah anggota dari sepasang gen yang memiliki pengaruh berlawanan. Jadi, alel adalah gen-gen yang terletak pada lokus yang sama serta memiliki tugas yang sama atau hampir sama. Pada individu homozigot, pasangan kedua alel mempunyai simbol-simbol yang sama, misalnya AA, BB. Genotip heterozigot pasangan kedua alel mempunyai simbol yang tidak sama misalnya Aa, Bb. Namun Ab dan aB bukan alel. Meskipun demikian, pada individu diploid (individu yang tiap kromosomnya terdiri atas sepasang kromosom homolog) banyaknya alel yang ada pada suatu lokus, yang muncul hanya sepasang. Secara matematika hubungan antara banyaknya anggota alel ganda dan macam genotip individu diploid dapat diformulasikan sebagai berikut :

$$\text{Banyaknya macam genotipe} = \frac{1}{2} n (n + 1) n = \text{banyaknya anggota alel ganda}$$

Alel ganda adalah salah satu keadaan dimana sebuah gen memiliki lebih dari satu pasang alel. Peristiwa ini disebut multipel alelisme, sedangkan perangkat dari alel-alel tersebut disebut deretan alel. Alel ganda terjadi karena gen mengalami beberapa kali mutasi. Adanya alel ganda individu diploid tidak hanya memiliki tiga kemungkinan genotip, tetapi kemungkinan genotipnya menjadi lebih dari 3. Genotip individu tergantung dari seri dominansi dari perangkat alel. Beberapa sifat yang ditentukan oleh alel ganda antara lain sifat golongan darah sistem ABO dan tumbuhnya rambut pada segmen digitalis kedua dari jari tangan pada manusia, sifat warna rambut pada kelinci dan sifat warna mata pada lalat *Drosophila melanogaster*. Pada permulaan abad 19 K. Landsteiner menemukan bahwa penggumpalan darah (aglutinasi) dapat terjadi apabila sel darah merah seseorang dicampur dengan serum darah orang lain dan pada sebagian orang tidak terjadi penggumpalan. Berdasarkan hal itu Landsteiner membagi 3 golongan darah yaitu A, B dan O. Golongan darah AB ditemukan oleh dua orang mahasiswanya pada tahun 1902 yaitu A.V. von Decastello dan A. Sturli. Dinyatakan bahwa antigen atau aglutinogen yang dibawa eritrosit akan bereaksi dengan zat anti atau antibodi atau aglutinin yang dibawa oleh serum darah. Reaksi antigen dan antibodi yang sama dapat mengakibatkan penggumpalan.

Berikut ini tabel kandungan antigen dan antibodi pada masing-masing golongan darah sistem ABO dan interaksi yang terjadi antara aglutinogen dan aglutinin

Tabel 1. Hubungan antara golongan darah dengan macam aglutinogen dan aglutinin.

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type				
Antibodies in Plasma	 Anti-B	 Anti-A	None	 Anti-A and Anti-B
Antigens in Red Blood Cell	 A antigen	 B antigen	 A and B antigens	None

c. Alat dan Bahan

Alat: pen lanset, alat tulis, kaca pembesar

Bahan: Kartu tes golongan darah, blood lanset, tusuk gigi/batang korek api Tisu/ Kapas, Alkohol 70 %, Reagen Anti-A, Reagen Anti-B, reagen anti-AB, Reagen Anti-Rhesus.

d. Prosedur Praktikum

Praktikum 1 Uji Golongan Darah

1. Siapkan kartu uji yang telah di beri keterangan dan isi biodata peserta uji golongan darah terlebih dahulu.
2. Sterilkan salah satu ujung jari dengan cara mengusapkan kapas yang telah dibasahi dengan alkohol 70%.
3. Pencet bagian samping jari yang akan diambil sampel darahnya.
4. Tusukkan lanset dengan hati-hati ke bagian ujung atau samping jari yang telah steril, lalu tekanlah ujung jari hingga darah keluar.
5. Teteskan darah pada kartu uji sebanyak 2 kali pada tempat yang berbeda sesuai keterangan dengan proporsi yang sama rata.
6. Tutup luka jari peserta uji golongan darah dengan kain kasa/kapas/tisu untuk memberhentikan pendarahan.
7. Teteskan reagen anti-A sebanyak 1 tetes pada sampel darah sesuai keterangan, lalu aduklah dengan gerakan memutar menggunakan tusuk gigi.
8. Amati penggumpalan yang terjadi dan tentukan golongan darahnya!

Praktikum 2 Mengamati sisi dorsal dari segmen digitalis tengah kesepuluh jari praktikan

1. Amatilah ada tidaknya rambut sisi dorsal dari segmen digitalis tengah jari praktikum. Genotipe sifat rambut jari tiap individu ditentukan dengan ketentuan:
 H1 : rambut terdapat pada jari telunjuk, jari tengah, jari manis dan jari kelingking
 H2 : rambut terdapat pada, jari tengah, jari manis dan jari kelingking
 H3 : rambut terdapat pada jari tengah dan jari manis
 H4 : rambut terdapat pada jari manis
 H5 : tidak terdapat rambut pada jari-jari
2. Tentukan fenotip dan genotip praktikan dan buat juga pengamatan data kelompok.
3. Lakukan juga pengamatan pada prodi lain di fakultas dan buat perbandingan!

e. Matrik Percobaan

Tabel 2. Pengamatan hasil uji golongan darah kelas

No.	Nama	Golongan Darah	Kemungkinan Genotip	Keterangan

Tabel 3. Pengamatan rambut pada segmen digitalis tengah

No.	Nama	Fenotip				
		H1	H2	H3	H4	H5

f. Pertanyaan

1. Apa yang dimaksud dengan alel ganda serta bagaimana perhitungan frekuensi alel ganda?.
2. Apa contoh-contoh lain alel ganda pada manusia, hewan dan tumbuhan?
3. Jelaskan penyebaran alel ganda pada penggolongan darah resus dan MN!
4. Alel manakah yang paling banyak dimiliki mahasiswa pada pengamatan rambut segmen digitalis?

Praktikum IV. Genetika populasi: Perhitungan Frekuensi Suatu Karakter dalam Populasi

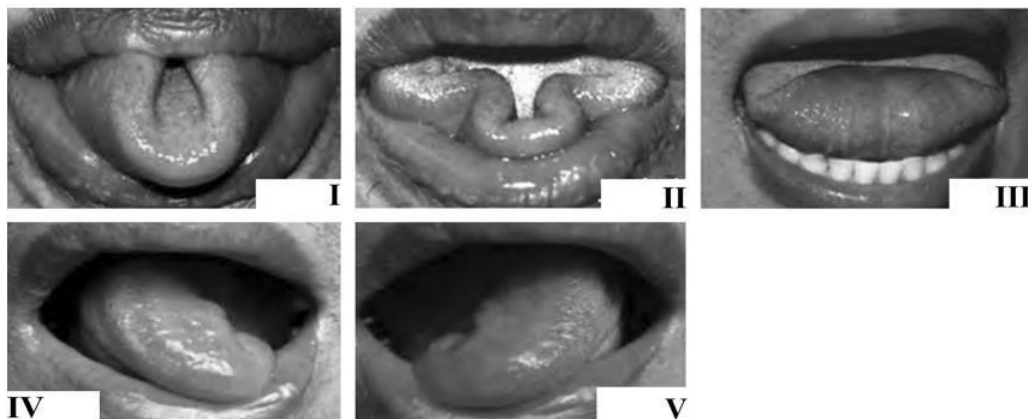
a. Tujuan praktikum

1. Mahasiswa mengetahui sifat sebaran alel karakter *Rolling tongue*, *Garis rambut*, dan *earlobe*;
2. Mahasiswa memahami prinsip dan perhitungan dari persamaan Hardy-Weinberg;
3. Mahasiswa mengetahui fenotip dan frekuensi alel dari populasi kelas genetika.

b. Landasan Teori

Genetika populasi adalah salah satu cabang ilmu genetika yang mempelajari variasi genetik dalam suatu populasi. Populasi merupakan sekelompok individu dari spesies yang sama, tinggal didaerah yang sama, dan kawin silang sehingga menghasilkan keturunan yang fertil. Genetika populasi memegang prinsip Hardy-Weinberg yang menyatakan bahwa jumlah alel dalam suatu populasi akan selalu sama dalam setiap generasi.

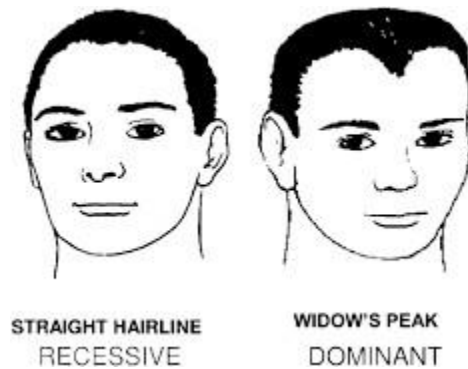
Kappert, et al., (2020), menjelaskan distribusi lima gerakan lidah berdasarkan populasi Belanda terdiri atas menggulung 83,7%, daun semanggi 14,7%, melipat 27,5%, memutar ke kiri 36,1%, dan memutar ke kanan 35,6%. Temuan tambahan adalah bahwa persentase orang yang dapat melipat lidah mereka hampir sepuluh kali lebih tinggi (3% versus 27,5%) dari pada penelitian sebelumnya. Persentase orang yang dapat menggulung lidah bervariasi dari 60 hingga 80% dan persentase rata-rata pelipatan lidah berada di antara 1,5 dan 3%. Kemampuan melipat lidah diyakini bergantung pada keberadaan gen penggulung lidah.



Gambar 1. Gerakan-gerakan lidah: I:menggulung, II: daun semanggi, III: melipat, IV: memutar ke kiri, V: memutar ke kanan, melipat, III. diadaptasi dari Lu (2013)

Garis rambut (*Hairline shape*) adalah garis yang membatasi rambut kulit kepala dari dahi. Bentuk garis rambut bisa melengkung atau lurus, garis rambut yang melengkung menunjukkan titik berbentuk V yang turun dari tengah kepala tepat di atas dahi yang juga disebut sebagai *Widow's peak*. Terdapat 2 alel yang bertanggung jawab untuk mengendalikan bentuk garis rambut. Garis rambut yang memiliki *Widow's*

peak bersifat dominan sedangkan yang lurus bersifat resesif. Sifat ini mengikuti pola pewarisan dominan-resesif yang sederhana. Pola pewarisannya mengikuti hukum pewarisan Mendel, yang mengasumsikan bahwa alel (W) untuk *Widow's peak* bersifat dominan sedangkan alel (w) untuk garis rambut lurus resesif. Jika individu mengekspresikan bentuk garis rambut *Widow's peak*, genotipe yang mungkin adalah (WW) homozigot atau (Ww) heterozigot sedangkan yang mengekspresikan garis rambut lurus memiliki genotipe (ww).



Gambar 2. Garis rambut lurus dan garis rambut dengan widow's peak

Earlobe merupakan bagian bawah berdaging lunak yang terletak di pangkal telinga luar. Earlobe adalah bagian dari daun telinga yang tidak didukung oleh tulang rawan. Terdapat dua tipe earlobe, yaitu *attached*, di mana earlobe secara langsung melekat pada sisi lateral kepala, dan *detached* (terlepas menggantung bebas dari sisi lateral kepala). Karakter dominan diberikan kepada *earlobe* yang terpisah sedangkan resesif diberikan kepada earlobe yang menempel.



Gambar 3. Tipe earlobe attached (kiri) dan deattached (kanan)

c. Alat dan Bahan

Alat: Cermin, alat tulis, kamera untuk dokumentasi
 Bahan: kertas HVS

d. Prosedur Praktikum

Menghitung frekuensi sifat Rolling Tongue (kemampuan melipat lidah)

1. Praktikan diminta untuk menjulurkan dan melipat lidahnya (sesuai dengan gambar gerakan lidah) lalu dicatat orang yang bisa melakukannya dan yang tidak bisa melakukannya. Praktikan bisa melihat lidahnya dengan menggunakan cermin.

2. Dokumentasikan setiap sampel dengan kamera dan mengisi lembar hasil pengamatan.
3. Hitunglah frekuensi masing-masing karakter dengan membagi karakter spesifik dengan jumlah total praktikan.

Menghitung frekuensi sifat Hairline (Garis Rambut)

1. Perhatikan garis rambut pada setiap praktikan, jika praktikan cukup dengan menanyakan sifat *hairlinenya* langsung kepada praktikan yang bersangkutan.
2. Dokumentasikan hasil yang didapatkan pada lembar pengamatan.
3. Hitunglah frekuensi masing-masing karakter yang diamati dari seluruh anggota kelas.

Menghitung frekuensi sifat earlobe

1. Perhatikan garis rambut pada setiap praktikan, jika praktikan cukup dengan menanyakan sifat *earlobenya* langsung kepada praktikan yang bersangkutan.
2. Dokumentasikan hasil yang didapatkan pada lembar pengamatan.
3. Hitunglah frekuensi masing-masing karakter yang diamati dari seluruh anggota kelas.

e. Matrik Percobaan

Tabel 2. Hasil Pengamatan sifat Rolling tongue

No.	Nama	Sifat Rolling Tongue					Foto
		I	II	III	IV	V	
Total							
Frekuensi							

Tabel 3. Hasil pengamatan sifat garis rambut/*hairline* shape

No.	Nama	Sifat Garis Rambut/Hairline Shape	
		Lurus	Ada widow's peak
Total			
Frekuensi			

Tabel 4. Hasil Pengamatan sifat earlobe

No.	Nama	Sifat Earlobe	
		Melekat (attached)	Lepas (attached)
Total			
Frekuensi			

f. Pertanyaan

1. Tentukan sifat manakah dari pengamatan tersebut yang monohibrid!
2. Apakah ada dari sifat-sifat yang diamati tersebut tergolong ke dalam kategori alel ganda? Jika ada jelaskan!
3. Bagaimanakah kesimpulan yang didapatkan dari data semua karakter tersebut jika dianalisis dengan Chi-kuadrat?
4. Lakukan perhitungan masing-masing karakter dengan populasi yang lebih besar, misalnya skala fakultas, kampus atau desa!
5. Presentasikan hasil data yang sudah dianalisis pekan berikutnya!

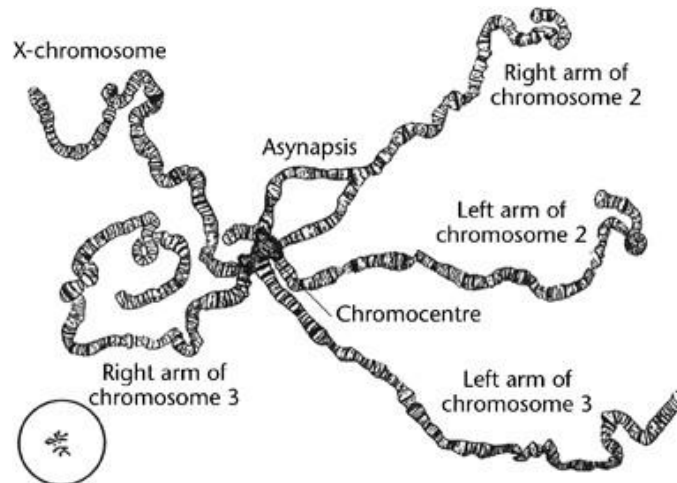
Praktikum V. Materi Genetik: Pengamatan Gen Politen

a. Tujuan praktikum

1. Mahasiswa mampu menyiapkan preparat dengan kromosom politen
2. Mahasiswa mampu mengamati pola pita yang berbeda dari kromosom raksasa

b. Landasan Teori

Pada kelenjar saliva lalat buah (*Drosophila melanogaster*) ditemukan kromosom yang berukuran lebih besar dari ukuran kromosom normal, yang biasa disebut kromosom raksasa (polytene chromosom atau kromosom politen). Kromosom raksasa ini memiliki ukuran seratus kali lebih besar dari pada ukuran kromosom normal. Kromosom raksasa ini menunjukkan detail struktur yang lebih jelas dari kromosom normal. Bentuk kromosom raksasa pada lalat buah ini adalah linier atau batang.



Gambar 1. Struktur Kromosom Politen (kromosom raksasa)

Kromosom raksasa terdiri dari dua daerah yaitu daerah pita yang gelap (band) dan pita yang terang (interband) yang terletak berselang-seling secara bergantian. Pada daerah pita yang gelap terdapat banyak DNA. Pada daerah ini, kromatin mengalami kondensasi atau pelipatan secara maksimal yang disebut sebagai heterokromatin yang berperan aktif pada saat terjadi pembelahan. Heterokromatin dengan lilitan padat yang mengalami kondensasi adalah gen yang tidak terekspresi. Sedangkan pada interband atau pita terang tidak terjadi kondensasi. Pada pita terang ini terdapat eukromatin dengan lilitan renggang. Band yang terurai membentuk puff. Puff adalah gen aktif pada transkripsi RNA. Kromosom politen *D. melanogaster* yang sering digunakan untuk penyelidikan genetika mempunyai jumlah kromosom sedikit, yaitu 8 kromosom, terdiri atas 6 autosom dan 2 kromosom kelamin.

c. Alat dan Bahan

Alat : mikroskop stereo, kaca arloji, pipet tetes, kaca penutup, pinset, jarum pentul.
Bahan : Larva Instar III/IV *D. melanogaster*, tisu, larutan NaCl 0.9 %, dan pewarna aceto orcein.

d. Prosedur Praktikum

1. Sediakan larva *D. melanogaster* kemudian letakkan dalam cawan petri yang telah berisi larutan NaCl 0,9 %.
2. Bersihkan kotoran dan sisa-sisa makanan pada tubuh larva tersebut. Selanjutnya letakkan larva di atas kaca objek.
3. Menggunakan dua pinset atau jarum pentul di bawah stereo mikroskop, tarik bagian ujung kepala (bagian yang berwarna hitam) secara perlahan-lahan sehingga bagian kepala beserta kelenjar ludahnya terpisah dari bagian yang lainnya. Seperti gambar berikut:

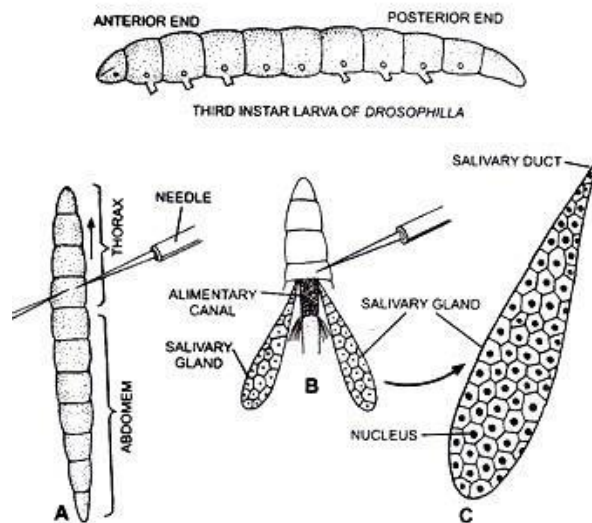


Fig. 15.3. Dissection of 3rd Instar *Drosophila* larva for salivary glands.

4. Buang sisa-sisa potongan tubuh larva tersebut dan pisahkan kelenjar ludahnya secara perlahan.
5. Kelenjar ludah yang telah diperoleh selanjutnya ditetesi dengan aceto-orcein dan biarkan selama + 10 menit.
6. Tutup sediaan dengan kaca penutup, lakukan squash dan amati di bawah mikroskop.
7. Perhatikan bentuk kromosom tersebut dan buat gambar secara lengkap.

e. Matrik Percobaan

Lembar pengamatan gen Politen *Drosophila melanogaster*

	Keterangan gambar 1. 2. 3. Dst..
--	----------------------------------------------

f. Pertanyaan

1. Kromosom politen pada kelenjar saliva larva lebih besar dan lebih panjang dibandingkan kromosom metafase, faktor apakah yang mungkin menyebabkan hal tersebut?
2. Apa keberadaan kromosom politen bermanfaat untuk organisme pada kelompok insekta, jika ada jelaskan manfaat tersebut?

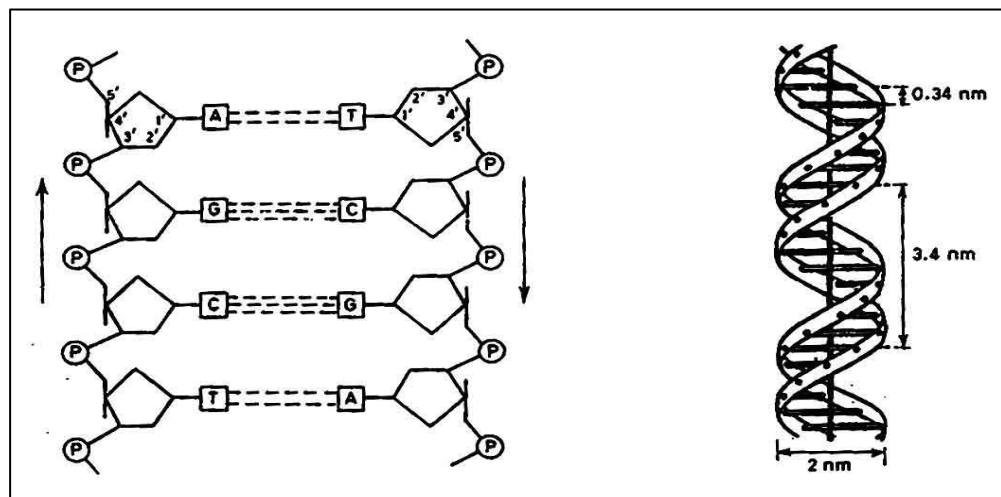
Praktikum VI. DNA *Finger Print*

a. Tujuan praktikum

1. Mahasiswa dapat mengetahui proses isolasi DNA tumbuhan dan sel hewan
2. Mahasiswa dapat memahami gambaran umum DNA hasil isolasi sebagai unit hereditas
3. Mahasiswa mengetahui teknik penggunaan PCR dan elektroforesis
4. Mahasiswa mengetahui gambaran DNA hasil isolasi dari suatu sampel

b. Landasan Teori

Asam nukleat merupakan suatu polinukleotida, yaitu polimer linier yang tersusun dari monomer-monomer nukleotida yang berikatan melalui ikatan fosfodiester. Fungsi utama asam nukleat adalah sebagai tempat penyimpanan dan pemindahan informasi genetik. Informasi ini diteruskan dari sel induk ke sel anak melalui proses replikasi. Sel memiliki dua jenis asam nukleat yaitu asam deoksiribonukleat (deoxyribonucleic acid/ DNA) dan asam ribonukleat (ribonucleic acid/RNA). Asam nukleat tersebut dapat digunakan sebagai sumber pengujian *DNA Finger Printing*.



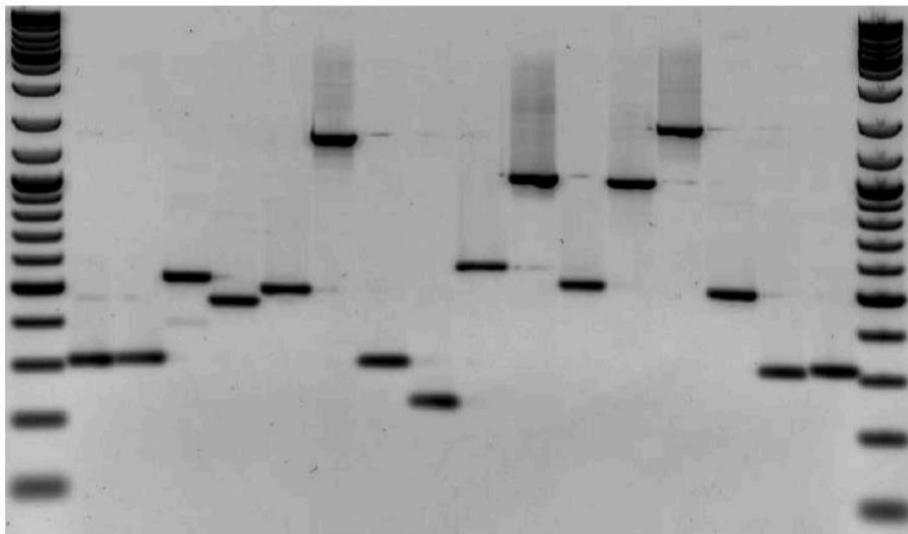
Gambar 1 . Struktur DNA, a. Struktur primer dan b. Struktur sekunder

DNA Finger Printing merupakan salah satu sistem metode identifikasi terbaik untuk hampir semua makhluk hidup. Pendekatan ini banyak digunakan untuk mengidentifikasi organisme dan menentukan evolusi keterkaitan. Proses pengerjaan *DNA fingerprinting* menggunakan metode molekuler biologi, seperti *polymerase chain reaction* (PCR) dan elektroforesis.

Berikut adalah tahapan dalam pengerjaan *DNA fingerprinting* dengan metode *variable number of tandem repeat* (VNTR):

1. DNA diekstraksi dari nukleus pada setiap sel di tubuh.
2. Molekul DNA yang rusak dengan bantuan enzim restriksi endonuclease (disebut pisau kimia) memotong sekuen DNA menjadi fragmen-fragmen. Fragmen DNA ini mengandung sekuen VNTR.

3. Fragmen DNA dipisahkan berdasarkan ukuran dengan menggunakan gel elektroforesis.
4. Fragmen DNA untai tunggal yang terpisah dipindahkan ke membran nilon. Probe DNA radioaktif yang memiliki urutan komplemen VNTR dituangkan di atas membran nilon. Beberapa dari fragmen DNA akan mengikat VNTR untai tunggal. Metode hibridisasi DNA dengan probe disebut Southern Blotting.
5. Membran nilon dicuci untuk menghilangkan probe yang berlebih
6. X-ray film dipaparkan ke membran nilon untuk menandai tempat dimana probe DNA radioaktif berikatan dengan fragmen DNA. Tempat ini ditandai sebagai pita gelap Ketika X-Ray film dikembangkan. Hal ini diketahui sebagai autoradiografi.
7. pita gelap pada X-Ray film ini mewakili DNA fingerprinting (DNA profile)



Gambar 2. Contoh sidik jari DNA. Setiap pita pada gel agarosa menunjukkan fragmen DNA tertentu. Setiap kolom vertikal merupakan sampel yang berbeda. Sumur di paling kiri dan paling kanan berisi tangga DNA yang mengilustrasikan pita-pita dengan ukuran yang diketahui. Tangga DNA digunakan untuk membantu menentukan ukuran (dalam pasangan basa) fragmen DNA sampel.

Gambar kredit: CC BY-SA 3.0 Rkalendar.

DNA dari sel prokariot maupun eukariot dapat diperoleh dengan cara mengisolasi DNA yang terdapat di dalam sel. Isolasi DNA adalah teknik yang dilakukan untuk memisahkan DNA dari zat yang lain di dalam sel. Fungsi dari pengisolasian DNA adalah mendapatkan DNA murni dari dalam sel yang akan digunakan untuk penganalisisan genotip suatu organisme.

Isolasi DNA dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu:

1. Isolasi jaringan.
2. Pelisisan dinding dan membran sel
3. Ekstraksi DNA dalam larutan
4. Purifikasi
5. Presipitasi

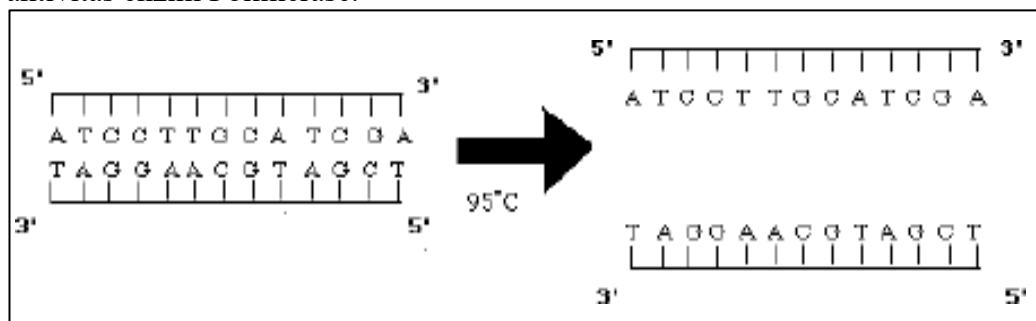
PCR adalah suatu teknik yang melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda. Untai ganda DNA templat (*unamplified DNA*) dipisahkan dengan denaturasi termal dan kemudian didinginkan hingga mencapai suatu suhu tertentu untuk memberi waktu pada primer menempel (*anneal primers*) pada daerah tertentu dari target DNA. Polimerase DNA digunakan untuk memperpanjang primer (*extend primers*) dengan adanya dNTPs (dATP, dCTP, dGTP dan dTTP) dan buffer yang sesuai. Umumnya keadaan ini dilakukan antara 20 sampai 40 siklus.

Tahap-tahap reaksi PCR

Proses PCR melibatkan beberapa tahap yaitu: 1) Pra-denaturasi DNA templat 2) Denaturasi DNA templat, 3) Penempelan primer pada templat (*annealing*), 4) Pemanjangan primer (*extension*) dan 5) Pemantapan (*postextension*). Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), di mana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA. Secara umum reaksi PCR terdiri atas beberapa tahapan yaitu:

1). Denaturasi

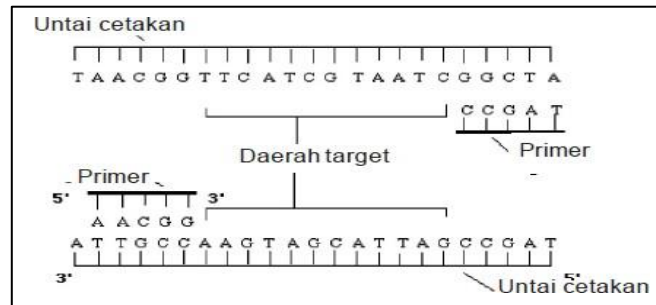
Pada tahap ini molekul DNA dipanaskan sampai suhu 94°C yang menyebabkan terjadinya pemisahan untai ganda DNA menjadi untai DNA tunggal (Gambar 6). Untai DNA tunggal inilah yang menjadi cetakan bagi untai DNA baru yang akan dibuat. Denaturasi awal dilakukan selama 1 sampai 3 menit diperlukan untuk meyakinkan bahwa DNA telah terdenaturasi menjadi untai tunggal. Denaturasi tidak berlangsung secara sempurna karena dapat menyebabkan rantai DNA terputus. Tahap denaturasi yang terlalu lama dapat mengakibatkan hilangnya aktivitas enzim Polimerase.



Gambar 3. Rantai DNA mengalami denaturasi

2) Penempelan (*Annealing*)

Enzim *Taq* polimerase dapat memulai pembentukan suatu untai DNA baru jika ada seuntai DNA berukuran pendek (DNA yang mempunyai panjang sekitar 10 sampai 30 pasang basa) yang menempel pada untai DNA target yang telah terpisah (Gambar 7). DNA yang pendek ini disebut primer. Agar suatu primer dapat menempel dengan tepat pada target, diperlukan suhu yang rendah sekitar 55°C selama 30 sampai 60 detik.



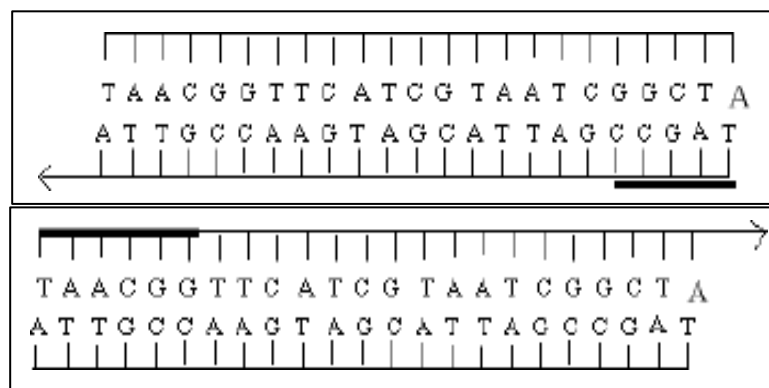
Gambar 4. Annealing rantai DNA yang telah terdenaturasi

Annealing merupakan proses penempelan primer. Tahap *annealing primer* merupakan tahap terpenting dalam PCR, karena jika ada sedikit saja kesalahan pada tahap ini maka akan mempengaruhi kemurnian dan hasil akhir produk DNA yang diinginkan. Faktor yang mempengaruhi tahap ini antara lain suhu annealing dan primer. Suhu annealing yang terlalu rendah dapat mengakibatkan timbulnya pita elektroforesis yang tidak spesifik, sedangkan suhu yang tinggi dapat meningkatkan kespesifikan amplifikasi.

Kenaikan suhu setelah tahap annealing hingga mencapai 70–74°C bertujuan untuk mengaktifkan enzim *Taq* DNA polimerase. Proses pemanjangan primer (tahap *extension*) biasanya dilakukan pada suhu 72°C, yaitu suhu optimal untuk *Taq* DNA polimerase. Selain itu, pada masa peralihan suhu dari suhu annealing ke suhu extension sampai 70°C juga menyebabkan terputusnya ikatan-ikatan tidak spesifik antara DNA cetakan dengan primer karena ikatan ini bersifat lemah. Selain suhu, semakin lama waktu extension maka jumlah DNA yang tidak spesifik semakin banyak.

3) Pemanjangan (*Extension*)

Setelah primer menempel pada untai DNA target, enzim DNA polimerase akan memanjangkan (Gambar 8) sekaligus membentuk DNA yang baru dari gabungan antara primer, DNA cetakan dan nukleotida.

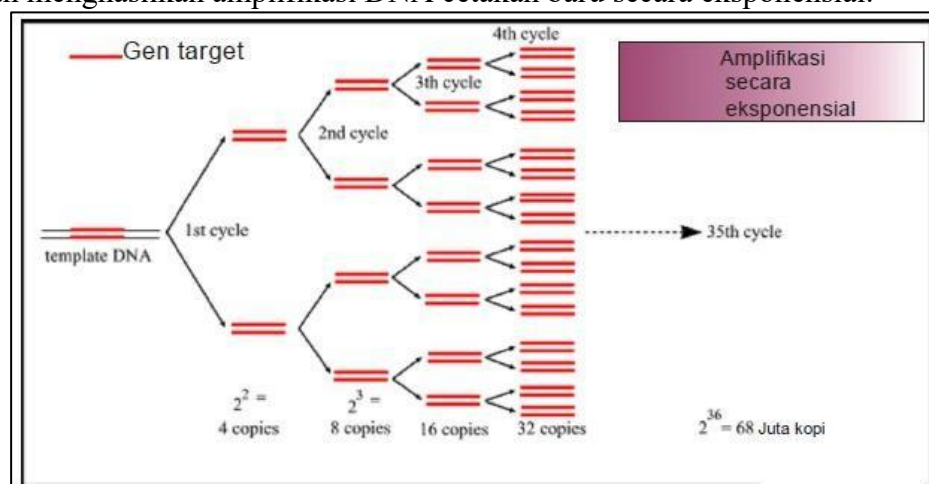


Gambar 5. Perpanjangan atau Extension DNA secara semi konservatif

Extension merupakan proses pemanjangan DNA. Dalam tahap extension atau sintesis DNA, enzim polimerase bergabung bersama dengan nukleotida dan pemanjangan primer lengkap untuk sintesis sebuah DNA rantai ganda. Reaksi ini

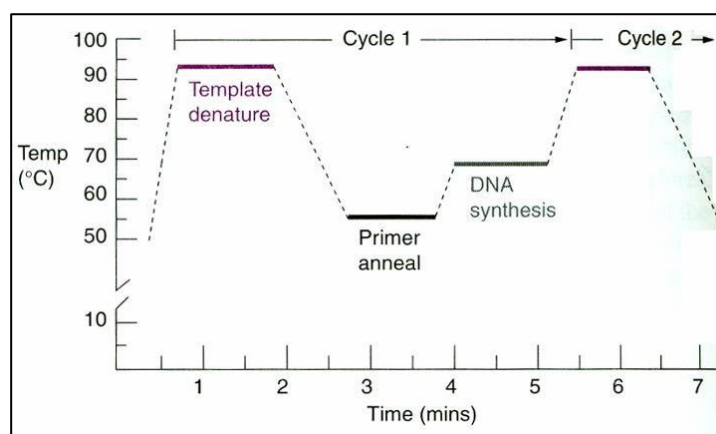
akan berubah dari satu siklus ke siklus selanjutnya mengikuti perubahan konsentrasi DNA.

Hasil sintesis DNA dalam satu siklus dapat berperan sebagai cetakan (templat) pada siklus berikutnya sehingga jumlah DNA target menjadi berlipat dua pada setiap akhir siklus (Gambar 9). Dengan kata lain DNA target meningkat secara eksponensial, sehingga setelah 30 siklus akan menjadi milyaran amplifikasi DNA target. Ketika tiga tahap di atas dilakukan pengulangan, maka untai DNA yang baru dibentuk akan kembali mengalami proses denaturasi, penempelan dan pemanjangan untai DNA menjadi untai DNA yang baru. Pengulangan proses PCR akan menghasilkan amplifikasi DNA cetakan baru secara eksponensial.



Gambar 6. Proses Amplifikasi DNA target

Reaksi-reaksi tersebut diulangi lagi sampai 25 sampai 30 kali (siklus) (Gambar 10) sehingga pada akhir siklus akan didapatkan molekul-molekul DNA rantai ganda yang baru hasil polimerasi dalam jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah DNA cetakan yang digunakan. Banyaknya siklus amplifikasi tergantung pada konsentrasi DNA target di dalam campuran reaksi. Paling tidak diperlukan 25 siklus untuk melipatgandakan satu copy sekuen DNA target di dalam DNA genom mamalia agar hasilnya dapat dilihat secara langsung, misalnya dengan elektroforesis gel agarose. Akan tetapi, pada umumnya konsentrasi DNA polimerase *Tag* menjadi terbatas setelah 25-30 siklus amplifikasi.



Gambar 7. Siklus PCR

Elektroforesis gel untuk deteksi produk PCR

Elektroforesis adalah suatu teknik pemisahan molekul selular berdasarkan atas ukurannya, dengan menggunakan medan listrik yang dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan. Teknik ini dapat digunakan dengan memanfaatkan muatan listrik yang ada pada makromolekul, misalnya DNA yang bermuatan negatif. Jika molekul yang bermuatan negatif dilewatkan melalui suatu medium, misalnya gel agarosa, kemudian dialiri arus listrik dari satu kutub ke kutub yang berlawanan muatannya, maka molekul tersebut akan bergerak dari kutub negatif ke kutub positif. Kecepatan gerak molekul tersebut tergantung pada nisbah (rasio) muatan terhadap massanya, serta tergantung pula pada bentuk molekulnya.

Teknik elektroforesis dapat digunakan untuk analisis virus, DNA, RNA, protein (enzim dan protein lain), molekul-molekul organik dengan berat molekul rendah seperti asam-asam amino. Elektroforesis DNA dilakukan misalnya untuk menganalisis fragmen-fragmen DNA hasil pemotongan dengan enzim restriksi. Fragmen molekul DNA yang telah dipotong-potong dapat ditentukan ukurannya dengan cara membuat gel agarosa yaitu suatu bahan semi-padat berupa polisakarida yang diekstraksi dari rumput laut. Gel agarosa dibuat dengan melarutkannya dalam suatu bufer. Agar dapat larut dengan baik, pelarutannya dibantu dengan pemanasan, misalnya menggunakan oven gelombang mikro (microwave oven). Dalam keadaan panas, gel akan berupa menjadi cairan sehingga mudah dituang ke atas suatu lempeng (plate) yang biasanya terbuat dari (Perspex). Sebelum mendingin dan memadat, pada ujung gel tersebut dibuat lubang-lubang dengan menggunakan lembaran Perspex tipis yang dibentuk menyerupai sisir. Sisir tersebut ditancapkan pada salah satu ujung gel yang masih cair. Dengan demikian, pada waktu gel memadat dan sisirnya diambil terbentuklah lubang-lubang kecil. Ke dalam lubang-lubang kecil itulah sampel molekul DNA dimasukkan. Gel agarosa yang sudah terbentuk kemudian dimasukkan ke dalam suatu tangki yang berisi bufer yang sama dengan yang digunakan untuk membuat gel. Bufer dapat dibuat misalnya dengan Tris-asetat-EDTA (TAE) atau tres-borat-EDTA (TBE).

Setelah DNA dimasukkan ke dalam lubang sampel, arus listrik dialirkan. Kutub yang sejajar dengan lubang sampel DNA berupa kutub negatif, sedangkan kutub lainnya positif. Oleh karena DNA bermuatan negatif maka molekul-molekul DNA akan bergerak ke arah kutub positif. Setelah beberapa waktu gel kemudian direndam dalam larutan yang mengandung etidium bromide. Etidium bromida akan menginterkalasi (menyisip ke dalam) DNA.

Visualisasi molekul DNA dalam gel. Lokasi DNA pada gel dapat dilihat melalui pewarnaan gel dengan senyawa etidium bromida. Pewarnaan ini menghasilkan pita-pita yang paling tidak mengandung 1-10 ng DNA, yang dapat dideteksi di bawah cahaya UV. Etidium bromida merupakan zat warna berfluorosensi yang dapat terikat diantara pasangan basa dan membuat molekul DNA lebih kaku. Ikatan yang terbentuk akan meningkatkan intensitas fluorosensi dari zat warna bebasnya. Penggunaan etidium bromida dimaksudkan untuk membantu visualisasi karena etidium bromida akan memendarkan sinar ultraviolet. Jika gel disinari dengan ultraviolet dari bawah, maka akan tampak citra berupa pita-pita

pada gel. Pita-pita tersebut adalah molekul-molekul DNA yang bergerak sepanjang gel setelah dielektroforesis. Molekul RNA dapat dianalisis dengan prinsip yang sama, yaitu menggunakan gel agarosa, namun dengan menggunakan bufer yang berbeda yaitu yang mengandung formaldehid.

c. Alat dan Bahan

Alat: tabung reaksi, mesin sentrifugasi, vorteks, tabung Falcon centrifuge 50 mL dan 1,5 mL, gunting, tabung polipropene, mikropipet dan tips, beaker glass 100 mL, pipet pasteur, gelas ukur, penyaring, inkubator, sarung tangan karet, parafilm, water bath, termometer, mortar dan pastle, pisau, pipet tetes, timbangan, spatula dan oven. Bahan: jaringan ikan, taoge, pepaya, tomat, larutan pelisis darah merah, larutan pelisis sel darah putih, larutan presipitasi protein, alkohol absolut, alkohol 70%, RNase A, larutan Tris EDTA, detergen bubuk, akuades, dan etanol absolut.

d. Prosedur Praktikum

Praktikum 1 Isolasi DNA (Tumbuhan) Sederhana

1. Larutkan detergen sebanyak 5 g ke dalam 50 mL air dan aduk secara perlahan sampai homogen
2. Haluskan 100 g taoge, daging buah pepaya dan tomat menggunakan mortar dan pastle
3. Pindahkan daging buah yang telah halus ke dalam beaker glass yang berisi cairan detergen
4. Aduk campuran, kemudian saring larutan menggunakan saringan dan ditempatkan pada tabung reaksi baru yang bersih
5. Tetesi hasil saringan (alikuot) dengan etanol absolut secara perlahan melalui dinding gelas
6. Amati perubahan yang terjadi dan catatlah hasil pengamatan

Isolasi DNA Hewan (Ikan)

Koleksi jaringan: Bersihkan ikan dan potonglah jaringan ikan untuk sampel kecil praktikum berukuran 2x2 cm. Sampel harus tetap dibekukan sampai dibawa ke laboratorium dan dapat membungkus jaringan dengan aluminium foil.

Ekstraksi DNA:

1. Gunakan pisau bedah yang telah disterilkan atau alat lain untuk memotong sepotong kecil jaringan.
2. Masukkan potongan jaringan ke dalam 100 µl suspensi Chelex (10% b/v).
3. Tempatkan tabung mikrosentrifus dengan Chelex dan suspensi sel pada blok panas 100 ° C selama 10 menit.
4. Sentrifus tabung dengan kecepatan maksimum selama 5 menit.
5. DNA berada di dalam supernatan (hindari manik-manik di bagian bawah).
6. Simpan DNA pada suhu -20 °C

PCR amplification of ~700 bp of COI

1. Tambahkan 22 µl campuran primer (*primer forward*, *reverse*, dan *loading dye*) ke dalam tabung PCR yang berisi PCR manik-manik.

Primer ikan universal:

5'-TCA ACC AAC CAC AAA GAC ATT GGC AC -3' (FishF1)

5'-TAG ACT TCT GGG TGG CCA AAG AAT CA -3' (FishR1)

2. Pastikan bahwa manik larut.
3. Tambahkan 3 µl DNA.
4. Muat sampel pada siklus termal dan jalankan program "FISH". Program ini menggunakan kondisi siklus berikut:
denaturasi awal pada suhu 95°C selama 15 menit,
35 siklus denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik,
annealing pada suhu 54°C selama 30 detik,
ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit,
diikuti dengan langkah ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit dengan sampel disimpan tanpa batas waktu pada suhu 4°C.
**Pastikan untuk memberi label pada tabung PCR Anda dengan jelas dan benar!
5. Simpan produk yang telah diamplifikasi pada suhu -20°C hingga Anda siap untuk tahap percobaan berikutnya (*Sequencing*/elektroforesis)

Gel casting dan Elektroforesis

1. Elektroforesis gel dilakukan dari sisa sampel yang sudah di kirim untuk sequencing, yang tujuannya untuk menentukan kualitas PCR.
2. Setiap kelompok yang terdiri dari empat (4) orang akan menyiapkan gel agarosa 1% yaitu dengan mencampurkan 100 ml bufer TBE dengan 1 g agarosa secara perlahan.
3. Panaskan campuran bufer-agarosa dalam microwave dengan interval 30 detik, aduk larutan di antaranya pemanasan. Pastikan Anda mengenakan sarung tangan pelindung karena labu akan menjadi panas! Agarosa harus benar-benar larut dalam bufer dan jernih.
4. Tambahkan 10 ul pewarnaan SYBR Safe DNA ke dalam labu panas dan aduk perlahan.
5. Tempatkan sisir ke dalam setiap peralatan gel. Pastikan sisir dengan 10 sumur ditempatkan menghadap ke bawah. Biarkan campuran gel panas agak dingin sebelum dituang (~ 3 menit). Tuangkan gel dengan hati-hati ke dalam baki gel, pastikan tidak ada cairan yang tumpah.
6. Gel dapat ditempatkan di dalam lemari es untuk mempercepat pematangan. Ini seharusnya tidak lebih dari 20 menit.
7. Setelah cukup mengeras, letakkan gel di dalam alat gel. Pastikan sumur gel berada di dekat elektroda negatif (hitam). Isi alat gel dengan bufer TBE 1X. Ruang harus diisi sehingga bufer menutupi gel secara memadai.
8. Masukkan sisa dari setiap sampel ke dalam gel. Selain itu, muat 5 ul dari 100 bp tangga ke dalam sumur pertama setiap gel. Ini akan membantu menentukan apakah fragmen ukuran yang benar diperoleh (~ 700 bp).
9. Setelah Marker DNA terlihat lebih kurang 1 cm dari ujung agarose hentikan proses elektroforesis.
10. Foto hasil pewarnaan setelah dilihat di bawah UV-transiluminator.

e. Matrik Percobaan

Tabel 1. Hasil Isolasi DNA Sederhana

No.	Tahapan Kerja	Hasil	Gambar/ Foto

No.	Tahapan Kerja	Hasil	Gambar/ Foto

f. Pertanyaan

1. Bagaimana proses penggandaan untaian DNA?
2. Bagaimana cara mengidentifikasi anak kandung dari pasangan orang tua?

Praktikum VII. Deteksi Kelainan Genetik: Karyotipe

a. Tujuan praktikum

1. Mahasiswa mampu menyusun karyotipe kromosom
2. Mahasiswa mampu menganalisis kelainan suatu organisme berdasarkan susunan kromosomnya

b. Landasan Teori

Karyotipe merupakan tampilan visual kromosom setiap individu. Kromosom akan berpasang-pasangan membentuk pasangan kromosom homolog yang ditandai dengan panjang dan posisi sentromer yang sama. Contoh penulisan karyotipe sebagai berikut:

Manusia memiliki 46 kromosom;

 untuk wanita : 22AA (autosom) + XX (gonosom)

 untuk laki-laki : 22AA (autosom) + XY (gonosom)

Karyotipe dapat digunakan untuk mengidentifikasi berbagai kelainan kromosom. Kromosom ekstra, hilang atau tidak normal dapat menjelaskan masalah pada pertumbuhan dan perkembangan.

Tabel 11. Karyotipe Berdasarkan Klasifikasi Denver

Golongan	Nomor	Ukuran	Tipe Kromosom
A	1-3	Besar	Metasentrik
B	4-5	Besar	Submetasentrik
C	6-12,X	Sedang	Submetasentrik
D	13-15	Sedang	Akrosentrik
E	16-18	Agak Kecil	Metasentrik, Submetasentrik
F	19-20	Kecil	Metasentrik
G	21-22, Y	Kecil sekali	Akrosentrik

Teknisi medis biasanya mempersiapkan karyotipe dengan menggunakan komponen darah berupa Leukosit (sel darah putih). Selain itu, pengambilan sampel untuk analisa karyotiping bisa diambil dari beberapa sumber berikut :

a. Bayi yang sudah lahir / manusia dewasa

1. Darah
2. Bone marrow
3. Jaringan kulit atau jaringan tubuh lainnya

b. Bayi yang belum lahir

1. Cairan amniotik
2. Extra-Embryonic cells (dari Chorionic villi)

Pengaturan ukuran set pada fotograf dari pita-pita kromosom dapat digunakan untuk melihat penyusunan kromosom. Analisis secara fisik dapat juga dilihat dari

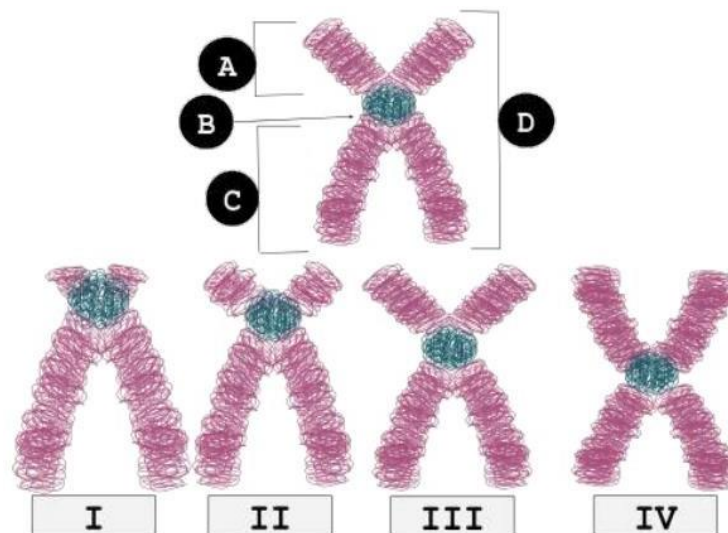
gambaran mikroskopis kromosom kelamin dan kromosom tubuh pada metafase dari proses mitosis .Ada dua gambaran kromosom set dari suatu spesies yaitu:

- a. Karyogram, merupakan foto mikrograf kromosom dari gambaran tunggal sel somatis metafase yang dipotong dan disusun pada bagian homolog berdasarkan ukurannya.
- b. Idiogram, merupakan grafik gambaran dari karyotipe. Secara umum, idiogram merupakan sediaan yang memperlihatkan komplemen kromosom haploid dari suatu spesies, yang mana idiogram ini merupakan ukuran dari kromosom somatis metafase.

Klasifikasi kromosom

Kromosom umumnya diklasifikasikan menggunakan beberapa kriteria. Pertama, mereka diurutkan dari yang terbesar hingga terkecil. Sebagai contoh, kromosom 1 manusia adalah kromosom terbesar, yang mengandung 2.100 gen pengkode protein dan 249 juta bp. Kromosom seks diberi label dengan tepat sebagai XX pada wanita atau XY pada pria. Perhatikan bahwa kromosom X jauh lebih besar daripada kromosom Y. Oleh karena itu, kromosom X dan Y dianggap tidak homolog (meskipun ada beberapa daerah homolog yang diperlukan untuk pemasangan yang tepat selama pembelahan sel).

Posisi relatif sentromer juga dapat berbeda di antara kromosom. Sentromer yang ditempatkan di tengah kromosom disebut kromosom metasentris, menghasilkan lengan kromosom yang sama panjang. Ketika sentromer tidak ditemukan di posisi tengah, menghasilkan panjang lengan kromosom yang berbeda. Lengan-lengan ini disebut sebagai lengan p (lengan pendek) dan lengan q (lengan panjang). Selain kromosom metasentrik, kromosom dapat berupa submetasentris, akrosentris, dan telosentris, semuanya bervariasi dalam posisi relatif sentromer (Gambar 2).



Gambar 14. klasifikasikan kromosom berdasarkan posisi relatif sentromer. I = telosentrik; II = akrosentrik; III = submetasentris; IV = metasentris. A = lengan p; B = sentromer; C = lengan q; D = kromatid saudara. Kredit gambar: CC BY-SA 4.0 Fockey003.

c. Alat dan Bahan

Alat: Gunting, penggaris, kaca pembesar

Bahan: Gambar kromosom acak beberapa organisme, Kertas milimeter blok, Lem.

d. Prosedur Praktikum

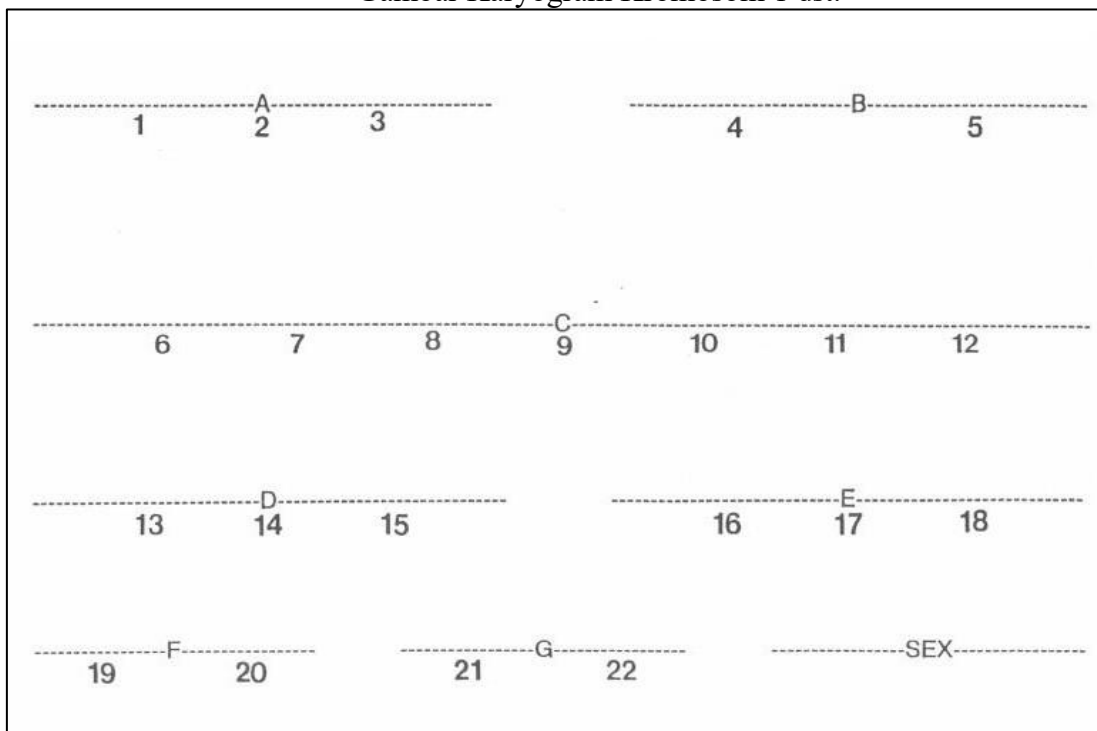
1. Gunting gambar kromosom yang sudah disediakan (lampiran);
2. Hitung jumlahnya;
3. Ukur panjang kromosom (besar, sedang, kecil, terkecil) dan tentukan tipenya;
4. Susun kromosom berdasarkan klasifikasi Denver;
5. Lekatkan susunan kromosom di kertas milimeter blok;
6. Jadikan karyotipe yang sudah dibuat sebagai laporan.

e. Matrik Percobaan

Tabel 1. Simpulan hasil analisis karyotipe

Keterangan	Kromosom 1	Kromosom 2	Kromosom 3
Jumlah			
Penambahan/pengurangan kromosom			
Jenis kelamin			
Kemungkinan nama abnormalitas (ex: sindrom ..)			

Gambar Karyogram Kromosom 1 dst:



g. Pertanyaan

1. Mengapa pembuatan karyotipe perlu dilakukan?
2. Karyotipe dianalisis dari satu fase pada pembelahan sel, fase apakah itu dan kenapa harus dari fase tersebut karyotipe dibuat?
3. Mengapa dari analisis karyotipe dapat diketahui bahwa suatu organisme mengalami kelainan?

REFERENSI

- Blair, Chistopher. 2018. *Genetics Laboratory Manual*. New York: CUNY New York City College of Thechnology.
- Hayati, P.K. Dewi.dan Jamsari. 2018. *Penuntun Praktikum Dasar-Dasar Genetika*. Padang: LPTIK Universitas Andalas.
- Kappert, D.R. Kilian, Simone van Dijk, David Wellenstein, Maarten J.A. van Alpen. Rob J.J. H van Son, Ludi E. Smeele. 2021. Five Specific Tongue Movements in a Healthy Population. *Dysphagia*. 36: 736-742.
- Mhired, Worku Negash. 2020. *Laboratory Manual for Principle of Genetics*. Mauritius: Lambert Academic Publising.
- Penyusun, Tim. 2024. *Penuntun Praktikum Genetika*. Jambi: Tadris Biologi UIN Sulthan Thaha Saifuddin Jambi.
- Wahyuni, Febriana Dwi. 2020. *Penuntun Praktikum Genetika Dasar*. Jakarta: Universitas Eka Unggul.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel χ^2

Chi-Square Table

Table 5-2
Critical Values of the χ^2 Distribution

df \ α	0.995	0.975	0.9	0.5	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005	df
1	.000	.000	0.016	0.455	2.706	3.841	5.024	6.635	7.879	1
2	0.010	0.051	0.211	1.386	4.605	5.991	7.378	9.210	10.597	2
3	0.072	0.216	0.584	2.366	6.251	7.815	9.348	11.345	12.838	3
4	0.207	0.484	1.064	3.357	7.779	9.488	11.143	13.277	14.860	4
5	0.412	0.831	1.610	4.351	9.236	11.070	12.832	15.086	16.750	5
6	0.676	1.237	2.204	5.348	10.645	12.592	14.449	16.812	18.548	6
7	0.989	1.690	2.833	6.346	12.017	14.067	16.013	18.475	20.278	7
8	1.344	2.180	3.490	7.344	13.362	15.507	17.535	20.090	21.955	8
9	1.735	2.700	4.168	8.343	14.684	16.919	19.023	21.666	23.589	9
10	2.156	3.247	4.865	9.342	15.987	18.307	20.483	23.209	25.188	10
11	2.603	3.816	5.578	10.341	17.275	19.675	21.920	24.725	26.757	11
12	3.074	4.404	6.304	11.340	18.549	21.026	23.337	26.217	28.300	12
13	3.565	5.009	7.042	12.340	19.812	22.362	24.736	27.688	29.819	13
14	4.075	5.629	7.790	13.339	21.064	23.685	26.119	29.141	31.319	14
15	4.601	6.262	8.547	14.339	22.307	24.996	27.488	30.578	32.801	15

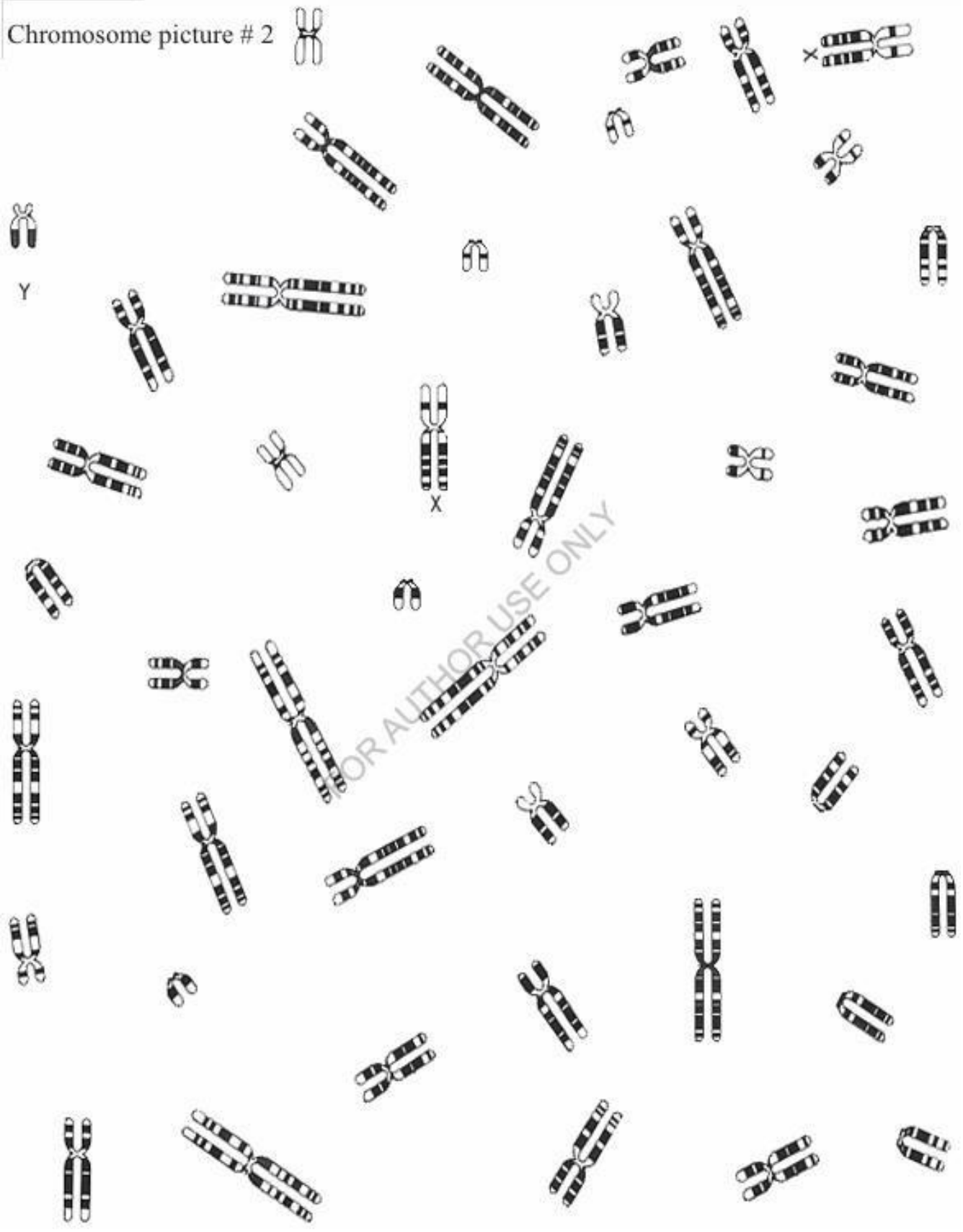
Lampiran 2. Sebaran Kromosom

Kromosom 1



Kromosom 2

Chromosome picture # 2



Kromosom 3

