

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Kecerdasan

#### 1. Definisi Kecerdasan Intelektual

Kemampuan intelektual adalah kemampuan yang diperlukan untuk menjalankan kegiatan mental, berpikir, menalar dan memecahkan masalah. *Intelligence Quotient Test* (Tes IQ), misalnya dirancang untuk memastikan kemampuan intelektual umum seseorang. Demikian juga tes saringan masuk perguruan tinggi yang populer seperti SAT dan ACT serta tes masuk S2 dalam bisnis (GMAT), hukum (SAT), dalam kedokteran (MCAT). Terdapat perbedaan tuntutan pekerjaan bagi karyawan untuk mengimplementasikan kemampuan intelektualnya. Semakin rumit pekerjaan yang diemban maka karyawan tersebut tentu saja IQ-nya harus semakin tinggi. Berbicara secara umum, semakin banyak tuntutan informasi dalam suatu pekerjaan, semakin banyak kecerdasan intelektual diperlukan untuk menghasilkan pekerjaan yang maksimal (Robbins, 2001).

William Stern dalam Ngalim Purwanto (2007) mengemukakan intelegensi adalah kesanggupan untuk menyesuaikan diri kepada kebutuhan baru

dengan menggunakan alat-alat berpikir yang sesuai tujuannya. Seorang ilmuwan dari Amerika adalah orang yang membuat tes intelegensi WAIS dan WISC yang banyak digunakan di seluruh dunia. Ia mengemukakan bahwa intelegensi adalah kemampuan global yang dimiliki oleh individu agar bisa bertindak secara terarah dan berpikir secara bermakna serta bisa berinteraksi dengan lingkungan secara efisien (Anastasi dan Urbina, 2001).

Spearman mengelompokan inteligensi ke dalam dua kategori. Kategori yang pertama adalah *g (general)* faktor atau biasa disebut dengan kemampuan kognitif yang dimiliki individu secara umum, misalnya kemampuan mengingat dan berpikir. Kategori yang kedua disebut dengan *s (specific)* faktor yaitu merupakan kemampuan khusus yang dimiliki individu (Eysenck, 2001). *G* faktor lebih merupakan potensi dasar yang dimiliki oleh setiap orang untuk belajar dan beradaptasi. Inteligensi ini dipengaruhi oleh faktor bawaan. Faktor *s* merupakan inteligensi yang dipengaruhi oleh lingkungan, sehingga faktor *s* yang dimiliki oleh orang yang satu akan berbeda dengan orang yang lain.

Setiap faktor *s* pasti mengandung faktor *g*. Istilah inteligensi digunakan dengan pengertian yang luas dan bervariasi, tidak hanya oleh masyarakat umum tetapi juga oleh anggota-anggota berbagai disiplin ilmu. Anastasia (2001) mengatakan IQ adalah ekspresi dari tingkat kemampuan individu pada saat tertentu, dalam hubungan dengan norma usia yang ada sehingga intelegensi bukanlah kemampuan tunggal, tetapi merupakan kumpulan dari

berbagai fungsi. Istilah ini umumnya digunakan untuk mencakup gabungan kemampuan-kemampuan yang diperlukan untuk bertahan dan maju dalam budaya tertentu. Kemampuan intelektual ini dapat diukur dengan suatu alat tes yang biasa disebut IQ.

Pengukuran kecerdasan intelektual tidak dapat diukur hanya dengan satu pengukuran tunggal. Para peneliti menemukan bahwa tes untuk mengukur kemampuan kognitif tersebut yang utama adalah dengan menggunakan tiga pengukuran, yaitu kemampuan verbal, kemampuan matematika, dan kemampuan ruang (Moustafa dan Miller, 2003). Pengukuran lain yang termasuk penting seperti kemampuan mekanik, motorik dan kemampuan artistik tidak diukur dengan tes yang sama, melainkan dengan menggunakan alat ukur yang lain. Hal ini berlaku pula dalam pengukuran motivasi, emosi dan sikap (Moustafa dan Miller, 2003). Penelitian yang pernah dilakukan oleh Wiramiharja (2003) menemukan bahwa kecerdasan intelektual dan kecerdasan emosional yang lebih bersifat kognitif memiliki korelasi positif yang bersifat signifikan dengan kinerja karyawan.

Kinerja kerja seseorang dapat diprediksi berdasarkan seberapa besar orang tersebut memiliki g faktor. Seseorang yang memiliki kemampuan g faktor maka kinerjanya dalam melaksanakan suatu pekerjaan juga akan lebih baik, meskipun demikian kemampuan s juga berperan penting dalam memprediksi bagaimana kinerja seseorang yang dihasilkan. Atas dasar berbagai pandangan tersebut dapat dinyatakan bahwa intelegensi adalah

kecerdasan seseorang untuk memecahkan masalah pada umumnya. Intelegensi sebagian besar tergantung pada turunan. Pendidikan atau lingkungan tidak begitu berpengaruh kepada intelegensi seseorang. Warterik seorang Mahaguru di Amsterdam, menyatakan bahwa menurut penyelidikannya belum dapat dibuktikan bahwa intelegensi dapat dilatih. Belajar berpikir hanya diartikannya bahwa kekuatan berpikir bertambah baik.

Pendapat-pendapat baru membuktikan bahwa intelegensi pada karyawan yang lemah pikiran dapat juga dididik dengan cara yang lebih tepat. Kenyataan membuktikan bahwa daya pikir yang telah mendapat didikan dari sekolah, menunjukkan sifat-sifat yang lebih baik daripada anak yang tidak bersekolah. Pada umumnya siswa IQ rendah memiliki tingkat partisipasi yang rendah dalam pembelajaran dan sebaliknya siswa dengan IQ tinggi memiliki partisipasi yang tinggi. Hal ini berpengaruh terhadap pencapaian prestasi belajarnya.

Dari batasan yang dikemukakan di atas, dapat kita ketahui bahwa intelektual itu ialah faktor total berbagai macam daya jiwa erat bersangkutan di dalamnya termasuk ingatan, fantasi, perasaan, perhatian, minat, dan sebagainya. Kita hanya dapat mengetahui intelegensi dari tingkah laku atau perbuatannya yang tampak. Intelegensi hanya dapat kita ketahui dengan cara tidak langsung, melalui kelakuan intelektualnya.

Tujuh dimensi menurut Robbins (2001) dalam kecerdasan intelektual adalah:

1. Kecerdasan angka

Merupakan kemampuan untuk menghitung dengan cepat dan tepat.

2. Pemahaman verbal

Merupakan kemampuan memahami apa yang dibaca dan didengar.

3. Kecepatan persepsi

Merupakan kemampuan mengenali kemiripan dan beda visual dengan cepat dan tepat.

4. Penalaran induktif

Merupakan kemampuan mengenali suatu urutan logis dalam suatu masalah dan kemudian memecahkan masalah itu.

5. Penalaran deduktif

Merupakan kemampuan menggunakan logika dan menilai implikasi dari suatu argument.

6. Visualisasi spasial

Merupakan kemampuan membayangkan bagaimana suatu obyek akan tampak seandainya posisinya dalam ruang dirubah.

7. Daya ingat

Merupakan kemampuan menahan dan mengenng kembali pengalaman masa lalu.

## 2. Perbuatan Intelektual

Intelegensi tidak dapat diamati secara langsung, melainkan harus disimpulkan dari berbagai tindakan nyata yang merupakan kesimpulan dari proses berpikir rasional. Suatu perbuatan dapat dianggap intelektual bila memenuhi beberapa syarat antara lain:

1. Masalah yang dihadapi banyak sedikitnya merupakan masalah yang baru bagi yang bersangkutan.
2. Perbuatan intelektual sifatnya serasi, memiliki tujuan dan ekonomis.
3. Masalah yang dihadapi harus mengandung suatu tingkat kesulitan bagi yang bersangkutan.
4. Keterangan pencapaiannya harus dapat diterima oleh masyarakat.
5. Dalam berbuat intelektual sering kali menggunakan daya mengabstraksikan.
6. Perbuatan intelektual bercirikan kecepatan, membutuhkan pemusatan perhatian dan menghindarkan perasaan yang mengganggu jalannya pemecahan masalah yang sedang dihadapi.

Ngalim Purwanto (2007) menyebutkan faktor-faktor yang mempengaruhi intelegensi yaitu kematangan organ tubuh dan pembentukan dari lingkungan. Minat dan pembawaan yang khas serta kebebasan memilih metode dalam memecahkan masalah juga dapat mempengaruhi intelegensi seseorang.

a. Pembawaan

Pembawaan ditentukan oleh sifat-sifat dan ciri-ciri yang dibawa sejak lahir. Batas kemampuan kita dalam memecahkan permasalahan, pertama ditentukan oleh pembawaan kita. Orang ada yang pintar dan ada yang bodoh meskipun menerima latihan yang sama perbedaan itu masih tetap ada.

b. Kematangan

Tiap orang dalam tubuh manusia mengalami pertumbuhan dan perkembangan. Tiap organ dapat dikatakan telah matang jika ia telah mencapai kesanggupan menjalankan fungsinya masing-masing. Anak-anak tidak dapat memecahkan soal-soal tertentu karena soal tersebut masih terlampaui sukar baginya. Organ tubuh dan fungsi jiwanya belum matang untuk memecahkan masalah itu. Kematangan erat hubungannya dengan usia.

c. Pembentukan

Pembentukan adalah segala keadaan diluar diri seseorang yang mempengaruhi perkembangan intelegensi. Pembentukan ada dua macam, yaitu yang disengaja seperti yang dilakukan di sekolah dan tidak sengaja, yaitu pengaruh alam sekitar.

d. Minat dan pembawaan yang khas

Minat mengarahkan perbuatan kepada suatu tujuan dan merupakan dorongan bagi perbuatan itu. Dalam diri manusia terdapat motif-motif yang mendorong manusia untuk berinteraksi dengan dunia luar, yaitu

motif menggunakan dan menyelidiki dunia luar (*manipulate and exploring motives*).

e. Kebebasan

Kebebasan mengandung makna bahwa manusia dapat memilih metode-metode tertentu dalam memecahkan masalah. Dengan kebebasan manusia dapat menentukan dan mengembangkan cara berfikirnya secara cepat dan yang mereka anggap akurat. Keterbelakangan, pengekan akan mempengaruhi intelektual seseorang.

### **3. *Intelligence Quotient Test (Tes IQ)***

IQ hanya memberikan sedikit indikasi mengenai taraf kecerdasan seseorang dan tidak menggambarkan kecerdasan seseorang secara keseluruhan. Indeks Kecerdasan atau skor IQ mula-mula diperhitungkan dengan membandingkan umur mental (*Mental Age*) dengan umur kronologik (*Chronological Age*). Bila kemampuan individu dalam memecahkan persoalan-persoalan yang disajikan dalam tes kecerdasan (umur mental) tersebut sama dengan kemampuan yang seharusnya ada pada individu seumur dia pada saat itu (umur kronologi), maka akan diperoleh skor 1. Skor ini kemudian dikalikan 100 dan dipakai sebagai dasar perhitungan IQ, tetapi kemudian timbul masalah karena setelah otak mencapai kematangan, tidak terjadi perkembangan lagi, bahkan pada titik tertentu akan terjadi penurunan kemampuan.



Dengan membandingkan IQ seseorang dengan suatu normal klasifikasi akan dapat diketahui apakah orang tersebut termasuk dalam kelompok mereka yang memiliki kapasitas intelektual superior atau tidak. Penetapan pembatas angka IQ berbeda-beda karena perbedaan tes IQ yang digunakan dan perbedaan kepentingan dari hasil klasifikasi tersebut (Azwar, 2006). Salah satu tes IQ yang digunakan adalah *Test Culture Fair Intelligence (C.F.I.T)*, terdiri dari tiga skala yang disusun oleh Raymond B. Cattell dan sejumlah staf penelitian dari *Institute of Personality and Ability Testing (I.P.A.T)* di Universitas Illinois, Amerika Serikat. Tes ini digunakan subyek berusia antara 13 tahun sampai dewasa.

Menurut teori "*Fluid and Crystallized Ability*" dari Raymond B. Cattell, tes ini untuk mengukur *Fluid Ability* yaitu yang dibawa seseorang sejak lahir. Di dalam perkembangannya terbentuklah *Crystallized Ability* yaitu faktor-faktor kemampuan yang diperoleh dari lingkungan disekitar dirinya. Sampai seberapa jauh peranan *Crystallized Ability* seseorang adalah tergantung dari potensi *Fluid Ability* yang dimilikinya.

#### **4. Klasifikasi Kecerdasan Manusia**

Menurut Howard Gardner, seorang psikolog terkemuka dari Universitas Harvard, menyatakan ada delapan kecerdasan yang dimiliki oleh manusia, diantaranya adalah:

a. Kecerdasan linguistik

Orang yang memiliki kecerdasan ini merupakan seseorang yang pandai mengolah kata-kata saat berbicara maupun menulis.

b. Kecerdasan matematik atau logika

Tipe kecerdasan ini adalah orang yang memiliki kecerdasan dalam hal angka dan logika. Mereka mudah membuat klasifikasi dan kategorisasi, berpikir dalam pola sebab akibat, menciptakan hipotesis, dan pandangan hidupnya bersifat rasional.

c. Kecerdasan spasial

Mereka yang termasuk ke dalam tipe ini memiliki kepekaan tajam untuk visual, keseimbangan, warna, garis, bentuk, dan ruang. Selain itu, mereka juga pandai membuat sketsa ide dengan jelas.

d. Kecerdasan kinetik dan jasmani

Orang tipe ini mampu mengekspresikan gagasan dan perasaan. Mereka menyukai olahraga dan berbagai kegiatan yang mengandalkan fisik.

e. Kecerdasan musikal

Mereka yang termasuk ke dalam tipe ini mampu mengembangkan, mengekspresikan, dan menikmati bentuk musik dan suara. Ciri-ciri orang yang memiliki kecerdasan musikal yaitu suka bersiul, mudah menghafal nada lagu yang baru didengar, menguasai salah satu alat musik tertentu, peka terhadap suara sumbang, dan gemar bekerja sambil bernyanyi.

f. Kecerdasan interpersonal

Orang tipe ini biasanya mengerti dan peka terhadap perasaan, intensi, motivasi, watak, dan temperamen orang lain. Selain itu, mereka juga

mampu menjalin kontak mata dengan baik, menghadapi orang lain dengan penuh perhatian, dan mendorong orang lain menyampaikan kisahnya.

g. Kecerdasan intrapersonal

Orang tipe ini memiliki kecerdasan pengetahuan akan diri sendiri dan mampu bertindak secara adaptif berdasarkan pengenalan diri. Ciri-cirinya yaitu suka bekerja sendiri, cenderung acuh, sering mengintropeksi diri, dan mengerti kekuatan dan kelemahan yang dimilikinya.

h. Kecerdasan naturalis

Orang yang memiliki kecerdasan ini mampu memahami dan menikmati alam dan menggunakannya secara produktif serta mengembangkan pengetahuannya mengenai alam. Ciri-ciri orang yang memiliki kecerdasan ini yaitu mencintai lingkungan, mampu mengenali sifat dan tingkah laku hewan, dan senang melakukan kegiatan di luar atau alam.

## **5. Faktor-faktor yang Menentukan Kecerdasan**

a. Genetika

Pembawaan ditentukan oleh sifat-sifat dan ciri-ciri yang dibawa sejak lahir. Batas kesanggupan kita yakni dapat tidaknya memecahkan masalah suatu soal. Pertama-tama ditentukan oleh pembawaan kita, orang tua ada yang pintar dan ada yang bodoh. Meskipun menerima pelajaran yang sama.

b. Lingkungan

Ada beberapa lingkungan yang menjadi faktor, antara lain:

1. Lingkungan yang membangkitkan semangat
2. Dorongan orang tua
3. Penyekolahan yang baik
4. Keterampilan bernalar yang spesifik
5. Praktik yang berkelanjutan

Ada juga faktor biologis tertentu yang juga merupakan faktor lingkungan, yaitu:

1. Kepedulian prenatal
2. Nutrisi

c. Kebebasan dari penyakit dan trauma fisik

d. Pembawaan dan minat yang khas

Dalam intelegensi, pembawaan ini memegang peranan yang sangat penting. Merupakan motor penggerak dari intelegensi kita.

e. Kematangan dan pembentukan

Kematangan adalah pertumbuhan dari dalam seorang anak yang berumur 7 tahun jasmaniah maupun rohaniah belum matang. Anak itu sedikitpun tidak dapat memahami hitungan persamaan. Hitungan tersebut masih terlalu abstrak. Andaikata anak itu usianya telah 10 tahun niscaya hitungan itu tidak akan sulit baginya, sedangkan pembentukan adalah perkembangan dibawah pengaruh keadaan-keadaan luar. Maka faktor pembentukan inilah yang mana pada usia 10 tahun intelegensi dapat

menghitung perhitungan persamaan, maka dari itu sekolah merupakan peranan penting.

f. Kebebasan

Kebebasan berarti manusia dapat memilih metode tertentu dalam memecahkan masalah–masalah (Sujanto, 1983).

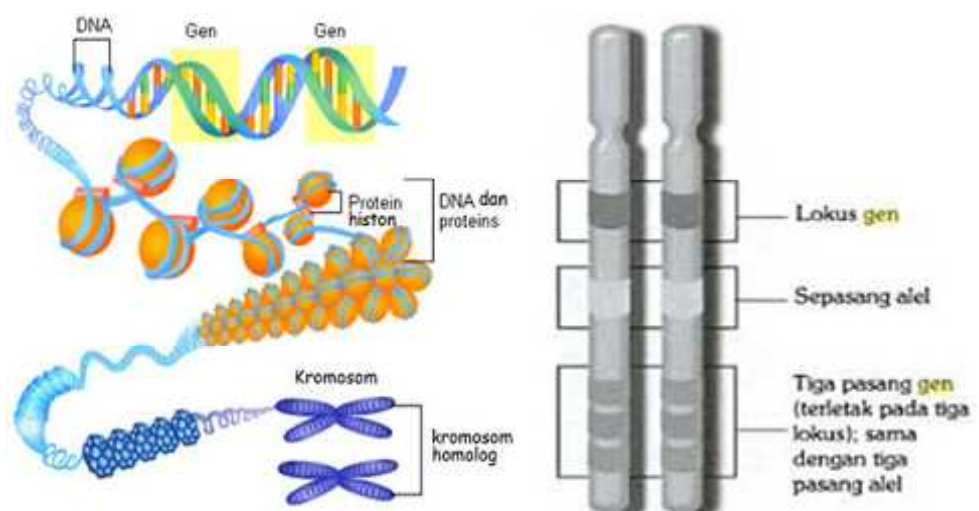
## **B. Gen**

### **1. Definisi Gen dan Kromosom**

Gen merupakan sebuah unit informasi genetik yang tersandi dalam genetika. Gen adalah unit molekul DNA atau RNA yang membawa informasi mengenai urutan asam amino lengkap suatu protein, atau yang menentukan struktur lengkap suatu molekul rRNA (RNA ribosom) atau tRNA (transfer RNA). Terlibat dalam mengkode protein dan mewariskan keturunan. Fungsi gen yaitu mengatur perkembangan dan proses metabolisme serta menyampaikan informasi genetik dari suatu generasi ke generasi berikutnya (Murray *et al.*, 2009).

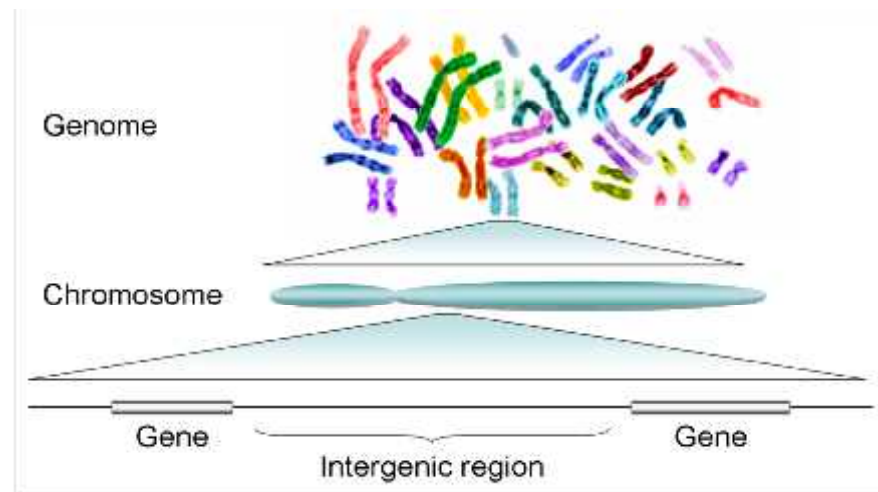
Gen terbagi menjadi dua yaitu, genotip dan fenotip. Genotip suatu organisme adalah susunan genetiknya, termasuk informasi di dalam gennya. Segala karakteristik potensial dan sifat suatu organisme tersandi pada genotipnya. Fenotip suatu organisme adalah sifat yang sesungguhnya atau yang tereksresi (Murray *et al.*, 2009).

Letak gen dalam kromosom yaitu setiap gen menempati lokus tertentu yang tetap dalam kromosom. Lokasi yang diperuntukkan bagi gen dalam kromosom disebut Lokus (kromomer). Gen-gen yang membawa sifat bagian tubuh yang sama dan lokusnya bersesuaian disebut gen homolog. Lokus tertentu dapat mengandung satu gen atau lebih (Murray *et al.*, 2009).



Gambar 3. Gen (Murray *et al.*, 2009)

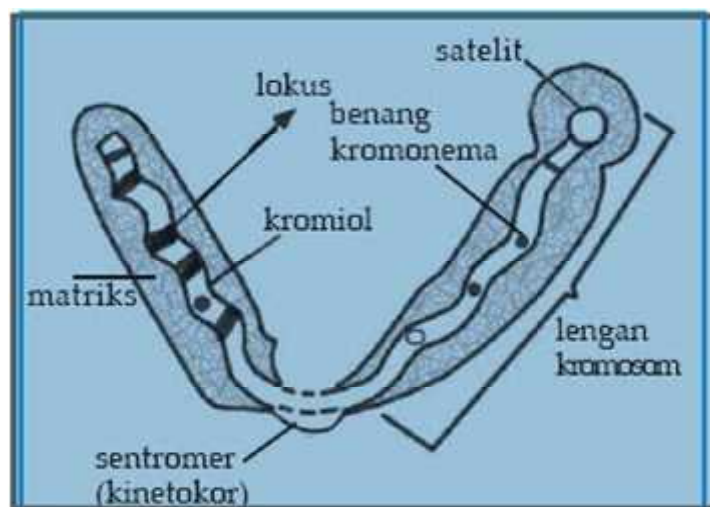
Secara keseluruhan kumpulan gen yang terdapat di dalam setiap sel individu organisme disebut sebagai genom. Dengan perkataan lain genom suatu organisme adalah kumpulan semua gen yang dimiliki oleh organisme tersebut pada setiap selnya.



Gambar 4. Genom dan Kromosom (Murray *et al.*, 2009)

Kromosom adalah suatu struktur makromolekul yang berisi DNA di mana informasi genetik dalam sel disimpan. Kata kromosom berasal dari kata “khroma” yang berarti warna dan “soma” yang berarti badan. Tipe dan jumlah kromosom tiap makhluk hidup berbeda-beda. Dengan mikroskop cahaya seluruh kromosom dapat dibedakan satu dengan yang lain dari penampilannya karena ukuran kromosom dan posisi sentromer berbeda. Masing-masing kromosom memiliki suatu pola pita atau garis tertentu ketika diberi zat pewarna tertentu. Tampilan visual kromosom setiap individu dinamakan kariotipe. Kromosom yang membentuk pasangan, memiliki panjang, posisi sentromer, dan pewarnaan yang sama dinamakan kromosom homolog. Kedua kromosom dari setiap pasangan membawa gen (unit instruksi yang mempengaruhi sifat herediter) yang mengendalikan karakter warisan yang sama.

Kromosom dibedakan menjadi autosom (kromosom tubuh) dan gonosom (kromosom seks). Autosom merupakan kromosom yang tidak menentukan jenis kelamin, sedangkan gonosom merupakan kromosom penentu jenis kelamin. Suatu kromosom terdiri dari beberapa bagian, yaitu kromatid, kromomer, sentromer atau kinetokor, satelit dan telomer.



Gambar 5. Kromosom (Murray *et al.*, 2009)

Kromatid adalah salah satu dari dua lengan hasil replikasi kromosom yang masih melekat satu sama lain pada bagian sentromer. Istilah lain untuk kromatid adalah kromonema (jamak: kromonemata). Kromonema merupakan filamen yang sangat tipis yang terlihat selama proses profase. Kromomer adalah struktur berbentuk manik-manik yang merupakan akumulasi dari materi kromatin yang terkadang terlihat saat interfase (Murray *et al.*, 2009).

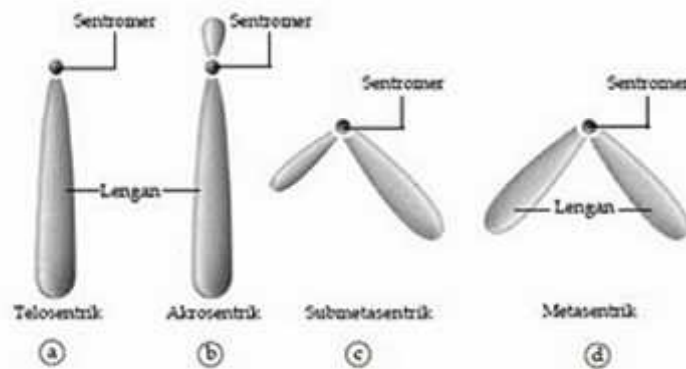


Sentromer adalah daerah konstiksi atau pelekukan di sekitar pertengahan kromosom. Pada sentromer terdapat kinetokor. Kinetokor adalah bagian kromosom yang merupakan tempat pelekatan benang-benang spindel selama pembelahan inti dan merupakan tempat melekatnya lengan kromosom (Triwibowo, 2005).

Satelit adalah bagian kromosom yang berbentuk bulatan dan terletak di ujung lengan kromatid. Satelit terbentuk karena adanya pelekukan sekunder di daerah tersebut. Telomer adalah daerah terujung pada kromosom yang berfungsi untuk menjaga stabilitas bagian ujung kromosom agar DNA di daerah tersebut tidak terurai.

Menurut letak sentromer pada lengan kromatid, kromosom dibagi menjadi empat macam bentuk yaitu:

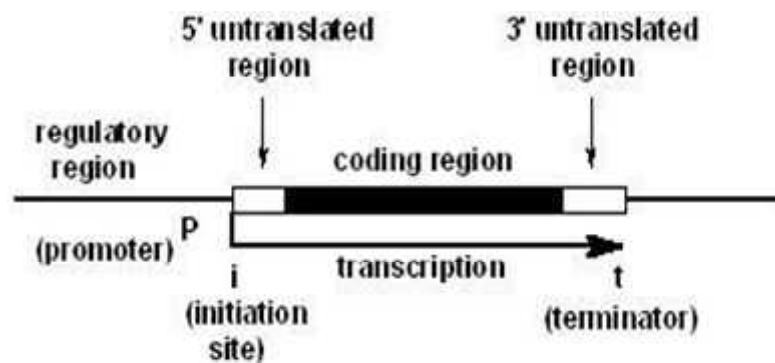
- a. Kromosom telosentrik adalah kromosom yang letak sentromernya diujung suatu kromatid.
- b. Kromosom akrosentrik adalah kromosom yang letak sentromernya berada pada posisi ujung dengan bagian tengah kromatid.
- c. Kromosom submetasentrik adalah kromosom yang letaknya tidak berada ditengah-tengah lengan kromatid sehingga kromatid tidak terbagi sama panjangnya.
- d. Kromosom metasentrik adalah kromosom yang letak sentromernya ditengah-tengah lengan kromatid sehingga sentromer membagi kromatid menjadi dua bagian.



Gambar 6. Bentuk Kromosom (Triwibowo, 2005)

## 2. Struktur Gen Prokariot

Pada prokariot, secara umum gen tersusun atas promotor, bagian struktural, dan terminator (Murray *et al.*, 2009).

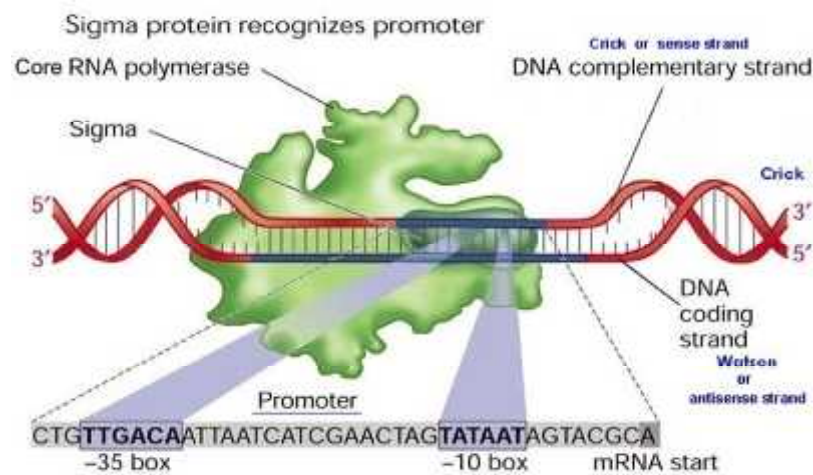


Gambar 7. Struktur Gen Prokariotik (Murray *et al.*, 2009)

### a. Promoter

Promoter adalah urutan DNA spesifik yang berperan dalam mengendalikan transkripsi gen struktural dan terletak di

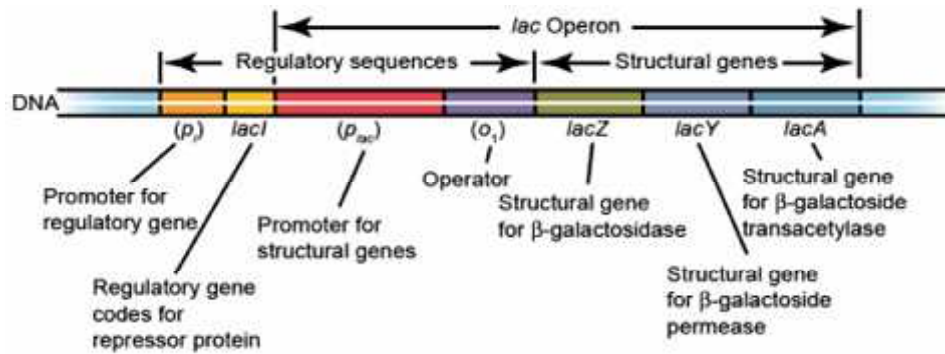
daerah *upstream* (hulu) dari bagian struktural gen. Fungsi promotor adalah sebagai tempat awal pelekatan enzim RNA polimerase yang nantinya melakukan transkripsi pada bagian struktural. Pada prokariot bagian penting promotornya disebut sebagai *Pribnow box* pada urutan nukleotida -10 dan -35. Biasanya berupa *TATA box*. *Pribnow box* merupakan daerah tempat pembukaan heliks DNA untuk membentuk kompleks promotor terbuka. Jadi, di *TATA box* itulah DNA dipisahkan dan di luar *TATA box* helix DNA tetap berikatan.



Gambar 8. Protomer (Triwibowo, 2005)

#### b. Operator

Operator merupakan urutan nukelotida yang terletak di antara promotor dan bagian struktural dan merupakan tempat pelekatan protein represor (penekan atau penghambat ekspresi gen). Jika ada represor yang melekat di operator, maka RNA polimerase kearah ekspresi gen tidak bisa berlangsung (Triwibowo, 2005).



Gambar 9. Operator (Triwibowo, 2005)

Pada gambar di atas, operator disimbolkan dengan warna ungu yang berada di antara promotor (merah) dan *structural gene* (hijau). Selain adanya supresor, terdapat juga *enhancer*. Kerja supresor untuk menghambat, sedangkan *enhancer* meningkatkan transkripsi dengan meningkatkan jumlah RNA polimerase. Namun letaknya tidak pada lokasi yang spesifik seperti operator, ada yang jauh di *upstream* atau bahkan *downstream* dari titik awal transkripsi.

c. *Coding Region* (Bagian Struktural)

Gen struktural merupakan bagian yang mengkode urutan nukleotida RNA. Transkripsi dimulai dari sekuens inisiasi transkripsi (ATG) sampai kodon stop (TAA/TGA/TAG). Pada prokariot tidak ada sekuens intron (yang tidak dapat diekspresikan) sehingga semuanya berupa ekson. Namun kadang pada *Archaeobacteria* dan bakteriofag ada yang memiliki intron.

d. Terminator

Dicirikan dengan struktur jepit rambut/*hairpin* dan lengkungan yang kaya akan urutan GC yang terbentuk pada molekul RNA hasil transkripsi.

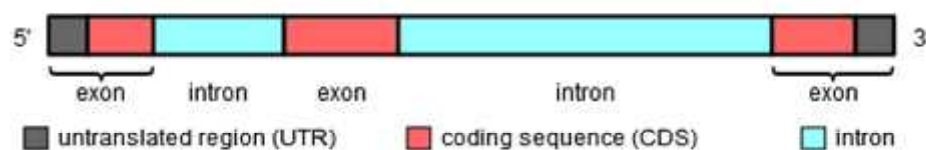
Pada organisme prokariot diketahui ada tiga kelompok utama organisasi gen, yaitu (Murray *et al.*, 2009):

1. Gen independen adalah gen yang ekspresinya tidak tergantung pada ekspresi gen lain sehingga gen tersebut tidak akan diekspresikan terus menerus (disebut sebagai ekspresi konstitutif) selama selnya masih tumbuh.
2. Unit transkripsi adalah sekelompok gen yang secara fisik terletak berdekatan dan diekspresikan bersama-sama karena produk ekspresi gen-gen tersebut diperlukan dalam suatu rangkaian proses fisiologi yang sama. Contoh unit transkripsi adalah rangkaian gen yang mengkode rRNA dan tRNA.
3. Kelompok gen adalah beberapa gen yang secara fisik terletak pada lokus yang berdekatan dan produk ekspresi gen-gen tersebut diperlukan dalam rangkaian proses fisiologi yang sama, meskipun masing-masing gen tersebut dikendalikan secara independen, misalnya kelompok gen yang berperan dalam proses penambatan nitrogen pada bakteri *Rhizobium sp.*
4. Operon adalah sekelompok gen struktural yang terletak berdekatan dan ekspresinya dikendalikan oleh satu promotor yang sama. Masing-masing bagian struktural tersebut mengkode protein yang berbeda tetapi protein-protein tersebut diperlukan untuk proses metabolisme yang sama. Operon

merupakan salah satu ciri khas organisasi gen pada prokariot. Sistem operon tidak ditemukan di dalam organisasi gen pada eukariot. Dengan adanya sistem operon, maka rRNA hasil transkripsi gen prokariot bersifat polisistronik karena satu molekul mRNA mengkode lebih dari satu protein (Triwibowo, 2005).

### 3. Struktur Gen Eukariot

Struktur gen eukariot secara umum hampir sama dengan prokariot, yaitu memiliki promotor, bagian struktural, dan terminator. Perbedaan antara keduanya hanya pada bagian strukturalnya, yang mana terdapat intron dan ekson. Perbedaan utama antara organisasi gen pada prokariot dengan eukariot adalah bahwa bagian struktural gen prokariot (bakteri) tidak mengandung intron (Murray *et al.*, 2009).



Gambar 10. Struktur Gen Eukariotik (Murray *et al.*, 2009)

Intron adalah sekuens nukleotida yang tidak akan ditemukan “terjemahannya” di dalam rangkaian asam amino protein yang dikode oleh suatu gen. Intron akan ditranskripsi kemudian mengalami pemotongan

sehingga tidak akan mengalami translasi. Sekuens nukleotida yang akan diterjemahkan disebut sebagai ekson. Pada genom eubakteri, diketahui tidak ada intron, tetapi pada genom arkhaeobakteri tertentu diketahui terdapat intron (Murray *et al.*, 2009).

Gen pada organisme eukariot dapat dikelompokkan menjadi 3 kelas yaitu:

1. Gen kelas satu, yaitu gen-gen yang mengkode pembentukan rRNA 5,8s, rRNA 18s, dan rRNA 28s. Ketiga molekul rRNA tersebut digunakan dalam pembentukan ribosom.
2. Gen kelas II, yaitu gen-gen yang mengkode sintesis semua molekul protein. Gen-gen tersebut terlebih dahulu akan disalin menjadi molekul rRNA, selanjutnya mRNA akan ditranslasi menjadi rangkaian asam amino yang menyusun suatu protein.
3. Gen kelas III, yaitu gen-gen yang mengkode pembentukan molekul tRNA dan rRNA 5s. Molekul tRNA digunakan untuk membawa asam amino yang akan disambungkan menjadi molekul protein dalam proses translasi.

Seperti telah disebutkan sebelumnya, sebagian besar bagian struktural gen pada eukariot tingkat tinggi tersusun atas ekson (bagian yang mengkode asam-asam amino) dan intron (bagian yang tidak akan diterjemahkan menjadi urutan asam amino). Meskipun demikian tidak semua gen eukariot terinterupsi oleh intron. Pada waktu gen ditranskripsi, sebenarnya bagian intron juga akan ditranskripsikan tetapi selanjutnya akan dipotong dari transkrip (mRNA) primer. Selanjutnya hanya ekson-ekson saja yang akan

disambungkan menjadi mRNA yang matang (*mature mRNA*) (Murray *et al.*, 2009).

#### 4. Struktur Kromosom Prokariot

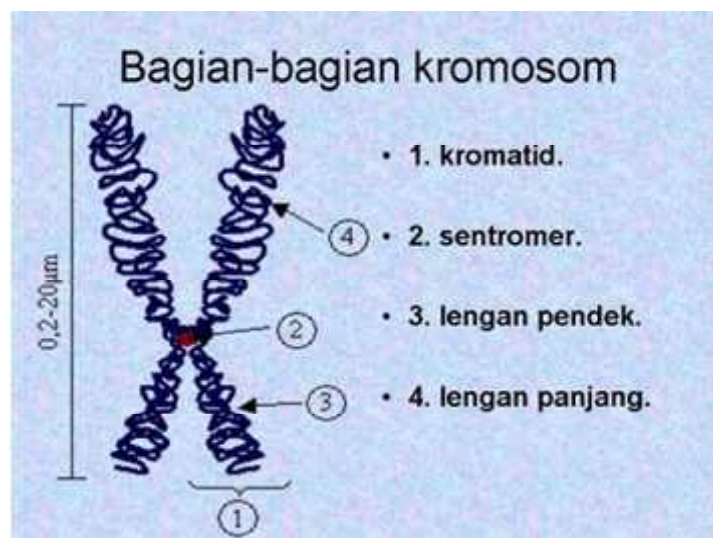
Kromosom pada makhluk hidup memiliki ukuran panjang 0,2–20 mikron. Pada manusia, ukuran kromosom kurang lebih 6 mikron. Fungsi dari kromosom ini membawa informasi genetika karena di dalam kromosom mengandung gen, yang mana gen-gen pada kromosom terdapat pada lokus kromosom. Lokus adalah letak suatu gen pada suatu berkas kromosom dan pada molekuler genetika posisi ini biasa dinyatakan dalam suatu basa (Triwibowo, 2005).

Kromosom pada organisme prokariotik ada yang berupa RNA saja, hal ini dapat dijumpai pada virus Mozalk (tembakau) dan ada yang berupa DNA, misalnya virus T, dan dapat pula mengandung keduanya (DNA dan RNA) seperti pada bakteri E. Coli. Kromosom mengandung struktur yang terdiri dari benang-benang tipis yang melingkar-melingkar. Di sepanjang benang-benang ini terletak secara teratur struktur yang disebut gen dan setiap gen menempati tempat tertentu dalam kromosom. Struktur kromosom terdiri dari sentromer dan lengan yang dilengkapi telomer.



## 1. Sentromer

Sentromer merupakan bagian kepala kromosom berbentuk bulat yang merupakan pusat kromosom dan membagi menjadi dua bagian yang merupakan daerah penyempitan pertama pada kromosom yang khusus dan tetap. Daerah ini disebut juga kinetokor atau tempat melekatnya benang-benang gelendong (*spindle fiber*) dimana elemen-elemen ini berfungsi untuk menggerakkan kromosom selama mitosis atau sebagian dari mitosis. Pembelahan sentromer ini menjadi kromatid bergerak ke proses anafase.



Gambar 11. Bagian-bagian Kromosom Prokariot (Murray *et al.*, 2009; Triwibowo, 2005)

## 2. Lengan

Merupakan bagian badan utama kromosom yang mengandung kromosom dan gen. Umumnya jumlah lengan pada kromosom berjumlah dua, tetapi ada juga yang berjumlah satu. Lengan dibungkus oleh selaput tipis dan di dalamnya terdapat matriks yang berisi cairan bening yang mengisi seluruh

bagian lengan. Cairan ini mengandung benang-benang halus berpilin yang disebut kromonema, bagian ini yang akan mengalami pembelahan dan hasil pembelahan disebut kromomer yang berfungsi membawa sifat keturunan. Pita kromonemata berbentuk spiral dalam kromosom dan lekukan kedua pangkal dari kromonemata yang fungsinya sebagai tempat terbentuknya nukleolus. Pada bagian ujung kromosom terdapat suatu tambahan yang disebut satelit (Triwibowo, 2005).

Organisme prokariot seperti bakteri diketahui hanya mempunyai sebuah kromosom yang tidak dikemas di dalam suatu nukleus sejati. Kromosom ini berbentuk lingkaran (sirkuler), dan semua gen tersusun di sepanjang lingkaran tersebut. Oleh karena itu, genom organisme prokariot dikatakan hanya terdiri atas sebuah kromosom tunggal (Murray *et al.*, 2009).

Bahan genetik utama (kromosom) organisme prokariot pada umumnya terdiri atas satu unit molekul DNA untai ganda (*double stranded*) dengan struktur lingkaran. Oleh karena itu, organisme prokariot bersifat monoploid karena hanya ada satu bahan genetik utama. Bahan genetik pada organisme prokariot tidak tersusun dalam suatu struktur yang jelas karena pada sel prokariot tidak terdapat inti sel (nukleus). Hal ini berbeda dengan bahan genetik utama organisme eukariot yang terdapat di dalam struktur nukleus (Triwibowo, 2005).

Bahan genetik utama organisme prokariot diketahui terikat pada membran sel sebelah dalam yang diduga berperan dalam proses pemisahan DNA pada waktu pembelahan sel. Oleh karena struktur bahan genetik utama organisme prokariot berupa molekul lingkar, molekul tersebut tidak memiliki bagian ujungnya. Meskipun pada umumnya kromosom bakteri berupa molekul DNA dengan struktur lingkar, namun diketahui ada beberapa bakteri yang struktur bahan genetik utamanya berupa molekul DNA linier. Misalnya pada bakteri *Borrelia burgdorferi* dan *Streptomyces lividans*. Ujung molekul kromosom *S. lividans* diketahui berikatan secara kovalen dengan suatu protein. Protein diujung molekul kromosom semacam ini mempunyai fungsi yang sangat penting dalam proses inisiasi replikasi DNA (Triwibowo, 2005).

Selain itu juga diketahui ada bakteri yang mempunyai 2 molekul kromosom, yaitu bakteri *Rhodobacter sphaeroides*. Selain bahan genetik utama, organisme prokariot seringkali mempunyai bahan genetik tambahan yang disebut sebagai plasmid. Plasmid pada prokariot berupa molekul DNA untai ganda dengan struktur lingkar. Pada umumnya plasmid tidak dibutuhkan oleh sel untuk pertumbuhan meskipun seringkali plasmid membawa gen-gen tertentu yang memberikan keuntungan tambahan bagi sel dalam keadaan tertentu, misalnya gen ketahanan antibiotik. Oleh karena itu, dalam keadaan normal plasmid dapat dihilangkan dengan metode curing tanpa mengganggu pertumbuhan selnya. Ukuran plasmid sangat bervariasi tetapi pada umumnya lebih kecil dari ukuran bahan genetik utama sel prokariot.

Pada dasarnya plasmid merupakan entitas genetik yang ditemukan secara alami di dalam sel beberapa kelompok prokariot dan eukariot. Dengan teknik rekayasa genetik, sekarang telah dapat dikembangkan plasmid artifisial dengan cara menggabungkan gen–gen dari beberapa plasmid alami maupun dari genom organisme tertentu. Salah satu contoh plasmid artifisial adalah plasmid seri pUC misalnya pUC 18 dan pUC 19 (Triwibowo, 2005).

## 5. Struktur Kromosom Eukariot

Berbeda dengan DNA prokariot yang berbentuk sirkuler tertutup, DNA eukariot merupakan molekul linier yang sangat panjang. Panjang DNA eukariot di dalam nukleus jauh melebihi ukuran nukleus itu sendiri. Oleh karenanya, agar dapat disusun di dalam nukleus, DNA harus dikode dengan suatu cara. Derajat kondensasi DNA dinyatakan sebagai *packing ratio*, yaitu panjang molekul DNA dibagi dengan panjang rantainya. Sebagai contoh, kromosom manusia yang terpendek, yaitu kromosom nomor 21, berisi  $4,6 \times 10^7$  pb DNA (sekitar 10 kali ukuran genom *E. coli*). Ukuran DNA kromosom ini setara dengan panjang 14.000  $\mu\text{m}$  jika DNA ditarik lurus. Pada kondisi yang paling pendek, yaitu selama mitosis, kromosom tersebut panjangnya hanya sekitar 2  $\mu\text{m}$ . Angka ini memberikan *packing ratio* sebesar 7.000 ( $14.000/2$ ) (Murray *et al.*, 2009).

Untuk mencapai *packing ratio* totalnya, DNA tidak langsung disusun ke dalam struktur terakhirnya (kromatin). Pengodean DNA dilakukan melalui

sejumlah tingkatan organisasi kromosom. Tingkatan yang pertama diperoleh ketika DNA melilit-lilit di sekeliling sumbu protein sehingga menghasilkan struktur seperti manik-manik yang disebut nukleosom. Tingkatan yang kedua adalah pemutaran sejumlah nukleosom membentuk struktur heliks yang disebut serabut 30 nm. Struktur serabut 30 nm dijumpai baik pada kromatin interfase maupun pada kromosom mitosis. Dengan struktur ini, *packing ratio* DNA meningkat menjadi sekitar 40 nm. Pengemasan terakhir terjadi ketika serabut 30 nm tersusun dalam struktur tangga dan domain yang memberikan *packing ratio* tertinggi sebesar lebih kurang 1.000 pada kromatin interfase dan 10.000 pada kromosom mitosis (Murray *et al.*, 2009).

Kromosom eukariot terdiri atas suatu kompleks DNA-protein yang tersusun sangat kompak sehingga memungkinkan DNA yang ukurannya begitu panjang tersimpan di dalam nukleus. Istilah bagi struktur dasar kromosom adalah kromatin, sedangkan satuan dasar kromatin adalah nukleosom. Dengan demikian, kromatin merupakan satuan analisis kromosom yang menggambarkan struktur umum kromosom. Nukleosom dijumpai pada semua kromosom eukariot. Telah dikatakan di atas bahwa nukleosom merupakan struktur yang paling sederhana dalam penyusunan DNA eukariot. Penyusunan terjadi dengan cara pelilitan DNA di sekeliling sumbu nukleosom yang merupakan oktamer protein basa berukuran kecil dan disebut histon sumbu. Protein histon sumbu ini bersifat basa atau bermuatan

positif karena banyak mengandung asam amino arginin dan lisin (Triwibowo, 2005).

Ada empat macam histon sumbu yang menyusun sumbu nukleosom, yaitu H1, H2A, H2B, H3, dan H4. Keempat macam histon ini berada dalam bentuk oktamer dan masing-masing terdiri atas dua molekul. Selain itu, terdapat satu macam histon lagi, yaitu H1 yang letaknya bukan di sumbu nukleosom, melainkan di bagian tepi nukleosom. Dengan adanya molekul H1 ini, ukuran nukleosom menjadi lebih besar 20 pb dan biasanya disebut dengan kromatosom (Murray *et al.*, 2009).

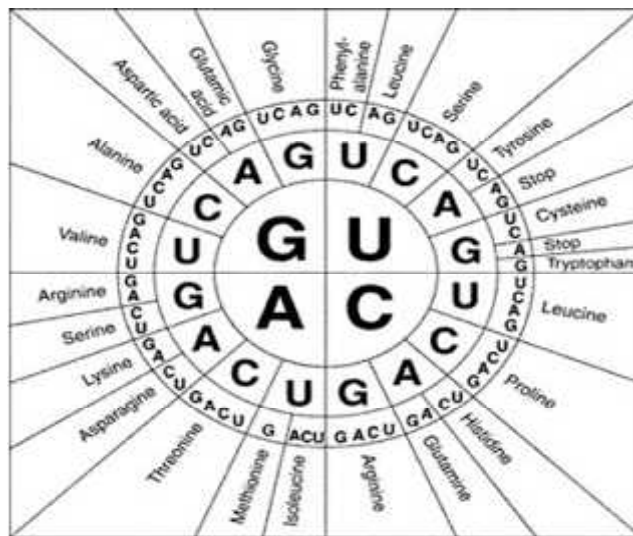
Setiap untai DNA sepanjang 146 pb mengelilingi satu sumbu nukleosom, sementara bagian-bagian DNA lainnya menjadi penghubung (*linker*) antara satu sumbu nukleosom dan sumbu nukleosom berikutnya. Pelilitan DNA di sekeliling sumbu nukleosom berlangsung dengan arah ke kiri atau terjadi superkoiling negatif. Pelilitan terjadi demikian kuat karena DNA bermuatan negatif, sedangkan histon sumbu bermuatan positif. Telah dikatakan di atas bahwa terbentuknya rangkaian heliks nukleosom secara keseluruhan terlihat sebagai serabut dengan diameter 30 nm yang dikenal sebagai serabut 30 nm. Keberadaan histon H1 berfungsi menstabilkan struktur serabut 30 nm. Hal ini didukung oleh bukti percobaan bahwa penghilangan histon tersebut dari kromatin ternyata tidak dapat mempertahankan struktur serabut 30 nm, meskipun struktur nukleosomnya tetap dipertahankan. Hasil studi menggunakan mikroskop elektron menunjukkan bahwa nukleosom di dalam

serabut 30 nm membentuk heliks yang berputar ke arah kiri dengan jumlah nukleosom sebanyak enam buah tiap putaran. Meskipun demikian, organisasi struktur serabut 30 nm yang tepat sebenarnya masih berupa suatu perkiraan (Murray *et al.*, 2009).

Berbeda dengan genom prokariot, genom eukariot tersusun dari beberapa buah kromosom. Tiap kromosom membawa sederetan gen tertentu. Selain itu, kromosom eukariot mempunyai bentuk linier. Posisi di dalam kromosom, baik pada prokariot maupun pada eukariot, yang ditempati oleh suatu gen disebut sebagai lokus (jamak: loki) bagi gen tersebut. Genom eukariot mempunyai organisasi yang lebih kompleks dibandingkan dengan genom prokariot. Molekul DNA utama pada eukariot berupa molekul untai ganda dengan struktur linier. Ukuran genom eukariot, khususnya eukariot tingkat tinggi, jauh lebih besar dibandingkan dengan ukuran genom prokariot. Bahan genetik utama organisme eukariot terletak di dalam nukleus dan dikemas sedemikian rupa membentuk struktur yang disebut kromosom. Jumlah kromosom pada kelompok organisme eukariot sangat bervariasi, mulai dari dua buah pada spesies *Schizosaccharomyces pombe*, sampai mencapai 250 buah pada sejenis kepiting (*hermit crab*). Selain kromosom, beberapa sel eukariot juga mempunyai DNA diluar kromosom yaitu DNA pada mitokondria dan pada kloroplas berupa molekul DNA lingkar dan replikasinya berlangsung secara independen, tidak tergantung pada replikasi kromosom. Organisasi gen pada mitokondria lebih mirip organisasi gen pada bakteri sehingga diduga mitokondria

merupakan organisme prokariot endosimbion yang dalam proses evolusi berkembang menjadi bagian struktur sel eukariot (Murray *et al.*, 2009).

## 6. Kode Genetik (Kodon)



Gambar 12. Kodon (Triwibowo, 2005)

Kode genetik (kodon) adalah deret nukleotida pada mRNA yang terdiri atas kombinasi tiga nukleotida berurutan yang menyandi suatu asam amino tertentu, sehingga sering disebut sebagai kodon triplet. Asam amino yang disandikan misalnya metionin oleh urutan nukleotida ATG (AUG pada RNA). Banyak asam amino yang disandikan oleh lebih dari satu jenis kodon. Kodon berada pada molekul mRNA. Penerjemahan mRNA menjadi protein dilakukan pada ruas penyandi yang diapit oleh kodon awal (AUG) dan kodon akhir (UAA, UAG atau UGA), ruas ini disebut gen. Kodon pada molekul mRNA dapat menyandi asam-asam amino dengan bantuan



interpretasi kodon oleh tRNA. Setiap tRNA membawa satu jenis asam amino sesuai dengan tiga urutan nukleotida atau triplet yang disebut dengan antikodon yang berada pada simpul antikodon tRNA.

Tabel 1. Penerjemahan Kodon (Triwibowo, 2005)

		1st base								
		U		C		A		G		
2nd base	U	UUU	Phenylalanine	UCU	Serine	UAU	Tyrosine	UGU	Cysteine	U
		UUC	Phenylalanine	UCC	Serine	UAC	Tyrosine	UGC	Cysteine	C
		UUA	Leucine	UCA	Serine	UAA	Stop	UGA	Stop	A
		UUG	Leucine	UCG	Serine	UAG	Stop	UGG	Tryptophan	G
C	CUU	Leucine	CCU	Proline	CAU	Histidine	CGU	Arginine	U	
	CUC	Leucine	CCC	Proline	CAC	Histidine	CGC	Arginine	C	
	CUA	Leucine	CCA	Proline	CAA	Glutamine	CGA	Arginine	A	
	CUG	Leucine	CCG	Proline	CAG	Glutamine	CGG	Arginine	G	
A	AUU	Isoleucine	ACU	Threonine	AAU	Asparagine	AGU	Serine	U	
	AUC	Isoleucine	ACC	Threonine	AAC	Asparagine	AGC	Serine	C	
	AUA	Isoleucine	ACA	Threonine	AAA	Lysine	AGA	Arginine	A	
	AUG	Methionine (Start)	ACG	Threonine	AAG	Lysine	AGG	Arginine	G	
G	GUU	Valine	GCU	Alanine	GAU	Aspartic Acid	GGU	Glycine	U	
	GUC	Valine	GCC	Alanine	GAC	Aspartic Acid	GGC	Glycine	C	
	GUA	Valine	GCA	Alanine	GAA	Glutamic Acid	GGA	Glycine	A	
	GUG	Valine	GCG	Alanine	GAG	Glutamic Acid	GGG	Glycine	G	

Nonpolar, aliphatic  
 Polar, uncharged  
 Aromatic  
 Positively charged  
 Negatively charged

Antikodon mengikatkan diri secara komplementer pada kodon di mRNA, sehingga asam amino yang dibawa oleh tRNA sesuai dengan kodon yang ada pada mRNA. Pesan genetik ditranskripsi kodon demi kodon dengan cara tRNA membawa asam-asam amino sesuai antikodon yang komplementer dengan kodon dan ribosom menyambungkan asam-asam amino tersebut menjadi suatu rantai polipeptida. Ribosom menambahkan tiap asam amino yang dibawa oleh tRNA ke ujung rantai polipeptida yang sedang tumbuh. Kodon awal merupakan kodon pertama yang diterjemahkan pada saat translasi atau disebut juga kodon inisiasi (AUG yang menyandikan metionin). Selain kodon inisiasi, untuk memulai translasi diperlukan juga

sekuen atau situs yang disebut Shine-Dalgarno untuk pengenalan oleh ribosom yang juga dibantu oleh faktor inisiasi (berupa tiga jenis protein). Kodon akhir merupakan salah satu dari tiga kodon, yaitu UAG, UAA atau UGA. Kodon akhir disebut juga kodon terminal yang tidak menyandikan asam amino. Kodon akhir menyebabkan proses translasi berakhir dengan bantuan faktor pelepasan untuk melepas ribosom (Triwibowo, 2005).

## 7. Isolasi DNA

*Deoxyribonucleic acid* (DNA) merupakan senyawa kimia yang paling penting dalam makhluk hidup. DNA merupakan senyawa yang mengandung informasi genetik makhluk hidup dari satu generasi ke generasi selanjutnya (Triwibowo, 2005). Keseluruhan DNA dalam suatu sel akan membentuk genom. Genom meliputi bagian gen yang fungsional maupun non-fungsional dalam sel organisme. DNA genom meliputi gen dan intergen (Campbell *et al.*, 2004). DNA organisme prokariot dan eukariot mempunyai perbedaan bentuk. Organisme prokariot memiliki DNA berbentuk sirkular, sedangkan organisme eukariotik mempunyai DNA berbentuk linier. DNA eukariot terletak dalam inti sel, sedangkan DNA prokariot terletak dalam sitoplasma (Triwibowo, 2005).

Struktur DNA pertama kali dijelaskan oleh James Watson dan Francis Crick. Mereka memperoleh model DNA dari hasil foto difraksi sinar X yang dibuat oleh Rosalind Franklin dan Maurice Wilkins. Watson dan Crick

menyimpulkan bahwa struktur DNA merupakan rantai ganda (*double helix*). Untai ganda tersusun dari dua rantai polinukleotida yang terpilin. Kedua rantai memiliki susunan antiparalel, yaitu satu rantai berorientasi dari ujung 5' ke 3' sedangkan yang lain berorientasi ujung 3' ke 5'. Ujung 5' merupakan ujung yang berakhir dengan gugus 5-fosfat dan ujung 3' berakhir dengan gugus OH. Kedua rantai dihubungkan dengan ikatan hidrogen yang menghubungkan kedua basa nitrogen (Sadava *et al.*, 2004).

Komponen nukleotida DNA adalah gula, fosfat, dan basa nitrogen. Komponen gula pada DNA adalah gula deoksiribosa, yaitu gula ribose yang kehilangan satu atom oksigen. Basa yang ada pada DNA ada dua macam, yaitu purin dan pirimidin. Purin terbagi lagi menjadi dua macam, yaitu adenin dan guanin. Pirimidin terdiri dari dua jenis, yaitu timin dan sitosin (Sadava *et al.*, 2004).

DNA mempunyai fungsi-fungsi yang sangat penting bagi tubuh kita. Hal tersebut dikarenakan DNA merupakan molekul kehidupan utama di dalam sel makhluk hidup. Fungsi-fungsi tersebut adalah:

1. Tempat menyimpan dan menyalurkan informasi genetik suatu makhluk hidup ( Sadava *et al.*, 2004).
2. Fungsi heterokatalis, yaitu fungsi untuk melaksanakan pengaturan pembuatan molekul-molekul lain yang penting dalam tubuh dan fungsi autokatalis, yaitu fungsi DNA untuk mereplikasi dirinya sendiri (Triwibowo, 2005).

DNA eukariot tidak hanya dijumpai pada nukleus, tetapi dapat ditemukan pada mitokondria dan kloroplas. DNA yang diisolasi dari kloroplas menunjukkan sifat berbentuk sirkular, terdiri dari untai ganda, replikasi semikonservatif, dan bebas dari protein histon. DNA kloroplas penting dalam proses fotosintesis. DNA juga dijumpai pada organisme prokariotik. DNA prokariot mempunyai DNA ekstranuklear yang dinamakan plasmid. Plasmid merupakan DNA yang tidak terlalu esensial bagi fungsi kehidupan bakteri, tetapi penting dalam pengaturan siklus hidup dan perumbuan dalam lokasi hidupnya. Kebanyakan plasmid adalah sirkular dan tersusun dari beberapa ribu pasangan basa. Plasmid mempunyai titik ori (*origin of replication*) sehingga mampu mereplikasi diri tanpa pengaturan dari DNA kromosom. Replikasi dimulai dari titik ori hingga semua plasmid tereplikasi (Triwibowo, 2005).

Isolasi DNA merupakan langkah yang tepat untuk mempelajari DNA. Prinsipnya ada dua, yaitu sentrifugasi dan presipitasi. Sentrifugasi merupakan teknik untuk memisahkan campuran berdasarkan berat molekul komponennya. Molekul yang mempunyai berat molekul besar akan berada di bagian bawah tabung dan molekul ringan akan berada pada bagian atas tabung. Hasil sentrifugasi akan menunjukkan dua macam fraksi yang terpisah, yaitu supernatan pada bagian atas dan pelet pada bagian bawah. Presipitasi merupakan langkah yang dilakukan untuk mengendapkan suatu komponen dari campuran (Campbell *at al*, 2002). Sebuah difenilamin (DPA) indikator akan mengkonfirmasi keberadaan DNA. Prosedur ini

melibatkan hidrolisis kimia DNA: ketika dipanaskan (misalnya  $\geq 95^{\circ}\text{C}$ ) dalam asam, reaksi memerlukan gula deoksiribosa dan karena itu spesifik untuk DNA. Dengan kondisi tersebut, 2-deoksiribosa akan dikonversi ke *w-hydroxylevulinyl aldehyd* yang bereaksi dengan senyawa difenilamin untuk menghasilkan senyawa berwarna biru. Konsentrasi DNA dapat ditentukan mengukur intensitas absorbansi larutan pada 600 nm dengan spektrofotometer dan membandingkan dengan kurva standar konsentrasi DNA diketahui. Mengukur intensitas absorbansi larutan DNA pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm digunakan sebagai ukuran kemurnian DNA. DNA menyerap sinar UV pada 260 dan 280 nanometer, dan protein aromatik menyerap sinar UV pada 280 nm, sebuah sampel DNA murni memiliki rasio 260/280 dan relatif bebas dari kontaminasi protein. DNA bisa diukur dengan memotong DNA dengan enzim restriksi, menjalankannya pada gel agarosa, pewarnaan dengan bromida etidium atau noda yang berbeda dan membandingkan intensitas DNA dengan penanda DNA.

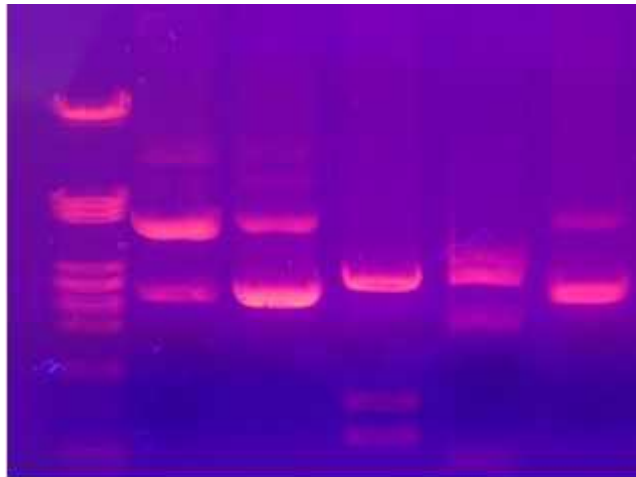
## 8. Elektroforesis

Elektroforesis adalah teknik pemisahan komponen atau molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam sebuah medan listrik. Medan listrik 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, kemudian dialiri arus listrik dari suatu kutub ke kutub yang berlawanan muatannya maka molekul tersebut akan bergerak dari kutub negatif ke kutub positif. Kecepatan gerak molekul tersebut tergantung pada nisbah muatan terhadap massanya serta tergantung pula pada bentuk molekulnya. Pergerakan ini dapat dijelaskan dengan gaya Lorentz, yang terkait dengan sifat-sifat dasar listrik bahan yang diamati dan kondisi listrik lingkungan:

$$\vec{F}_e = q\vec{E}$$

Keterangan: F adalah gaya Lorentz, q adalah muatan yang dibawa oleh objek, E adalah medan listrik. Secara umum, elektroforesis digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan memurnikan fragmen DNA.



Gambar 13. Pita DNA setelah Elektroforesis dan Diamati di bawah Sinar UV

#### a. Jenis Elektroforesis

1. Elektroforesis kertas adalah jenis elektroforesis yang terdiri dari kertas sebagai fase diam dan partikel bermuatan yang terlarut sebagai fase gerak, terutama ialah ion-ion kompleks. Pemisahan ini terjadi akibat adanya gradasi konsentrasi sepanjang sistem pemisahan. Pergerakan partikel dalam kertas tergantung pada muatan atau valensi zat terlarut, luas penampang, tegangan yang digunakan, konsentrasi elektrolit, kekuatan ion, pH, viskositas, dan adsorpsivitas zat terlarut.

2. Elektroforesis gel ialah elektroforesis yang menggunakan gel sebagai fase diam untuk memisahkan molekul-molekul. Awalnya elektroforesis gel dilakukan dengan medium gel kanji (sebagai fase diam) untuk memisahkan biomolekul yang lebih besar seperti protein-protein. Kemudian elektroforesis gel berkembang dengan menjadikan agarosa dan poliakrilamida sebagai gel media (Campbell *et al.*, 2002).

#### b. Elektroforesis Gel Agarose

Salah satu gel yang dapat digunakan pada elektroforesis adalah gel agarose. Agarose digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan memurnikan fragmen-fragmen DNA (Sambrook *et al.*, 1989).

Pergerakan DNA pada elektroforesis gel agarose dipengaruhi oleh beberapa faktor sebagai berikut (Martin R., 1996 dalam Utami, Kusharyati, Pramono, 2013):

1. Ukuran molekul DNA

Molekul DNA kecil akan melintasi gel lebih cepat karena ruang gerak yang tersedia untuk melintasi gel lebih banyak.

2. Konsentrasi gel

Konsentrasi agarose yang semakin tinggi menyebabkan molekul-molekul DNA sukar melewati gel. Konsentrasi gel tinggi mempermudah DNA berukuran kecil melewati gel, sedangkan konsentrasi gel rendah mempermudah molekul DNA berukuran besar untuk melintasi gel.

3. Bentuk molekul

Molekul yang berbentuk *supercoil* atau elips akan bergerak lebih cepat melewati gel.

4. Densitas muatan

Molekul dengan densitas tinggi akan lebih cepat bergerak dibandingkan molekul dengan densitas rendah. Densitas merupakan jumlah muatan per unit volume molekul.

5. Voltase

Voltase tinggi akan menyebabkan cepatnya pergerakan molekul DNA. Hal tersebut dikarenakan oleh tingginya muatan positif yang ditimbulkan.

6. Larutan *buffer*

Buffer dengan kadar ion tinggi akan menaikkan konduktansi listrik sehingga migrasi DNA akan lebih cepat.



### C. Gen *Formin Binding Protein 1-Like* (FNBP1L)

Polimorfisme gen FNBP1L SNP rs236330 dilaporkan merupakan gen yang berhubungan dengan kecerdasan manusia dewasa dan anak-anak (Benyamin *et al.*, 2013). FNBP1/FBP17/Rapostlin dan TRIP10/CIP4 adalah struktur yang berhubungan dengan protein pengikat mikrotubul yang mengatur regulasi sel, ukuran sel, polarisasi, motilitas dan transduksi sinyal. Kita dapat mengidentifikasi FNBP1-like atau FNBP1L gen menggunakan biotransformasi. FLJ20275 manusia (NM\_017737.1) dan 2610318I01Rik pada tikus (NM\_153118.1) merupakan bagian dari cDNAs FNBP1L gen manusia dan FNBP1L gen pada tikus. Exons 1-7 dari gen FNBP1L berlokasi di sekitar genom manusia pada urutan AL512651.13, dan ekson 7-15 sekitar AL109613.11. Urutan koding lengkap dari FNBP1L ditentukan oleh silico, yaitu urutan nukleotida dari ekson FNBP1L. FNBP1L (547 aa) menunjukkan 59,4 and 55,4% total identifikasi asam amino pada FNBP1 and TRIP10. FNBP1L, FNBP1 dan TRIP10 menunjukkan struktur domain penting, yang terdiri dari FCH, FBH, HR1 dan domain SH3. FCH merupakan domain dari keluarga protein FNBP1 yang merupakan domain pengikat mikrotubul. HR1 (juga diketahui sebagai *antiparallel coiled-coil finger*) adalah domain pengikat untuk keluarga protein Rho, contohnya ARHN/RhoN dan CDC42. SH3 domain dari keluarga protein FNBP1 berinteraksi dengan regio yang kaya *proline-regio* dan Formin yang merupakan keluarga protein WASP. Gen FNBP1L berhubungan dengan SH2D3B/BCAR3 gen pada *tail-to-tail manner* dengan interval kurang dari 8 kb sekitar genom manusia. Lokus gen FNBP1L-

SH2D3B 1p22.1 pada kromosom manusia yang paralog dengan lokus GPR108-TRIP10-SH2D3A pada 19p13.3 dan GPR107-FNBP1-SH2D3C pada lokus 9q34.11-q34.13 (Davies *et al.*, 2011).



Gambar 14. Lokasi Gen FNBP1L (Davies *et al.*, 2011)

#### D. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

##### 1. Definisi PCR

PCR merupakan suatu reaksi *in vitro* untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan nukleotida target tersebut melalui bantuan enzim polimerase dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu *termocycler* (Riyantini *et al.*, 2014). Primer yang digunakan sebagai pembatas daerah yang diamplifikasi adalah suatu sekuens DNA untaitunggal yang urutannya komplemen dengan DNA targetnya. Primer yang berada sebelum daerah target disebut primer *forward* dan yang berada setelah daerah target disebut primer *reverse*. Dalam teknik PCR juga dibutuhkan dNTP sebagai bahan penyusun DNA serta enzim DNA *polymerase* (contohnya Taq DNA

*polymerase*) untuk mensintesis fragmen DNA (Somma dan Querci, 2000). PCR dapat melipatgandakan/ memperbanyak molekul DNA dan memisahkan gen-gen yang terdapat pada DNA (Novel, 2011).

## 2. Cara Kerja PCR

Proses dalam PCR dibagi menjadi tiga langkah, yaitu denaturasi DNA pada suhu tinggi, penempelan (*annealing*) primer pada DNA target, serta sintesis DNA (*extension/elongation*). Satu kali putaran denaturasi, *annealing*, dan *elongation* disebut dengan siklus (*cycle*). Reaksi amplifikasi fragmen DNA dengan PCR terjadi secara berulang dalam 30-45 siklus (Walker dan Rapley, 2009). Penjelasan siklus tersebut akan dijelaskan di bawah ini:

### 1. Denaturasi

Di dalam proses PCR, denaturasi awal dilakukan sebelum enzim Taq polimerase ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Denaturasi DNA merupakan proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Ini biasanya berlangsung sekitar 1-3 menit, untuk meyakinkan bahwa molekul DNA terdenaturasi menjadi DNA untai tunggal yang dilakukan pada suhu 92-95°C. Denaturasi yang tidak lengkap mengakibatkan DNA mengalami renaturasi (membentuk DNA untai ganda lagi) secara cepat, dan ini mengakibatkan gagalnya proses PCR. Adapun waktu denaturasi yang terlalu lama dapat mengurangi aktifitas enzim Taq polimerase.

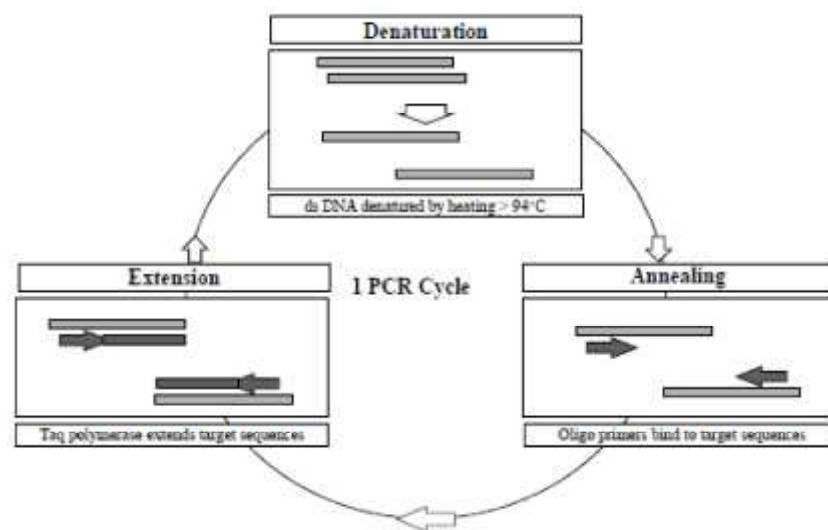
## 2. Penempelan primer (*Annealing*)

Kriteria yang umum digunakan untuk merancang primer yang baik adalah bahwa primer sebaiknya berukuran 18–25 basa, mengandung 50–60 % G+C dan untuk kedua primer tersebut sebaiknya sama. Sekuens DNA dalam masing-masing primer itu sendiri juga sebaiknya tidak saling berkomplemen, karena hal ini akan mengakibatkan terbentuknya struktur sekunder pada primer tersebut dan mengurangi efisiensi PCR. Waktu *annealing* yang biasa digunakan dalam PCR adalah 30–45 detik. Semakin panjang ukuran primer, semakin tinggi temperaturnya. Kisaran temperatur penempelan yang digunakan adalah antara 36°C sampai dengan 72°C, namun suhu yang biasa dilakukan itu adalah antara 50–60°C. Optimasi suhu untuk tahap *annealing* sangat penting karena jika suhu terlalu rendah, primer akan menempel pada daerah yang tidak spesifik (non target). Di sisi lain jika suhu yang dipakai terlalu tinggi, primer tidak akan dapat menempel pada DNA target (Walker dan Rapley, 2009).

## 3. Pemanjangan Primer (*Extention*)

Selama tahap ini, Taq polimerase memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut pada suhu 72°C diperkirakan 35–100 nukleotida/detik, bergantung pada *buffer*, pH, konsentrasi garam dan molekul DNA target. Dengan demikian untuk produk PCR dengan panjang 2000 pasang basa, waktu 1 menit sudah lebih dari cukup untuk tahap perpanjangan primer

ini (Yusuf, 2010). Ketiga tahap utama dalam proses amplifikasi tersebut dapat dilihat lebih jelas pada Gambar 13. Setelah proses PCR selesai, ampikon (fragmen DNA produk amplifikasi) PCR dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarose (Pelt-Verkuil *et al.*, 2007).



Gambar 15. Tahapan Amplifikasi PCR (Walker dan Rapley, 2009)

### 3. Jenis PCR

Saat ini berbagai tipe PCR telah dikembangkan untuk berbagai keperluan yang memerlukan kerja lebih spesifik. Beberapa contoh tipe PCR yang telah dikembangkan adalah *Nested PCR*, *Multiplex PCR*, *Reverse Transcriptase PCR*, dan *Real-Time PCR*. Penjelasan terhadap beberapa jenis PCR adalah sebagai berikut:

1. *Nested PCR* digunakan dua set primer dengan satu set primer yang lebih panjang untuk amplifikasi awal dan satu set primer yang lebih pendek

untuk mengamplifikasi kembali amplicon dari amplifikasi oleh primer yang lebih panjang. *Nested* PCR digunakan untuk meningkatkan sensitivitas serta spesifitas dari amplifikasi DNA (Newton dan Graham, 1994).

2. *Multiplex* PCR digunakan banyak pasangan primer dalam satu *tube* reaksi PCR untuk mengamplifikasi banyak sekuen target secara simultan.
3. *Reverse Transcriptase* PCR digunakan untuk amplifikasi mRNA spesifik, misalnya pada diagnosis virologi (Atlas dan Bey, 1994).
4. *Real-Time* PCR, amplifikasi DNA dapat berjalan lebih cepat, lebih akurat, dan lebih sensitif dibandingkan dengan metode PCR konvensional. Selain itu, kemungkinan terjadinya kontaminasi dapat diminimalisasi karena sistemnya yang tertutup. Selain itu analisisnya tidak memerlukan elektroforesis karena amplicon hasil *Real-time* PCR dimonitor dengan sinyal fluoresens sehingga hasil analisa dapat dilakukan secara langsung (Camma *et al.*, 2011).

### **E. Primer spesifik**

Primer adalah sepasang DNA untai tunggal atau oligonukleotida pendek yang menginisiasi sekaligus membatasi reaksi pemanjangan rantai atau polimerisasi DNA. Primer merupakan komponen PCR yang sangat menentukan akurasi sekuen DNA yang ingin diamplifikasi. Urutan nukleotida primer akan menjadi penentu pada bagian mana primer akan menempel (*anneal*) pada genom. Jika urutan nukleotidanya tidak sesuai dengan kode gen yang kita inginkan, dapat

dipastikan produk PCR yang dihasilkan akan keliru. Primer dirancang untuk memiliki sekuen yang komplemen dengan DNA target, sehingga dirancang agar menempel mengapit daerah tertentu yang diinginkan (Pestana *et al.*, 2010).