

NISBAH KELAMIN PADA PERSILANGAN HOMOGAMI *D. melanogaster* STRAIN NORMAL (N), WHITE (w), DAN SEPIA (Se)

I WAYAN KARMANA

FPMIPA IKIP Mataram

ABSTRAK

Pada *D. melanogaster* sering terjadi penyimpangan nisbah kelamin yang tidak mengikuti nisbah normal 1:1, hal demikian ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah karakteristik spermatozoa, viabilitas, gen transformer (tra), pautan dan resesif letal, suhu, *segregation distorsion*, dan umur jantan. Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap nisbah kelamin pada persilangan *D. melanogaster* strain normal (N), white (w), dan sepia (Se). Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa pada persilangan strain w x w pada F2 terjadi penyimpangan nisbah, sedangkan pada F1, F3, dan F4 tidak terjadi penyimpangan. Sementara itu pada persilangan strain N x N dan Se x Se baik pada F1, F2, F3, dan F4 tidak menunjukkan penyimpangan dari nisbah normal 1:1.

Kata kunci: nisbah kelamin, homogami, strain, D. melanogaster

PENDAHULUAN

Drosophila melanogaster (*D. melanogaster*) merupakan serangga (*Insecta*) yang memiliki kromosom kelamin seperti kromosom kelamin pada manusia, yaitu XX untuk individu betina dan XY untuk individu jantan. Jenis kelamin merupakan salah satu karakter fenotip yang nyata, meskipun perbedaan anatomis dan fisiologis antara jantan dan betina sangat besar, tetapi dasar kromosom seksnya sedikit lebih sederhana (Campbell, 2002). Pada lalat buah (*D. melanogaster*), ada dua kromosom seks, yang dilambangkan dengan X dan Y.

D. melanogaster jantan memiliki kromosom kelamin XY, sedangkan *D. melanogaster* betina memiliki kromosom kelamin XX. Dalam hubungan ini, individu betina *D. melanogaster* mewarisi satu kromosom X dari induk jantan dan satu kromosom X lainnya dari induk betina, sedangkan individu jantan *D. melanogaster* mewarisi satu kromosom X dari induk betina dan satu kromosom Y dari induk jantan (Corebima, 2003).

Setiap ovum yang diproduksi oleh individu betina, mengandung kromosom X, sedangkan sperma individu jantan terbagi menjadi dua kategori, sebagian mengandung kromosom X dan sebagian yang lain mengandung kromosom Y. Jika sperma yang kebetulan membawa kromosom X membuahi ovum, maka turunan yang dihasilkan akan mempunyai kromosom XX, berjenis kelamin betina, dan jika sperma yang membawa kromosom Y membuahi ovum, maka turunan yang dihasilkan adalah berkelamin jantan dengan kromosom XY. Dengan demikian penentuan jenis kelamin turunan merupakan masalah kemungkinan, dengan peluangnya adalah 50 - 50 (Campbell, 2002).

Corebima (1997) menyatakan bahwa pola ekspresi kelamin atau penentuan jenis kelamin ditentukan oleh gen. Gen-gen tersebut terletak pada autosom, pada kromosom kelamin ataupun pada keduanya.

Nisbah kelamin adalah jumlah individu jantan dibagi dengan jumlah individu betina dalam satu spesies yang sama (Herskowit, 1973). Berkenaan dengan penentuan jenis kelamin *D. melanogaster* Bridges (1910) dalam Nurjannah (1998) berpendapat bahwa mekanisme penentuan jenis kelamin *D. melanogaster* lebih tepat didasarkan atas teori perimbangan genetik. Teori ini dinyatakan dengan Indeks kelamin yaitu banyaknya kromosom X dibagi dengan banyaknya autosom pada suatu pasangan atau disingkat X/A.

Pada *D. melanogaster* sering terjadi penyimpangan nisbah (tidak 1 : 1), hal demikian ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah karakteristik spermatozoa, viabilitas, gen transformer (tra), pautan dan resesif letal, suhu, *segregation distorsion*, dan umur jantan. Adanya alel resesif autosom yang disebut *transformer* (tra) dari persilangan antar betina carier resesif tra (tra tra xx) dengan jantan homozigot resesif tra (tra tra xy), pada keturunan akan diperoleh nisbah jantan dengan betina yang tidak normal yaitu 3 : 1 (Rothwell, 1983).

Dalam penelitian ini digunakan lalat buah *D. melanogaster* strain N, w, dan Se dengan alasan bahwa cepat berkembang biak, mudah diperoleh dan dipelihara, cepat menjadi dewasa (umur 10 - 14 hari sudah dewasa), lalat betina bertelur banyak, sehingga mudah diteliti.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengungkap nisbah kelamin pada persilangan homogami *D. melanogaster* pada strain normal (N), white (w), dan sepia (Se) dari turunan F1, F2, F3 dan F4.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk jenis penelitian deskriptif yang menggambarkan nisbah kelamin pada persilangan *D. melanogaster* strain normal (N), white (w), dan strain sepia (Se) untuk 4 keturunan yaitu turunan F1, F2, F3, dan F4.

Populasi dalam penelitian ini adalah *D. melanogaster* strain normal (N), white (w), dan strain sepia (Se), sedangkan sampel dari penelitian ini adalah *D. melanogaster* strain normal (N), white (w), dan strain sepia (Se) yang dibiakkan dilaboratorium Genetika FMIPA Universitas Negeri Malang yang dijadikan sebagai stok dalam penelitian ini.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang yang dilakukan mulai bulan Oktober sampai Desember 2009.

Adapun instrumen penelitian meliputi: (1) alat-alat yaitu mikroskop stereo, gelas arloji, jarum, botol biakan pipet, botol/plastik ampul, tutup botol spon, selang plastik, kain kasa, silet/cutter; dan (2) bahan-bahan yaitu lalat *Drosophila melanogaster* strain N, w, dan Se, kertas pupasi sebagai tempat peletakan pupa lalat, pisang rajamala, tape ketela pohon, gula merah, alkohol 70%, yeast, dan air secukupnya. Selanjutnya prosedur dan teknik pengumpulan data dilakukan sebagai berikut :

1. Persiapan medium

- Menyiapkan bahan-bahan dengan komposisi: pisang rajamala 700 gr, tape ketela pohon 200 gr, dan gula merah 100 gr (perbandingan 7 : 2 : 1)
- Mencampur ketiga bahan tersebut (butir a) menjadi adonan yang halus dan homogen dengan menggunakan blender.
- Menambahkan air ke adonan secukupnya dan memanaskannya kurang lebih selama 20 menit atau sampai adonan masak.
- Menuangkan medium tersebut ke dalam botol biakan sekitar sepertiga tinggi botol, kemudian didinginkan dan ditambah yeast kira-kira 7 butir.
- Memasukkan kertas pupasi ke dalam botol yang telah berisi medium tersebut.
- Selanjutnya menutup botol dengan penutup spon.

2. Persiapan stok induk

- Menyiapkan botol untuk membuat stok induk dan memberikan tanda pada botol untuk strain yang digunakan yaitu strain N, w, dan Se.
- Memasukkan beberapa pasang strain ke botol tersebut dan menuliskan pada masing-masing botol tanggal biakan.
- Biakan diamati hingga munculnya pupa.
- Sebelum pupa menetas dilakukan isolasi agar dapat digunakan untuk persilangan.
- Setelah pupa menjadi imago dilakukan persilangan.

3. Prosedur pengumpulan data

- Pupa yang sudah menetas diamati jenis kelaminnya, ♂ atau ♀. Untuk tetasan *D. melanogaster* dengan jenis kelamin ♂, dipindahkan ke dalam botol berisi medium. Satu botol untuk satu ekor *D. melanogaster* jenis kelamin ♂ berumur 2-3 hari dari masing-masing strain kemudian disilangkan dengan ♀ umur 2-3 hari pula.
- Semua strain disilangkan dengan cara *homogami* artinya disilangkan dengan sesamanya, dilakukan 3 kali ulangan.
- Setelah persilangan berlangsung selama 2 hari, *D. melanogaster* ♂ kemudian dilepas.
- D. melanogaster* ♀ dibiarkan tetap di dalam botol sampai ada pupa yang menghitam, setelah itu *D. melanogaster* ♀ dipindah ke botol yang lain.

- e. Jika ada pupa yang menetas, maka hari itu dihitung sebagai hari pertama. tetasan dihitung setiap hari selama tujuh hari.
- f. Penghitungan dilakukan dengan memperhatikan strain dan jenis kelamin.

Pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan secara langsung dengan menghitung jumlah keturunan yang dihasilkan baik jantan maupun betina sejak hari pertama menetas hingga hari ketujuh dan mencatatnya dalam tabel data.

Data yang telah terkumpul dianalisis dengan teknik analisis *Chi Kuadrat* (χ^2) dengan menggunakan taraf signifikansi 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis data diperoleh ringkasan perhitungan *Chi-Kuadrat* (X^2) sebagai berikut.

1. Persilangan *D. melanogaster* Strain N x N

F1

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
N	♂	163	174	-11	121	0,695	3,841
	♀	185	174	11	121	0,695	
	Total	348				1,390	

Perbandingan jantan : betina = 1 : 1,135

χ^2 hitung < χ^2 tabel

1,390 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F1 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan N x N

F2

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
N	♂	259	278	-19	361	1,298	3,841
	♀	297	278	19	361	1,298	
	total	556				2,596	

Perbandingan jantan : betina = 1 : 1,147

χ^2 hitung < χ^2 tabel

2,596 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F2 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan N x N

F3

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
N	♂	267	268	-1	1	0,0037	3,841
	♀	269	268	1	1	0,0037	
	Total	536				0,0074	

Perbandingan jantan : betina = 1 : 1,007

χ^2 hitung < χ^2 tabel

0,0074 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F3 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan N x N

F4

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
N	♂	194	206,5	-12,5	156,25	0,757	3,841
	♀	219	206,5	12,5	156,25	0,757	
	Total	413				1,514	

Perbandingan jantan : betina = 1 : 1,129

χ^2 hitung < χ^2 tabel

1,514 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F4 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan N x N

2. Persilangan *D. melanogaster* Strain w x w

F1

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
w	♂	131	137	-6	36	0,263	3,841
	♀	143	137	6	36	0,263	
	Total	274				0,526	

Perbandingan jantan : betina = 1 : 1,092

χ^2 hitung < χ^2 tabel

0,526 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F1 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan w x w

F2

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
w	♂	158	176,5	-18,5	342,25	1,939	3,841
	♀	195	176,5	18,5	342,25	1,939	
	Total	353				3,878	

Perbandingan jantan : betina = 1 : 1,234

χ^2 hitung > χ^2 tabel

3,878 > 3,841

χ^2 hitung > χ^2 tabel, artinya terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F2 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan w x w

F3

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
w	♂	230	249,5	-19,5	380,25	1,524	3,841
	♀	269	249,5	19,5	380,25	1,524	
	total	499				3,048	

Perbandingan jantan : betina = 1 : 1,169

χ^2 hitung < χ^2 tabel

3,048 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F3 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan w x w

F4

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
w	♂	172	182,5	-10,5	110,25	0,604	3,841
	♀	193	182,5	10,5	110,25	0,604	
	total	365				1,208	

Perbandingan jantan : betina = 1 : 1,122

χ^2 hitung < χ^2 tabel

1,208 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F4 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan w x w

3. Persilangan *D. melanogaster* Strain Se \times Se

F1

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
Se	♂	81	90,5	-9,5	90,25	0,997	3,841
	♀	100	90,5	9,5	90,25	0,997	
	Total	181				1,994	

Perbandingan jantan : betina = 1 : 1,234

χ^2 hitung < χ^2 tabel

1,994 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F1 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan Se x Se

F2

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
Se	♂	106	102	4	16	0,157	3,841
	♀	98	102	-4	16	0,157	
	Total	204				0,314	

Perbandingan jantan : betina = 1,081 : 1

χ^2 hitung < χ^2 tabel

0,314 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F2 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan Se x Se

F3

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
Se	♂	123	122	1	1	0,008	3,841
	♀	121	122	-1	1	0,008	
	total	244				0,016	

Perbandingan jantan : betina = 1,016 : 1

χ^2 hitung < χ^2 tabel

1,016 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F3 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan Se x Se

F4

Fenotip	Sex	fo	fh	(fo-fh)	(fo-fh) ²	$\frac{(fo-fh)^2}{fh}$	χ^2 tabel 5%
Se	♂	185	191,5	-6,5	42,25	0,221	3,841
	♀	198	191,5	6,5	42,25	0,221	
	total	383				0,442	

Perbandingan jantan : betina = 1 : 1,070

χ^2 hitung < χ^2 tabel

0,442 < 3,841

χ^2 hitung < χ^2 tabel, artinya tidak terjadi penyimpangan nisbah kelamin pada F4 dari nisbah kelamin normal 1 : 1 pada persilangan Se x Se

Berdasarkan hasil analisis dengan uji *Chi Kuadrat*, diperoleh bahwa pada persilangan F2 w x w terjadi penyimpangan nisbah dari nisbah kelamin normal 1:1, hal ini dapat dilihat dengan adanya hasil χ^2 hitung lebih besar dibandingkan dengan χ^2 tabel. Penyimpangan nisbah ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Seperti yang diungkapkan oleh Rothwell (1983), bahwa penyimpangan nisbah kelamin dapat disebabkan oleh yaitu alela resesif autosom yang disebut *transformer* (tra). Dari persilangan antara betina karier resesif tra (tratta XX) dengan jantan homozigot resesif tra (tratta XY), pada keturunan akan diperoleh nisbah jantan betina yang tidak normal yaitu 3 : 1. Untuk penelitian yang kami lakukan tidak menemukan perbandingan demikian.

Begitu pula yang dinyatakan oleh Strickberger (1985) bahwa hadirnya gen letal pada kromosom X juga akan mempengaruhi jenis kelamin, dimana dari persilangan antara betina (heterozigot) yang membawa gen letal dengan jantan normal diperoleh keturunan jantan : betina sama dengan 1 : 2.

Namun jika dilihat dari hasil yang diperoleh melalui dari perhitungan analisis data, maka penyimpangan yang terjadi pada turunan F2 dari persilangan $w \times w$ tersebut lebih cenderung pada penyimpangan yang disebabkan oleh adanya kehadiran gen letal pada kromosom X yang juga akan mempengaruhi jenis kelamin. Pernyataan tersebut dapat diperkuat oleh adanya data hasil perbandingan jumlah jantan yang lebih sedikit daripada individu betina, yang cenderung menunjukkan perbandingan antara jantan : betina yaitu 1 : 2.

Faktor lain yang dapat menyebabkan penyimpangan tersebut diantaranya adalah viabilitas dan *segregation distortion*. Pada kejadian viabilitas jantan dari beberapa spesies mempunyai jumlah kematian yang lebih tinggi dibanding dengan betina pada semua umur (Maxon, 1985 dalam Farida 2006). Kematian zigot jantan dapat disebabkan oleh kehadiran *helical mycoplasma* yang bersifat dapat menginfeksi materi genetik asam nukleat strain-strain pada *Drosophila*. Sedangkan pada kejadian *segregation distortion* atau *meiotic drive* yang merupakan adanya gangguan pada pemisahan gamet saat gametogenesis menyebabkan individu jantan *D. melanogaster* akan memproduksi lebih banyak gamet yang membawa kromosom X (Strickberger, 1985), sehingga kecenderungan individu jantan lebih rendah dibandingkan individu betina.

Pada turunan F1, F3, dan F4 untuk persilangan strain $w \times w$, turunan F1 sampai dengan F4 untuk persilangan strain $N \times N$, dan pada turunan F1 sampai dengan F4 untuk persilangan strain $Se \times Se$ tidak terjadi penyimpangan nisbah dari nisbah kelamin normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Devries Zimerins, dan Fowler dalam Nurjanah (1998) bahwa persilangan *D. melanogaster* dengan strain yang sama mendekati nisbah kelamin normal yaitu 1 : 1.

Didapatkannya perbandingan 1 : 2 pada turunan F2 strain w dalam penelitian ini, juga diduga karena pemindahan strain w yang tidak berulang-ulang (hanya dua kali pemindahan). Secara teoritis bahwa dalam pengumpulan data yang semakin banyak dalam hal ini pemindahan induk strain yang berulang-ulang akan semakin menunjukkan tingkat validnya penelitian dan akan menunjukkan semakin tingginya tingkat signifikansi hasil penelitian.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan analisis data, pembahasan, dan terbatas pada lingkup penelitian ini, maka dapat diambil simpulan sebagai berikut.

1. Nisbah kelamin pada persilangan *D. melanogaster* strain $w \times w$ dan pada turunan kedua (F2) mengalami penyimpangan nisbah dari nisbah normal 1 : 1.
2. Nisbah kelamin pada persilangan *D. melanogaster* strain $w \times w$ pada turunan pertama (F1), ketiga (F3), dan keempat (F4) tidak menunjukkan adanya penyimpangan nisbah dari nisbah normal 1 : 1.
3. Nisbah kelamin pada persilangan *D. melanogaster* strain $N \times N$ dan persilangan strain $Se \times Se$ pada turunan pertama (F1) sampai dengan keempat (F4) tidak menunjukkan penyimpangan nisbah dari nisbah normal 1 : 1.

Saran-Saran

1. Sebaiknya melakukan pengamatan fenotip dengan cermat dan seteliti mungkin untuk menghindari kesalahan dalam perhitungan untuk menentukan jantan dan betina.
2. Memperhatikan interaksi antara faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil pengamatan, terutama faktor medium dan faktor suhu.
3. Menjaga kualitas medium agar perkembangbiakan dan pertumbuhan *D. melanogaster* lebih banyak dan cepat.
4. Diperlukan penelitian lanjutan terkait dengan nisbah kelamin pada strain lain.

DAFTAR RUJUKAN

- Anonim. 2007. *Kromosom*, (Online), (<http://free.vlsm.org/v12/sponsor/Sponsor-Pendamping/Praweda/Biologi/0122%20Bio%203-2c.htm>, diakses tanggal 9 Desember 2009).
- Anonim. Tanpa tahun.(*On-line*). <http://en.wikipedia.org/wiki/Drosophila>. Diakses tanggal 9 Desember 2009.
- Burn, G. W. 1989. *The Science of Genetics. Edisi 6*. New York: MacMillan Publishing Company.
- Campbell. 2002. *Biologi*. Jakarta: Erlangga
- Corebima, A. D. 1997. *Penentuan Jenis Kelamin Pada Makhluk Hidup, Suatu Kajian Genetik Mulai dari Chlamydomonas Hingga Manusia*. Pidato Lektorat. Malang: FPMIPA-IKIP Malang.
- Corebima, A. D. 2003. *Genetika Mendel*. "Surabaya: Airlangga University Press.
- Crowder, L. V. 1990. *Genetika Tumbuhan*. Terjemahan oleh Lilik Kusdiarti (1990). Yogyakarta: UGM Press.
- Farida. 1995. *Pengaruh Suhu terhadap Nisbah Kelamin Drosophila melanogaster*. Skripsi tidak diterbitkan Malang: IKIP Malang
- Fowler, G. L. 1973. *Genetics*. New York : MacMillan Publishing.
- Gardner, E. J. 1984. *Principles of Genetics*. New York: John Willey and Soons, Inc.
- Herkowitz, I., J. 1973. *Principle of Genetics*. Edisi 2. New York: MacMillan Publishing. Co, Inc.
- Maxon, L. R. 1985. *Genetics*. United State of America: Brown Publisher.
- Mulyati. L. 2000. "Pengaruh Strain dan Umur Jantan terhadap jumlah turunan jantan dan betina *D. melanogaster*". Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Nurjanah. 1998. *Pengaruh Umur Drosophila melanogaster Jantan dan Strain Terhadap Nisbah Kelamin*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: FMIPA-IKIP Malang.
- Rothwell, N. V. 1983. *Understanding Genetics. Edisi 3*. New York: Oxford ingleton, R. W. 1962. *Elementary Genetics*. New York: D. Van Nostrand Company, Inc.
- Strickberger, M. W. 1962. *Experiments in Genetics with Drosophila*. Departement of Biology University of Missouri. St. Louis.
- Strickberger, M. W. 1985. *Genetics*. Edisi 3. New York: MacMillan Publishing Company.
- Sugiyono, 2007. *Statistika untuk Penelitian*. Bandung: CV. Alfabeta
- Wikipedia. 2007. *Organisme Model*, (Online), (http://id.wikipedia.org/wiki/Organisme_model) diakses tanggal 9 Maret 2009.