

**ANALISIS URUTAN NUKLEOTIDA DAERAH HIPERVARIABEL I (HVI) DNA MITOKONDRIA UNTUK MENENTUKAN MOTIF POPULASI SUKU SUNDA**

Iman P. Maksum  
Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Padjadjaran  
Jl. Raya Jatinangor Sumedang

**ABSTRAK**

Sifat-sifat spesifik D-loop mtDNA dapat digunakan untuk menentukan identitas seseorang atau etnis tertentu. Suku Sunda merupakan salah satu etnis di Indonesia yang mengalami *missing link* dalam sejarah. Hal ini dikarenakan kurangnya peninggalan sejarah dan belum adanya penelitian yang secara khusus meneliti suku Sunda asli. Beberapa wilayah yang masih mempertahankan budaya Sunda yaitu kampung Baduy, Ciptagelar, Kuta, dan Dukuh. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan analisis urutan nukleotida daerah hipervariabel I (HVI) D-loop mtDNA pada dua puluh manusia suku Sunda dari keempat wilayah tersebut (lima sampel mtDNA dari setiap wilayah). Analisis homologi dilakukan dengan membandingkan urutan nukleotida seluruh sampel dengan *Cambridge*, manusia Indonesia di *Gene Bank*. Hasil Homologi urutan nukleotida dua puluh manusia suku Sunda ditemukan 42 varian, enam diantaranya merupakan varian baru, yaitu t(16045)A, g(16118)A, a(16177)C, g(16110)C, g(16156)C dan c(16365)-. Tingkat homologi urutan nukleotida di antara kedua puluh sampel manusia suku Sunda, berkisar antara 91,5–100%. Dari analisis pohon filogenetik didapatkan dua haplotip, yaitu haplotip tac dan taT. Adanya haplotip asli (tac) dan taT pada sampel masyarakat suku Sunda mengindikasikan bahwa nenek moyang suku Sunda yang membawa haplotip tac telah menempati kepulauan Indonesia yang selanjutnya mengalami evolusi dengan menghasilkan mutasi baru pada posisi 16261 membentuk haplotip taT serta ditunjukkan beberapa individu dari kampung Kuta merupakan individu yang tertua yang kemudian berevolusi dan bermigrasi dari haplotip tac menjadi taT. Hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi *data base* varian normal mtDNA manusia Indonesia.

**Kata Kunci:** Daerah Hipervariabel I (HVI), DNA mitokondria, haplotipe, varian baru

## NUCLEOTIDE SEQUENCES ANALYSIS OF HYPERVARIABLE REGION (HVI) IN MITOCHONDRIAL DNA FOR INVESTIGATION OF SUNDANESE'S POPULATION MOTIVE

### ABSTRACT

The characteristics of mitochondrial DNA (mtDNA) can be used to confirm individual and ethnic identity. Sundanese is the ethnic with missing historical information, it caused by lacking of historical artefact and especially research for genetic of Sundanese never exists. Some of the community which still life with their ancestor culture, they are Baduy, Ciptagelar, Kuta, and Dukuh villages. The aim of this research is to identify D-loop region (HV1) of mtDNA sequences from twenty Sundanese's peoples of four these villages (five mtDNA specimen from every village). Homology analysis is the comparison of the nucleotide sequence of the specimens and Cambridge, Indonesians in Gen Bank, mitomap database. Homology analysis had showed 42 variants with 91,5-100% of homology. Six of them are new variant, t(16045)A, g(16118)A, a(16177)C, g(16110)C, g(16156)C, and c(16365)-. Phylogenetic tree analysis had showed two haplotypes, they are tac and taT. The presence of these haplotypes in Sundanese peoples showed that their ancestor had been lived in the archipelago of Indonesian with tac haplotype, and then this haplotype occurred evolution be new mutation in 16261 formed taT haplotype. Other result showed that specimens from Kuta are the oldest and then had been occurred evolution and migration formed taT from tac haplotype. The result of this research is expected to contribute in the construction of the normal variant database of Indonesians mtDNA.

**Key words:** Hypervariable I region, mitochondrial DNA, haplotype, new variant

### PENDAHULUAN

Anderson *et al.*, (1981) telah berhasil menemukan urutan genom mitokondria (mtDNA) manusia secara lengkap sebesar 16.569 pb yang selanjutnya dijadikan rujukan standar dalam berbagai studi genetika molekuler terutama yang berkaitan dengan polimorfisme mtDNA manusia dan aspek-aspek penyakit genetika yang berkaitan dengan mutasi gen mtDNA.

Daerah D-loop mtDNA mempunyai sifat yang unik, yaitu tingkat polimorfismenya yang lebih tinggi dibandingkan dengan daerah lain. Analisis variasi urutan nukleotida daerah D-loop dapat digunakan untuk menentukan identitas seseorang atau etnis tertentu dan evolusi serta migrasi global manusia. Pada tahun 1991 fragmen mtDNA pada urutan 16.042-16.388 yang mengandung daerah D-loop digunakan untuk menentukan hubungan maternal antar individu (Orego *and* King, 1990; Stoneking *et al.*, 1991).

Penelitian ini merupakan bagian dari upaya untuk mendapatkan *data base* varian normal mtDNA manusia Indonesia dan produk translasinya. Pada penelitian sebelumnya telah ditemukan 64 variasi nukleotida mtDNA 33 manusia Indonesia baik pada daerah penyandi maupun non penyandi (Triraharjo, 1998 ; Puspasari, 1998 ; Gaffar, 1998 ; Rachmayanti, 2000; Wayan, 2001). Khususnya pada fragmen 0,4 kb daerah D-loop telah ditentukan urutan nukleotida 24 manusia Indonesia dan ditemukan 35 variasi nukleotida (Gaffar, 1998 ; Rachmayanti, 2000).

Penelitian ini secara khusus dilakukan untuk menentukan dan menganalisis pola variasi urutan nukleotida 0,4 kb daerah D-loop mtDNA manusia suku Sunda di Kampung Baduy, Ciptagelar, Kuta, dan Lelea. Suku Sunda merupakan salah satu etnis yang memiliki ketidaktepatan informasi sejarah, hal tersebut dikarenakan oleh kurangnya peninggalan sejarah dan penelitian-penelitian mengenai suku Sunda asli secara spesifik khususnya yang berkaitan dengan karakteristik genetiknya. Handoko *et al.* (2001) dalam laporan penelitiannya mendapatkan hubungan kekerabatan kelompok etnik di Indonesia di luar suku Sunda berdasarkan analisis variasi DNA mitokondria dengan menggunakan metode PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*). Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat membantu memberikan data mengenai data genetik suku Sunda asli tersebut. Kampung asli merupakan salah satu daerah yang masih melestarikan budaya asli suku Sunda. Salah satu peraturan adat masyarakatnya yang sangat mendukung penelitian ini adalah tidak adanya perkawinan campuran dengan masyarakat luar atau sistem perkawinan endogami (Ekadjati, 1984 dan Djoewisno, 1988). Hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi *data base* varian normal mtDNA manusia Indonesia.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Bahan dan Penyiapan Templat**

Cetakan mtDNA yang akan diamplifikasi diambil dari sel-sel epitel rongga mulut. Pengambilan sel epitel dilakukan dengan cara memasukan kertas saring Whatman yang sudah steril ukuran 2x2 cm<sup>2</sup> ke dalam mulut setiap individu, kemudian kertas tersebut dihisap dan dikeringkan. Selanjutnya kertas tersebut dipotong kecil-kecil dengan gunting yang steril dan hasil potongannya dimasukkan kedalam tabung mikro 1,5 mL (Eppendorf) yang siap untuk dilisis dalam volume akhir 300 µL dengan metode Maniatis (Sambrook *et al.*,1989). Sampel diambil secara acak dari dua puluh manusia suku Sunda dari keempat wilayah yang masih mempertahankan budaya Sunda yaitu kampung Baduy, Ciptagelar, Kuta, dan Dukuh (lima sampel mtDNA dari setiap wilayah yang tidak mempunyai riwayat maternal).

### **Amplifikasi Templat dengan PCR**

Pada penelitian ini amplifikasi 0,4 kb daerah D-loop dilakukan dengan PCR menggunakan sepasang primer M<sub>1</sub>/M<sub>2</sub>. Primer M<sub>1</sub> mempunyai urutan

5'CACCATTAGCACCCAAAGCT3' (untai L posisi nukleotida 15.978-15.997), sedangkan primer M<sub>2</sub> mempunyai urutan 5'GATTTACGGAGGATGGTG3' (untai H posisi nukleotida 16.419-16.401). Hasil PCR dielektroforesis dengan penghantar arus pada tegangan 75 volt selama 45 menit, sebagai *marker* digunakan adalah pUC19/*Hinf*I (Amersham life science). Hasil elektroforesis divisualisasi dengan lampu UV seri 9814-312 nm (cole parmer) (Sambrook *et al.*,1989).

### **Sequencing**

*Sequencing* dilakukan dengan metode Dideoksi Sanger menggunakan *Automatic DNA sequencer* yang berdasarkan pada metode *Dye terminator labeling* dengan bahan dan zat pereaksi dari *ABI PRISM Dye terminator cycle sequencing ready reaction kit* (Perkin Elmer). Tahapan *sequencing* DNA yang dilakukan pada penelitian ini meliputi : (1) penyiapan DNA templat hasil PCR dimurnikan dengan GFX kit (*GFX<sup>TM</sup> PCR DNA and Gel Band Purification kit*), (2) proses amplifikasi melalui PCR dengan menggunakan primer M<sub>1</sub>/M<sub>2</sub> untuk reaksi amplifikasinya, (3) pemurnian DNA dengan kolom sephadex G-50 menggunakan kit kolom sephadex G-50 (*Sephadex G-50 DNA Grade F-Micro spin TM G-50 columns*), (4) elektroforesis pada gel poliakrilamida, dan (5) pembacaan elektroforegram hasil sekuensing (Perkin Elmer, 1995).

### **Analisis Urutan Nukleotida mtDNA Hasil Sequencing**

Analisis data urutan nukleotida 0,4 kb D-loop mtDNA hasil *sequencing* dilakukan dengan menggunakan program komputer DNASTar-versi 4,00. Setiap sampel dianalisis homologi terhadap urutan nukleotida yang sudah ada yaitu urutan *Cambridge*, manusia Indonesia dari sembilan suku, dan data *mitomap* ([www.gen.emory.edu/mitomap.html](http://www.gen.emory.edu/mitomap.html)). Hasil homologi tersebut dapat diketahui adanya sisi-sisi nukleotida baik yang bersifat monomorfik (tanpa mutasi) maupun yang bersifat polimorfik (terjadi mutasi).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Data Fisik Keseluruhan Individu**

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara pengisapan kertas saring oleh 20 individu yang berasal dari suku Sunda, yaitu dari kampung Kuta, Baduy, Dukuh, dan Ciptagelar serta tidak mempunyai hubungan kekerabatan segaris keturunan ibu. Kampung-kampung asli tersebut dipilih karena masih melestarikan budaya asli suku Sunda. Salah satu peraturan adat masyarakatnya yang sangat mendukung penelitian ini adalah tidak adanya perkawinan campuran dengan masyarakat luar atau sistem perkawinan endogami (Ekadjati, 1984 dan Djoewisno, 1988). Data keseluruhan individu sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

**Analisis Urutan Nukleotida Daerah Hipervariabel I (HVI) DNA Mitokondria Untuk Menentukan Motif Populasi Suku Sunda (Iman P. Maksum)**

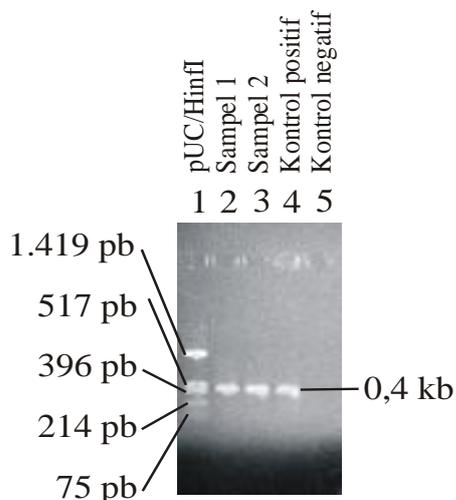
**Tabel 1.** Data Keseluruhan Individu Sampel

Kode Sampel	Jenis Kelamin	Usia	Kampung
W	Perempuan	25 tahun	Kuta
R	Perempuan	23 tahun	Kuta
K	Perempuan	38 tahun	Kuta
M	Perempuan	22 tahun	Kuta
S	Laki-laki	40 tahun	Kuta
Nd	Laki-laki	25 tahun	Baduy Luar
Alsn	Laki-laki	40 tahun	Baduy Luar Baduy
JR12	Laki-laki	60 tahun	Dalam
JL	Laki-laki	20 tahun	Baduy Dalam
Sar	Laki-laki	18 tahun	Baduy Dalam
E 1	Perempuan	20 tahun	Dukuh
E 4	Laki-laki	67 tahun	Dukuh
E 9	Perempuan	37 tahun	Dukuh
E 11	Perempuan	80 tahun	Dukuh
E 15	Perempuan	40 tahun	Dukuh
Ruh	Laki-laki	20 tahun	Ciptagelar
Esh	Perempuan	20 tahun	Ciptagelar
Entg	Laki-laki	66 tahun	Ciptagelar
Abh	Laki-laki	38 tahun	Ciptagelar
Ensh	Perempuan	30 tahun	Ciptagelar

Hasil pengumpulan sampel berupa sel-sel epitel rongga mulut yang melekat pada kertas saring ukuran 2 x 2 cm<sup>2</sup>, selanjutnya dipotong kecil-kecil dan hasil pemotongannya dilisis dengan metode Maniatis (Sambrook *et al.*, 1989). Filtrat hasil lisis merupakan templat DNA untuk proses PCR.

**Fragmen Hasil PCR**

Proses PCR dilakukan untuk mengamplifikasi 0,4 kb gen D-loop dengan menggunakan sepasang primer M<sub>1</sub> dan M<sub>2</sub>. Hasil PCR dianalisis dengan elektroforesis gel agarosa 1,2% (b/v), sebagai standar digunakan plasmid pUC19/*Hinf*I. Semua sampel memberikan hasil amplifikasi fragmen berukuran sekitar 0,4 kb yang terletak di antara pita 517 pb dan pita 396 pb standar pUC19/*Hinf*I (Gambar 2).



**Gambar 2.** Fragmen hasil PCR. Fragmen 0,4 kb mtDNA yang diamplifikasi dengan menggunakan primer  $M_1$  dan  $M_2$  ditunjukkan pada lajur 2 dan 3. Penampakan hasil analisis dengan cara elektroforesis gel agarosa 1,2%, sebagai standar ukuran DNA digunakan pUC19/*Hinf*I (pada lajur 1) yang menghasilkan 5 fragmen dengan ukuran masing-masing 1419 pb, 517 pb, 397 pb, 214 pb, dan 75 pb. Kontrol positif dan negatif proses PCR ditunjukkan pada lajur 4 dan 5.

### Analisis Homologi

*Sequencing* fragmen PCR 0,4 kb daerah D-loop mtDNA manusia suku Sunda dilakukan dengan metode *Dideoksi Sanger* menggunakan *Automatic DNA Sequencer* yang berdasarkan pada metode *Dye Terminator Labeling*. *Sequencing* 0,4 kb fragmen hasil PCR dilakukan dengan menggunakan fragmen hasil amplifikasi secara langsung tanpa melalui proses kloning, proses tersebut disebut *direct sequencing*. Metode ini digunakan, karena prosesnya cepat dan hasilnya merupakan urutan nukleotida dominan dari DNA hasil amplifikasi PCR. Kekurangan metode ini adalah tidak dapat menentukan mutasi yang tidak dominan seperti mutasi heteroplasm. Daerah pembacaan urutan nukleotida hasil *sequencing* dua puluh sampel adalah daerah HV I (D-loop mtDNA) karena daerah HV I berada di antara 15971-16414.

Hasil Homologi urutan nukleotida dua puluh manusia suku Sunda dengan urutan *Cambridge* ditunjukkan pada Tabel 2. Analisis homologi dengan urutan *Cambridge* menunjukkan adanya 42 varian yang terdiri atas 39 mutasi substitusi dan tiga mutasi delesi. Aturan penulisan mutasi yaitu nukleotida pertama adalah nukleotida *Cambridge* sedangkan nukleotida yang kedua adalah nukleotida

**Analisis Urutan Nukleotida Daerah Hipervariabel I (HVI) DNA Mitokondria Untuk Menentukan Motif Populasi Suku Sunda (Iman P. Maksum)**

manusia suku Sunda. Misalnya, t(16136)C berarti pada posisi ke-16136 mtDNA manusia, t dari *Cambridge* dan C dari suku Sunda.

39 mutasi substitusi merupakan 28 mutasi transisi (substitusi basa purin dengan basa purin atau basa pirimidin dengan basa pirimidin), serta sisanya merupakan 11 mutasi transversal (substitusi basa purin dengan basa pirimidin atau sebaliknya). Hasil penelitian ini mengindikasikan, bahwa jumlah mutasi transisi lebih besar kemungkinannya dari mutasi transversal. Data ini didukung oleh beberapa hasil penelitian dari Horai *et al.*, (1990), Greenberg *et al.*, (1983) dan Aquadro *and* Greenberg (1983). Varian-varian pada daerah D-loop mtDNA dari suku Sunda ini dapat dijadikan karakteristik untuk menentukan identitas seseorang atau studi forensik (Moore, 1999 ; Orrego *and* King, 1990).

**Tabel 2.** Data keseluruhan varian yang diperoleh dari dua puluh sampel masyarakat suku Sunda (Baduy, Kuta, Dukuh, dan Ciptagelar).

Kampung	Kode sampel	Varian	Varian baru
Baduy	Nd (Baduy1)	t(16136)C, c(16223)T, c(16257)A, c(16261)T, c(16292)T, c(16294)T	t(16045)A
	Alsn (Baduy2)	c(16108)T, g(16129)A, a(16162)G, t(16172)C, a(16293)C, t(16304)C	
	JR12 (Baduy3)	t(16045)A, t(16136)C, t(16172)C, a(16194)C, t(16195)C	
	JL (Baduy4)	t(16136)C	
	Sar (Baduy5)	t(16136)C, c(16223)T, c(16257)A, c(16261)A, c(16292)T, c(16294)T	
Kuta	W (Kuta4)	c(16108)T, g(16129)A, a(16162)G, t(16172)C	g(16118)A
	K (Kuta5)	t(16140)C, a(16183)C, c(16188)T, t(16189)C	
	S (Kuta1)	g(16118)A, c(16142)T, a(16185)-, c(16186)-, g(16213)A	
	M (Kuta2)	t(16140)C, a(16183)C,	
	R (Kuta3)	a(16177)C, a(16182)C, c(16185)T, t(16189)C	
Dukuh	E1 (duhuh3)	t(16126)C, t(16231)C	
	E9 (dukuh2)	t(16135)A, c(16223)T, c(16257)A, c(16261)T	
	E11 (dukuh5)	a(16158)G, c(16223)T, c(16234)T, a(16305)G	
	E4 (dukuh4)	t(16126)C, t(16231)C, t(16311)C, t(16357)C	

Kampung	Kode sampel	Varian	Varian baru
Ciptagelar	E15 (dukuh1)	g(16110)C, g(16156)C, t(16209)C	g(16110)C g(16156)C
	Abh (Ciptagelar1)	c(16193)T, c(16223)T, c(16344)T	
	Entg (Ciptagelar2)	c(16108)T, g(16129)A, a(16162)G, t(16172)C, c(16261)T, t(16304)C c(16365)-	c(16365)-
	Ruh (Ciptagelar3)	g(16129)A, t(16172)C, t(16304)C	
	Esh (Ciptagelar4)	t(16136)C	
	Ensh (Ciptagelar5)	t(16136)C, c(16261)T, c(16223)T c(16257)A, c(16292)T, c(16294)T t(16325)C	

Apakah 42 mutasi yang terdapat pada Tabel 2 tersebut merupakan mutasi baru. Untuk menjawab pertanyaan itu harus dibandingkan dengan urutan nukleotida D-loop mtDNA manusia lainnya, khususnya manusia Indonesia, yaitu dihomologikan dengan individu-individu dari sembilan suku di Indonesia yang sudah masuk di *Gen bank* (Raharjo, 1998 ; Puspasari, 1998 ; Gaffar, 1998) dan dengan data mutasi yang terdapat di *mitomap* ([www.mitomap.org](http://www.mitomap.org)). Hasil homologi menunjukkan adanya enam varian baru, yaitu t(16045)A, g(16118)A, a(16177)C, g(16110)C, g(16156)C serta delesi nukleotida c pada posisi 16365 sedangkan yang lainnya adalah merupakan mutasi lama.

Penelitian lain menyatakan adanya motif yang khas untuk populasi Asia dan Pasifik yang disebut dengan motif Polinesia (Handoko *et al.*, 2001). Motif Polinesia ini adalah tiga transisi pada daerah HV I (D-loop) mtDNA, yaitu dari timin (t) ke sitosin (C) pada nukleotida 16217, dari adenin (a) ke guanin (G) pada nukleotida 16247 dan dari sitosin (c) ke timin (T) pada nukleotida 16261, yang ditemukan bersama dengan delesi 9 pasang basa pada daerah antar gen COII dan tRNA<sup>Lys</sup>. Huruf kecil menyatakan urutan nukleotida yang sama dengan urutan *Cambridge* sedangkan huruf kapital menyatakan terjadinya mutasi. Sumber delesi 9 pb dan transisi pada posisi 16217 kemungkinan besar adalah di daerah Cina dan Asia Tenggara. Selanjutnya terjadi transisi pada posisi 16261, kemungkinan di Taiwan yang kemudian menyebar ke Filipina dan Indonesia sekitar 6000 tahun yang lalu. Mereka memperkirakan transisi ke tiga pada 16247 terjadi baru-baru ini (dalam skala evolusi) di bagian timur Indonesia (Handoko *et al.*, 2001; Melton *et al.*, 1995; Redd *et al.*, 1995). Penemuan motif Polinesia ini menghasilkan empat haplotip baru, yaitu haplotip Cac (terjadi mutasi pada urutan 16217), CaT (terjadi mutasi pada 16217 dan 16261), taT (terjadi mutasi pada 16261) dan CGT (terjadi mutasi pada 16217, 16247 dan 16261), sebagai tambahan terhadap haplotip asli (haplotip yang sesuai dengan urutan *Cambridge*), yaitu tac.

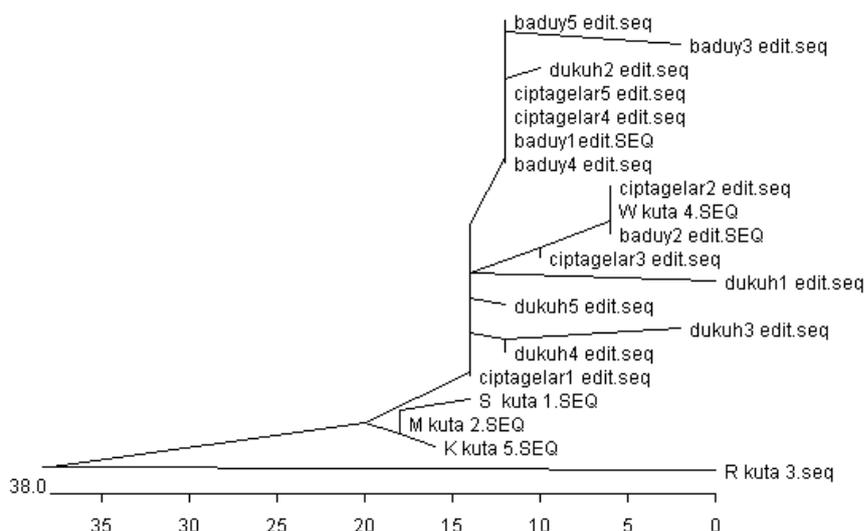
## Analisis Urutan Nukleotida Daerah Hipervariabel I (HVI) DNA Mitokondria Untuk Menentukan Motif Populasi Suku Sunda (Iman P. Maksum)

---

Dari dua puluh sampel yang telah dianalisis didapatkan dua haplotip, yaitu haplotip tac dan taT. Adanya haplotip asli (tac) dan taT pada sampel masyarakat suku Sunda mengindikasikan, bahwa nenek moyang suku Sunda yang membawa haplotip tac telah menempati kepulauan Indonesia yang selanjutnya mengalami evolusi dengan menghasilkan mutasi baru pada posisi 16261 membentuk haplotip taT. Asumsi evolusi ini perlu ditingkatkan keyakinannya dengan melakukan penelitian berikutnya dengan sampel yang lebih banyak disertai penelitian pada daerah antar gen COII dan tRNA<sup>Lys</sup> untuk membuktikan adanya delesi 9 pb dan analisis PCR RFLP dengan enzim *DdeI* dan *AluI* sebagai marka genetik Asia, sehingga didapatkan *database* genetik suku Sunda yang lebih lengkap.

Pohon filogenetik dan tingkat homologi dapat dibuat dengan membandingkan urutan nukleotida di antara kedua puluh sampel manusia suku Sunda dengan menggunakan fasilitas pohon filogenetik dan tingkat homologi dapat dibuat dengan membandingkan urutan nukleotida di antara kedua puluh sampel manusia suku Sunda dengan menggunakan fasilitas dari *Megalign DNASTAR*. Pohon filogenetik dari kedua puluh sampel manusia suku Sunda (ditunjukkan pada Gambar 3) dapat menjelaskan suatu kesimpulan sementara mengenai jalur evolusi dan migrasi manusia suku Sunda yang diwakili oleh keempat kampung (kampung Baduy, Kuta, Ciptagelar, dan Dukuh). Beberapa individu dari kampung Kuta yaitu Kuta2, Kuta5 dan Kuta1 (individu termuda dengan munculnya mutasi g(16118)A) merupakan individu-individu tertua yang kemudian berevolusi menghasilkan dua kelompok besar yang sejalan dengan evolusi haplotip tac menjadi tac dan taT. Kelompok pertama yaitu haplotip tac, terdiri atas E4 (dukuh4), E11 (dukuh5), Abh (Ciptagelar1) serta E1(dukuh3), selanjutnya haplotip tac berevolusi lagi membentuk haplotip tac dari Ruh (Ciptagelar3), serta haplotip pembauran antara tac dari W (Kuta4) dan Alsn (Baduy2) serta haplotip tat dari Entg (Ciptagelar2) yang muncul paling muda dengan ditemukannya mutasi baru yaitu delesi basa c pada posisi 16365. Kelompok kedua adalah haplotip tat, terdiri atas Nd (Baduy5), Sar (Baduy1), E9 (dukuh2), Esh (Ciptagelar4) serta Ensh (Ciptagelar5). Empat mutasi baru muncul sebagai individu-individu termuda yaitu t(16045)A pada Baduy 3, g(16110)C dan g(16156)C pada Dukuh1 serta a(16177)C pada Kuta3.

Tingkat homologi urutan nukleotida berkisar antara 91,5-100%. Hal tersebut menunjukkan, bahwa kedua puluh sampel tersebut masih mempunyai hubungan kekerabatan yang cukup berdekatan yang berasal dari satu garis keturunan ibu. Tetapi kalau dilihat dari aspek geografis data dari data pohon filogenetik menunjukkan dugaan sementara pola migrasi masyarakat Sunda asli dimulai dari arah timur ke barat. Benarkah seperti itu? Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut dengan mencari data dari kampung asli yang lainnya seperti Naga dan Sumedang Larang serta jumlah sampel setiap kampungnya perlu ditambah.



**Gambar 3.** Pohon filogenetik. Dibuat dengan membandingkan urutan nukleotida di antara kedua puluh sampel manusia suku Sunda dengan menggunakan fasilitas dari *Megalign DNASTAR*.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil homologi urutan nukleotida dua puluh manusia suku Sunda dengan urutan *Cambridge* ditemukan 42 varian yang terdiri atas 39 mutasi substitusi (28 mutasi transisi dan 11 mutasi transvers) dan tiga mutasi delesi. Hasil homologi dengan individu-individu dari sembilan suku di Indonesia yang sudah masuk di *Gen bank* dan dengan data mutasi yang terdapat di *mitomap* ([www.mitomap.org](http://www.mitomap.org)) menunjukkan adanya enam varian baru, yaitu t(16045)A, g(16118)A, a(16177)C, g(16110)C, g(16156)C serta delesi nukleotida c pada posisi 16365, sedangkan yang lainnya adalah merupakan mutasi lama.
2. Dari 20 sampel yang telah dianalisis didapatkan dua haplotip, yaitu haplotip tac dan taT. Yang mengindikasikan, bahwa nenek moyang suku Sunda yang membawa haplotip tac telah menempati kepulauan Indonesia yang selanjutnya mengalami evolusi dengan menghasilkan mutasi baru pada posisi 16261 membentuk haplotip taT.
3. Dari analisis pohon filogenetik didapatkan, bahwa sampel Kuta2, Kuta5 dan Kuta1 merupakan individu-individu yang tertua secara evolusi yang kemudian, berevolusi dan bermigrasi menghasilkan dua kelompok besar yang sejalan

## **Analisis Urutan Nukleotida Daerah Hipervariabel I (HVI) DNA Mitokondria Untuk Menentukan Motif Populasi Suku Sunda (Iman P. Maksam)**

---

dengan evolusi haplotip tac menjadi tac dan taT. Menggambarkan pola migrasi dari arah timur.

4. Tingkat homologi urutan nukleotida di antara kedua puluh sampel manusia suku Sunda dengan menggunakan fasilitas *Megalign DNASTAR* berkisar antara 91,5–100%.

### **Saran**

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, maka sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian selanjutnya dapat disarankan:

1. Perlu dilakukan penelitian serupa yang lebih lengkap dengan menambah jumlah sampel yang dianalisis dari suatu lokasi tertentu dan memperbanyak titik lokasi pengambilan sampel agar data yang diperoleh dapat lebih mewakili suku Sunda secara keseluruhan.
2. Perlu dilakukan analisis delesi 9 pb dan analisis dengan enzim restriksi *AluI* dan *DdeI* untuk menentukan keberadaan haplotipe Asia-pasifik.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penelitian ini didanai oleh *Project Grant* QUE Project Jurusan Kimia FMIPA Unpad dan DIKS Unpad. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada pimpinan Universitas Padjadjaran, Ketua Lembaga Penelitian Unpad, Dekan FMIPA Unpad, Ketua Jurusan Kimia serta Kepala Laboratorium dan seluruh staf Laboratorium Kimia Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Unpad yang telah membantu terlaksananya penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan kepada Wawan Kosasih dan mahasiswa-mahasiswa bimbingan atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian ini.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Anderson, S., Bankier, A.T., de Barrell, B.G., de Bruijn, M.H., Coulson, A.R., Drouin, J., Eperon, I.C., Nierlich, D.P., Roe, B.A., Sanger, F., Screier, p.H., Smith, A.J., Staden, R., and Young, I.G. (1981) Sequence and organization of the human mitochondrial genome, *Nature* 290 (5806); 457 – 465.
- Aquadro, C.F. and Greenberg, B.D. (1983) Human mitochondrial DNA variation and evolution; analysis of nucleotide sequences from seven individuals. *Genet* 103; 287 – 312.
- Djoewisno. (1988). Potret kehidupan masyarakat Baduy. Edisi ke-2. Jakarta : Khas Studio.
- Ekadjati, E. S. (1984). Masyarakat Sunda dan kebudayaannya. Edisi ke-1. Jakarta : P. T. Karya Nusantara.

- Gaffar, S., (1998) Varian normal fragmen 0,4 kb daerah D-loop DNA mitokondria manusia Indonesia. Tesis, Bidang Studi Magister Kimia Program Pascasarjana, ITB.
- Greenberg, B.D., Newbold, J.E., Sugino, A., (1983) Intraspecific nucleotide sequence variability surrounding the origin of replication in human mitochondrial DNA, *Gene*, 21: 33-49.
- Handoko, H.Y., Lum J.K., Gustiani, Rismalia, Kartapradja, H., Salam A.M.S., Marzuki, S., (2001). Length Variations in the COII-tRNA<sup>Lys</sup> Intergenic region of mitochondrial DNA in Indonesian populations. *Human Biology*, 73 (2): 205-223.
- Horai, S., and Hayasaka, K., (1990) Intraspecific nucleotide sequence differences in the major noncoding region of human mitochondrial DNA. *Am. J. Hum. Genet.* 46, 828-842.
- Melton, T., Peterson, R., Redd, A.J., Saha, N., Sofro, A.S., Martinson, J., Stoneking, M., (1995). Polynesian genetic affinities with Southeast Asian populations as identified by mtDNA analysis. *Am. J. Hum. Genet.*, 57: 403-414.
- Moore, J.M., Isenberg, A.R., (1999). Mitochondrial DNA analysis of the FBI laboratory, *Forensic Science Communication*, 1 (2).
- Orrego, C., and King, M.C., (1990). Determination of familial relationships, di dalam PCR protocols a guide to methods and application, Academic press, Inc. San Diego, California, USA.
- Puspasari, F. (1998) Substitusi enam nukleotida daerah gen ND4, ND5 DNA mitokondria manusia Indonesia, Tesis, Bidang Studi Magister Kimia Kimia Program Pascasarjana, ITB.
- Rachmayanti, Y., (2000) Urutan nukleotida 443 Pb daerah D-loop DNA mitokondria individu-individu Indonesia segaris keturunan ibu, Tesis, Bidang Studi Magister Kimia Prgram Pascasarjana, ITB.
- Raharjo, T.J. (1998) Urutan nukleotida fragmen 0,9 Kb (5274-6203) DNA mitokondria manusia Indonesia, Tesis, Bidang Studi Magister Kimia Program Pascasarjana, ITB.
- Reed, A.J., Takezaki, N., Sherry, S.T., McGarvey, S.T., Sofro, A.S., Stoneking, M., (1995) Evolutionary history of COII/tRNA<sup>Lys</sup> intergenic 9 base pair deletion in human mitochondrial DNAs from the Pasific. *Mol. Biol. Evol.*, 12:604-615.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: A laboratory manual*, Vol. 1,2,3 Cold Spring Harbor Laboratory Press new York.
- Stoneking, M., Hedgecock, D., Higuuchi, R., Vigilant, L., and Erlich, H.A., (1991) Population variation of human mtDNA control region sequences detected by

**Analisis Urutan Nukleotida Daerah Hipervariabel I (HVI) DNA Mitokondria Untuk Menentukan Motif Populasi Suku Sunda (Iman P. Maksum)**

---

enzymatic amplification and sequence-specific oligonucleotide. *Am. J. Hum. Genet.*, 48 (2): 370-382.

Suama, I.W., (2001) Analisis urutan nukleotida 0,3 Kb gen ND2 dan gen COI DNA mitokondria manusia Indonesia , Tesis, Bidang khusus Genetika dan Biologi Molekul, Jurusan Biologi, Program Pascasarjana, ITB, 2001.