

Keragaman Morfologi dan Diferensiasi Genetik Sapi *Peranakan Ongole* di Peternakan Rakyat

HARTATI¹, SUMADI², SUBANDRIYO³ dan TETY HARTATIK²

¹Loka Penelitian Sapi Potong, Grati-Pasuruan

²Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

³Balai Penelitian Ternak, Ciawi-Bogor

(Diterima dewan redaksi 6 Januari 2010)

ABSTRACT

HARTATI, SUMADI, SUBANDRIYO and T. HARTATIK. 2010. Morphological diversity and genetic differentiation of PO cattle in smallholder farmers. *JITV* 15(1): 72-80.

PO cattle is one of the local cattle with high genetic diversity. The aim of this research was to study genetic diversity of PO cattle in smallholder farmer based on morphology and molecular markers. This research was conducted at breeding center in East Java and Central Java include Tuban, Lamongan and Blora regency, since June until December 2008. PO bull used were of 18 months until 24 months of age and cow of 24 months until 36 months of age or at first calving as much as 30 head each location. The variables measured were body weight, body length, withers height, hip height, shoulder point width, chest girth, chest depth, canon bone circumference, head length and head width. Data were analyzed using descriptive statistic, average analysis between subpopulations, discriminant and canonical analysis and mahalanobis distance was done by SAS DISCRIM procedure. Whole blood were collected to get the data of polymorphism DNA microsatellite using technology of PCR and electrophoresis using 6 microsatellite loci. Variable measured were number and size of alel, alel frequency, heterozygosity, genetic distance and fixation index (F-stat). Data were analyzed using analysis of Microsate Toolkit, GENEPOPV4, MSA (Microsatellite Analyser) and Mega 4. The result showed that Blora and Tuban subpopulation have genetic diversity which is relative lower compared to that of Lamongan. The genetic distance which was close presented by Tuban and Blora subpopulation while Lamongan and Tuban subpopulation show far genetic distance. The result of canonical analyses showed high correlation on shoulder point width, head width, body length, withers height and hip height variable so this five variable can be used as distinguishing variables among subpopulation. The result of molecular genetics analysis using microsatellite showed that highest frequency of alel presented by HEL9 locus at Tuban population so this loci have the high polymorfism. The genetic differentiation among subpopulation showed by differentiation F_{ST} value among six loci indicating the increasing of inbreeding in the three subpopulations.

Key words: Morphological Diversity, Genetic Differentiation, PO Cattle

ABSTRAK

HARTATI, SUMADI, SUBANDRIYO dan T. HARTATIK. 2010. Keragaman morfologi dan diferensiasi genetik sapi *Peranakan Ongole* di peternakan rakyat. *JITV* 15(1): 72-80.

Sapi PO merupakan salah satu sapi potong lokal yang memiliki keragaman genetik yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji keragaman genetik sapi PO di peternakan rakyat yang didasarkan pada penanda morfologi dan penanda molekuler. Penelitian ini dilakukan di sentra peternakan rakyat meliputi sentra pembibitan di Jawa Timur dan Jawa Tengah (Kabupaten Tuban, Lamongan dan Blora) mulai dari Juni sampai Desember 2008. Materi yang digunakan adalah sapi PO jantan umur 18 sampai 24 bulan dan betina umur 24 sampai 36 bulan atau yang sudah pernah melahirkan satu kali, sebanyak 30 ekor per lokasi. Variabel yang diamati adalah karakteristik kuantitatif meliputi bobot hidup, panjang badan, tinggi gumba, tinggi pinggul, lebar dada, lingkaran dada, dalam dada, lingkaran canon bone, panjang kepala dan lebar kepala. Analisis data menggunakan statistik deskriptif, uji rataan antar populasi, analisis diskriminan dan analisis korelasi kanonik dan jarak mahalanobis dalam bentuk phenogram menggunakan paket program SAS DISCRIM procedure. Koleksi sampel darah juga dilakukan untuk memperoleh data polimorfisme DNA mikrosatelit dengan menggunakan teknologi PCR dan elektroforesis menggunakan 6 macam primer mikrosatelit. Variabel yang diamati meliputi jumlah dan ukuran alel, frekuensi alel, rataan heterozigositas, jarak genetik dan indeks fiksasi (F-Stat). Analisis data menggunakan program Mikrosat Toolkit, GENEPOPV4, MSA (*Microsatellite Analyser*) dan Mega 4. Hasil penelitian menunjukkan bahwa subpopulasi Blora dan Tuban memiliki keragaman yang relatif rendah bila dibandingkan dengan Lamongan. Jarak genetik terdekat ditampilkan oleh subpopulasi Tuban dengan Blora dan terjauh ditampilkan subpopulasi Lamongan dengan Tuban. Hasil analisis kanonik menunjukkan korelasi relatif tinggi pada variabel lebar dada, lebar kepala, panjang badan, tinggi gumba dan tinggi pinggul sehingga kelima variabel ini bisa digunakan sebagai peubah pembeda antar subpopulasi. Hasil analisis molekuler menunjukkan bahwa keragaman genetik tertinggi ditampilkan oleh subpopulasi Lamongan sedangkan frekuensi alel sangat bervariasi dan tertinggi dihasilkan oleh lokus HEL9 pada subpopulasi Tuban sehingga lokus ini bersifat polimorfik yang tinggi. Jarak genetik terdekat ditampilkan oleh subpopulasi Tuban dengan Blora dan terjauh

ditampilkan oleh subpopulasi Lamongan dengan Tuban. Diferensiasi genetik antar subpopulasi ditunjukkan oleh perbedaan nilai F_{ST} antar ke enam lokus yang merupakan indikasi meningkatnya *inbreeding* pada ketiga subpopulasi.

Kata kunci: Keragaman Morfologi, Diferensiasi Genetik, Sapi PO

PENDAHULUAN

Sapi PO merupakan salah satu sapi potong lokal yang memiliki keragaman genetik yang tinggi. Kondisi sapi PO saat ini diisukan mengalami penurunan produktivitas dan mutu genetik, yang disinyalir akibat program persilangan yang tidak terarah sehingga perlu adanya upaya untuk mempertahankan eksistensi sapi PO sebagai plasma nutfah. Perbaikan mutu genetik dapat dilakukan melalui kegiatan seleksi pada suatu populasi yang memiliki keragaman genetik yang cukup tinggi. Apabila suatu karakter memiliki keragaman genetik cukup tinggi, maka setiap individu dalam suatu populasi hasilnya akan tinggi pula, sehingga seleksi akan lebih mudah untuk mendapatkan sifat-sifat yang diinginkan

Pada studi keragaman genetik, penanda morfologi dan penanda molekuler telah banyak digunakan antara lain untuk mengidentifikasi genetik individu, estimasi keragaman populasi, diferensiasi populasi, menghitung jarak genetik dan hubungan genetik antar subpopulasi. Penanda morfologi (fenotipik) merupakan penanda yang telah banyak digunakan baik dalam program genetika dasar maupun dalam program pemuliaan praktis. Hal ini disebabkan penanda ini paling mudah untuk diamati dan dibedakan. Penanda fenotipik merupakan penciri yang ditentukan atas dasar ciri-ciri fenotipe yang dapat diamati atau dilihat secara langsung, seperti; ukuran-ukuran permukaan tubuh, bobot hidup, warna dan pola warna bulu tubuh, bentuk dan perkembangan tanduk dan sebagainya. Pengukuran parameter tubuh sangat berguna untuk menentukan asal-usul dan hubungan filogenetik antara spesies, bangsa dan tipe ternak yang berbeda. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menyelidiki asal-usul dan hubungan *genealogical* pada beberapa tipe sapi asli Asia Timur, termasuk beberapa sapi asli Indonesia berdasarkan ukuran berbagai bagian tubuh (OTSUKA *et al.*, 1980; OTSUKA *et al.*, 1982), ukuran tengkorak (HAYASHI *et al.*, 1980; HAYASHI *et al.*, 1982). Karakterisasi genetik yang berdasarkan pada penanda morfologi memerlukan observasi yang intensif, disamping itu penanda ini belum dapat memberikan informasi genetik sebenarnya dari individu karena masih dipengaruhi oleh lingkungan. Dengan demikian untuk kegiatan pemuliaan tidak cukup hanya berdasarkan pada informasi karakter morfologi saja. Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi memudahkan untuk melakukan karakteristik genetik dengan penanda genetik molekuler, yang saat ini relatif mudah untuk dikerjakan. Penanda molekuler banyak

digunakan dalam bidang pemuliaan ternak, antara lain untuk mengidentifikasi ternak, penentuan garis keturunan, atau mengevaluasi sumberdaya genetik (CIAMPOLINI *et al.*, 1995) atau untuk mempelajari struktur demografik dan sejarah filogenetik dari suatu populasi (NAUTA dan WEISSING, 1996).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji keragaman genetik sapi PO di peternakan rakyat yang didasarkan pada penanda morfologi dan penanda molekuler.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di peternakan rakyat, meliputi 3 wilayah Kabupaten yaitu Kabupaten Tuban dan Lamongan Propinsi Jawa Timur dan Kabupaten Blora Propinsi Jawa Tengah. Penelitian ini dilakukan selama lebih kurang enam bulan mulai Juni sampai dengan Desember 2008. Materi yang digunakan adalah sapi PO milik peternak sebanyak 30 ekor di masing-masing lokasi, dengan kriteria antar lain jenis kelamin jantan, umur 18 sampai 24 bulan dan betina umur 24 sampai 36 bulan atau yang telah beranak satu kali. Variabel yang diamati terdiri atas karakteristik kuantitatif meliputi bobot hidup, panjang badan, tinggi gumba, dalam dada, lingkaran dada dan tinggi pinggul, lebar dada, lebar pinggang, lebar pinggul, *canon bone*, panjang kepala dan lebar kepala dengan menggunakan timbangan ternak dan pita ukur. Data karakteristik kuantitatif dianalisis dengan menggunakan statistik diskriptif, uji rataan antar populasi, analisis diskriminan, analisis korelasi kanonik dan jarak genetik antar subpopulasi.

Karakteristik genetik molekuler menggunakan DNA genom sapi PO yang diperoleh dari sel darah total (*whole genom*) sampel darah pada masing-masing lokasi. Pengambilan sampel darah menggunakan *disposable syringe* dan tabung *vacutainer heparine* masing-masing sebanyak 5 ml dari *vena jugularis*. Analisis menggunakan teknologi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan elektroforesis; meliputi isolasi dan ekstraksi DNA dengan metode RDGE (SEREMI, 2007) dan kit, amplifikasi DNA menggunakan 6 macam primer mikrosatelit dan visualisasi produk PCR dengan elektroforesis gel *agarose*. Variabel yang diamati meliputi jumlah dan ukuran alel, frekuensi alel, rataan heterozigositas, jarak genetik dan keragaman gen perlokus. Pita DNA yang muncul pada gel *agarose* diasumsikan sebagai alel mikrosatelit. Keragaman alel mikrosatelit ditentukan dari perbedaan migrasi alel pada gel dari masing-masing individu sampel, karena alel

mikrosatelit adalah kodominan maka genotip ditentukan berdasarkan variasi pita alel yang ada. Kemudian dihitung frekuensi masing-masing alel setiap lokus. Diferensiasi genetik diestimasi dengan menggunakan Indeks Fiksasi Wright (F-Statistik) dengan metode korelasi interklas menggunakan frekuensi alel yang diikuti dengan test chi-square. Semua data dianalisis menggunakan program Mikrosat Toolkit, GENEPOP4, MSA (*Microsatellite Analyser*) dan Mega 4.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik kuantitatif sapi PO

Rataan dan simpangan baku sapi PO jantan dan betina antar subpopulasi disajikan pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 dapat dikemukakan bahwa rata-rata bobot hidup, panjang badan, tinggi gumba, tinggi belakang, dalam dada, lebar dada, lingkaran dada, *canon bone*, panjang kepala dan lebar kepala tertinggi pada kedua jenis kelamin ditampilkan oleh subpopulasi Lamongan dan terendah pada subpopulasi Tuban. Hasil

Tabel 1. Rataan bobot badan dan ukuran morfologi sapi PO di wilayah pengamatan

Variabel Kuantitatif	Sex	Sub Populasi								
		Kab. Tuban			Kab. Lamongan			Kab. Blora		
		Sumur Geneng			Brondong			Jiken		
		<i>n</i>	\bar{X}	sd	<i>n</i>	\bar{x}	sd	<i>n</i>	\bar{x}	sd
Bobot Badan	♂	(15)	249,1 ^a	± 62,4	(15)	331,3 ^b	± 64,7	(15)	288,8 ^a	± 70,5
	♀	(15)	284,2 ^a	± 54,5	(15)	302,6 ^a	± 56,4	(15)	302,4 ^a	± 33,8
Panjang Badan	♂	(15)	121,8 ^a	± 10,3	(15)	132,1 ^b	± 7,6	(15)	122,5 ^a	± 12,3
	♀	(15)	124,3 ^a	± 7,1	(15)	134,3 ^b	± 7,6	(15)	125,7 ^a	± 5,6
Tinggi Gumba	♂	(15)	123,6 ^a	± 6,7	(15)	132,9 ^b	± 5,5	(15)	124,1 ^a	± 7,5
	♀	(15)	119,9 ^a	± 8,8	(15)	125,7 ^a	± 5,1	(15)	123,4 ^a	± 5,0
Tinggi Belakang	♂	(15)	128,4 ^a	± 6,7	(15)	140,2 ^b	± 5,1	(15)	128,6 ^a	± 8,3
	♀	(15)	130,6 ^a	± 7,1	(15)	134,1 ^a	± 9,1	(15)	128,9 ^a	± 5,6
Dalam dada	♂	(15)	54,1 ^a	± 4,1	(15)	59,9 ^b	± 3,5	(15)	57,2 ^a	± 5,3
	♀	(15)	56,3 ^a	± 4,1	(15)	56,6 ^a	± 4,4	(15)	56,7 ^a	± 2,4
Lebar dada	♂	(15)	28,2 ^a	± 2,8	(15)	35,3 ^b	± 3,8	(15)	33,4 ^b	± 5,1
	♀	(15)	28,8 ^a	± 3,0	(15)	32,4 ^b	± 2,8	(15)	31,1 ^b	± 2,3
Lingkar dada	♂	(15)	145,0 ^a	± 13,8	(15)	163,3 ^b	± 11,0	(15)	155,9 ^b	± 14,3
	♀	(15)	151,8 ^a	± 10,2	(15)	157,1 ^a	± 12,5	(15)	155,9 ^a	± 6,7
<i>Canon bone</i>	♂	(15)	39,3 ^a	± 4,2	(15)	43,0 ^b	± 2,8	(15)	40,7 ^a	± 3,9
	♀	(15)	38,9 ^a	± 3,2	(15)	37,0 ^a	± 3,0	(15)	37,9 ^a	± 3,1
Panjang kepala	♂	(15)	44,9 ^a	± 5,3	(15)	49,5 ^b	± 2,6	(15)	46,3 ^a	± 2,1
	♀	(15)	45,9 ^a	± 3,2	(15)	46,9 ^a	± 3,1	(15)	45,9 ^a	± 2,2
Lebar kepala	♂	(15)	19,9 ^a	± 1,7	(15)	22,3 ^b	± 1,3	(15)	19,9 ^a	± 2,4
	♀	(15)	19,5 ^a	± 1,4	(15)	21,2 ^b	± 1,8	(15)	20,4 ^{ab}	± 0,6

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada baris yang sama menyatakan berbeda nyata ($P < 0,05$)
sd: standar deviasi

analisis rataan pada kedua jenis kelamin antar subpopulasi menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) pada rataan panjang badan, lebar dada dan lebar kepala. Pada sapi PO jantan rataan panjang badan tinggi gumba, tinggi belakang, lingkaran dada dan panjang kepala pada subpopulasi Tuban berbeda nyata ($P < 0,05$) dari subpopulasi Blora, sedangkan pada sapi PO betina rataan tinggi gumba, tinggi belakang, lingkaran dada dan panjang kepala menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$) antara subpopulasi Tuban dan Blora. Perbedaan nyata antar subpopulasi terhadap karakteristik kuantitatif pada penelitian ini kemungkinan disebabkan karena berbagai faktor antara lain pengaruh lingkungan yang relatif beragam meliputi umur, manajemen pemeliharaan, jumlah dan jenis pakan yang turut mempengaruhi tampilan bobot hidup dan ukuran tubuh antar subpopulasi.

Tampilan bobot hidup sangat dipengaruhi oleh umur ternak. Berdasarkan informasi gigi geligi dapat diketahui bahwa rata-rata umur sapi PO jantan di subpopulasi Lamongan yang digunakan dalam penelitian ini adalah I^o sebanyak 53% dan I¹ sebanyak 47% sedangkan di subpopulasi Tuban I^o sebanyak 80% dan I¹ sebanyak 20% dan subpopulasi Blora I^o sebanyak 33% dan I¹ sebanyak 67%. Sapi PO jantan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan milik peternak rakyat yang dipelihara dalam kondisi pemeliharaan tradisional, sehingga sulit untuk mendapatkan umur yang relatif seragam. Berdasarkan hasil survey lapang dapat diketahui bahwa pada subpopulasi Lamongan, ketersediaan sapi PO jantan cukup memadai dengan kriteria yang memenuhi syarat sebagai bibit sedangkan pada subpopulasi Tuban dan Blora, sangat sulit mendapatkan sapi PO jantan yang sesuai dengan kriteria bibit, hal ini disebabkan karena peternak terbiasa menjual sapi PO jantan pada umur yang masih relatif muda karena alasan ekonomi keluarga. Kondisi ini juga turut mempengaruhi kegiatan penjarangan dan seleksi terhadap materi yang digunakan dalam penelitian ini.

Pada kondisi peternakan rakyat, faktor lingkungan tidak seluruhnya dapat diseragamkan karena pola pemeliharaan ternak antara satu peternak dengan peternak lainnya tidak sama sehingga secara tidak langsung akan mempengaruhi tampilan bobot hidup. Pada subpopulasi Lamongan, sebagian besar peternak responden memelihara sapi induk dan sapi jantan dengan cara dikandangan. Pakan selalu tersedia dalam jumlah yang cukup sedangkan pada subpopulasi Tuban dan Blora, hampir semua ternak digunakan untuk tenaga kerja baik sapi jantan maupun sapi betina dan hanya dikandangan pada malam hari sehingga kondisi ini turut mempengaruhi tampilan bobot hidup dan ukuran tubuh pada ternak yang diamati. Pengaruh faktor

lingkungan terhadap individu satu dengan individu lain yang tidak sama akan menimbulkan variasi lingkungan. Pengaruh variasi genetik suatu sifat pada suatu populasi ternak hanya dapat diketahui apabila variasi lingkungan yang mempengaruhi sifat tersebut dapat diabaikan.

Kesamaan rataan ukuran tubuh antara subpopulasi Tuban dan Blora atau perbedaan rataan ukuran-ukuran tubuh antara subpopulasi Lamongan dengan Tuban dan Blora diduga disebabkan oleh kesamaan atau perbedaan genotipnya. Hal ini didasarkan pada teori umum yang menyatakan bahwa tampilan fenotipik (P) dipengaruhi oleh faktor lingkungan (L), genotipe (G) serta interaksi lingkungan dan genotipe (GEI). Oleh karena kondisi lingkungan ketiga daerah asal ternak ini memiliki lingkungan makro relatif beragam, maka kesamaan atau perbedaan fenotipik antar subpopulasi sapi PO ini diduga disebabkan oleh faktor lingkungan selain dari faktor genetik ternak.

Analisis diskriminan

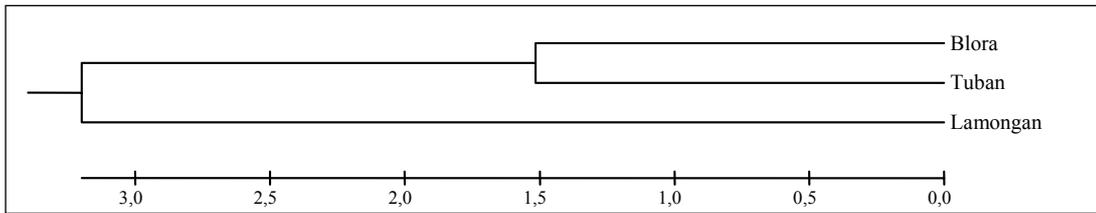
Hasil analisis Diskriminan dengan menggunakan metode jarak Mahalanobis disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan hasil analisis statistik dapat diketahui bahwa jarak terbesar diperlihatkan oleh subpopulasi antara Lamongan dan Tuban (8,10812) yang kemudian diikuti oleh subpopulasi antara Blora dan Lamongan (4,68404) dan terendah antara Blora dan Tuban (3,03044).

Tabel 2. *Mahalanobis distance* antar subpopulasi

Lokasi	Blora	Lamongan	Tuban
Blora	0	4,68404	3,03044
Lamongan	-	0	8,10812
Tuban	-	-	0

Hasil ini menunjukkan bahwa diantara ke tiga subpopulasi sapi PO, maka subpopulasi Blora memiliki hubungan yang relatif lebih dekat dengan subpopulasi Tuban (Gambar 1.) bila dibandingkan dengan subpopulasi Lamongan.

Sebagaimana dikemukakan pada hasil analisis diatas, antara subpopulasi Tuban dan Blora memiliki tingkat kesamaan morfologi lebih tinggi dibandingkan antara ke dua subpopulasi ini dengan subpopulasi Lamongan. Sebaliknya, memisahkannya ukuran-ukuran morfologi sapi PO pada subpopulasi Lamongan dari ke dua subpopulasi Tuban dan Blora kemungkinan disebabkan karena sapi PO di daerah ini telah banyak bercampur dengan bangsa-bangsa sapi lain baik yang terjadi sebagai akibat inseminasi buatan (IB) maupun



Gambar 1. Phenogram yang menunjukkan hubungan antar subpopulasi

karena kawin alam. Wilayah Lamongan sejak lama lebih terbuka dan pola beternak masyarakatnya sudah lebih maju dibanding Tuban dan Blora, sehingga memudahkan bagi para petani untuk menerima masuknya suatu teknologi.

Analisis peubah pembeda antar subpopulasi

Pendugaan peubah ukuran tubuh yang menyebabkan perbedaan antar subpopulasi sapi PO di ketiga lokasi penelitian dilakukan dengan analisis korelasi kanonik dan hasilnya disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 2.

Tabel 3. Total struktur kanonik

Variabel	Kanonik 1	Kanonik 2
Panjang Badan	0,678103	-0,130809
Tinggi Gumba	0,644422	-0,067829
Tinggi Pinggul	0,610034	-0,429639
Dalam Dada	0,440105	0,194273
Lingkar Dada	0,547014	0,291666
Lebar Dada	0,718754	0,395210
Canon Bone	0,162930	-0,007193
Panjang Kepala	0,493088	-0,133859
Lebar Kepala	0,683951	0,083425

Ukuran nilai korelasi kanonik pada satu peubah mengindikasikan kekuatan peranan peubah-peubah tersebut sebagai pembeda antar kelompok atau subpopulasi. Pada kasus ini sebagaimana disajikan pada Tabel 3 dapat dikemukakan bahwa pada fungsi kanonik 1 ditemukan beberapa peubah dengan korelasi kanonik relatif tinggi, berturut-turut dari yang tertinggi adalah: lebar dada (0,718754), lebar kepala (0,683951), panjang badan (0,678103), tinggi gumba (0,644422), dan tinggi pinggul (0,610034). Hasil ini menggambarkan urutan-urutan kekuatan atau kepentingan dimensi tubuh sebagai pembeda subpopulasi sapi PO di ketiga subpopulasi, secara berurutan dari yang terkuat atau terpenting adalah lebar dada, lebar kepala, panjang badan, tinggi gumba dan tinggi pinggul. Sebaliknya, beberapa peubah lainnya

pada peubah kanonik 1 (dalam dada, lingkar dada, lingkar *canon bone* dan panjang kepala), dan semua peubah pada fungsi kanonik 2 memiliki nilai korelasi kanonik yang relatif rendah, berkisar dari -0,0071 sampai dengan 0,429639. Hal ini menunjukkan bahwa peubah-peubah ini kurang penting sebagai peubah pembeda antar subpopulasi sapi PO di ketiga wilayah.

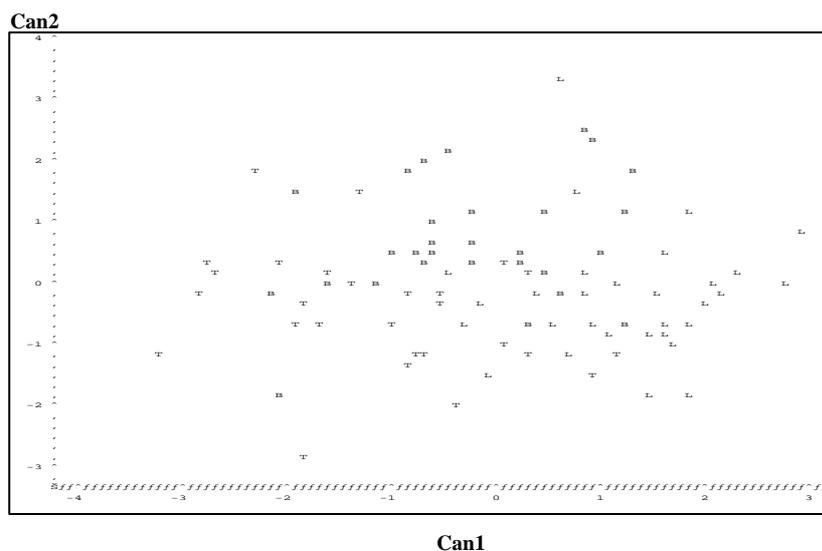
Jumlah dan ukuran Alel yang terbentuk

Hasil amplifikasi PCR terhadap lokus-lokus mikrosatelit pada sampel DNA genom sapi PO menghasilkan pita/alel sebagaimana ditampilkan pada Gambar 3.

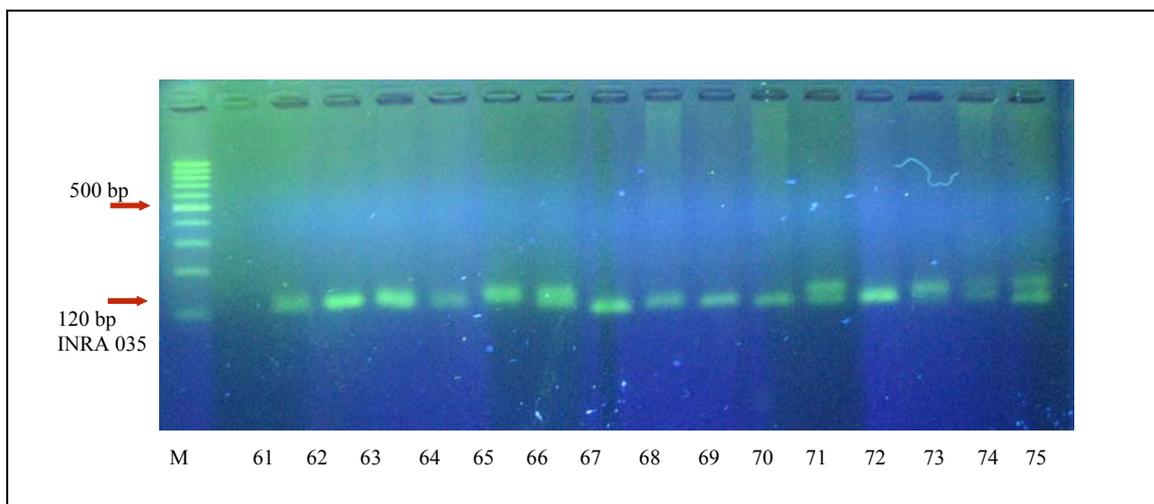
Berdasarkan hasil analisis amplifikasi PCR terhadap sampel DNA genom sapi PO pada ketiga subpopulasi maka jumlah dan ukuran alel yang terbentuk disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan hasil analisis diatas, dapat diketahui bahwa dari 6 lokus mikrosatelit yang digunakan pada 90 sampel darah sapi PO terdeteksi sebanyak 195 alel atau 32,5 alel perlokus. Bila dibandingkan jumlah alel yang terbentuk pada masing-masing subpopulasi, maka jumlah alel yang dihasilkan oleh subpopulasi Lamongan lebih banyak dibandingkan dengan subpopulasi Blora dan Tuban (72 vs 63 vs 60). Hal ini mengindikasikan bahwa tingkat keragaman sapi PO di Kabupaten Lamongan lebih tinggi dibandingkan dengan subpopulasi Blora dan Tuban. Hasil ini berkorelasi positif dengan tampilan karakteristik kuantitatif pada masing-masing subpopulasi.

Berdasarkan jumlah dan macam alel yang dihasilkan oleh lokus-lokus mikrosatelit yang diteliti menunjukkan bahwa hampir semua lokus dapat membedakan sumber daya genetik pada ke tiga subpopulasi. Amplifikasi ke enam lokus yang diuji di ke tiga subpopulasi, masing-masing menghasilkan jumlah alel yang berbeda. Perbedaan ini menunjukkan bahwa ke enam lokus mikrosatelit ini memiliki tingkat keragaman yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat yang dikemukakan oleh YU *et al* (2004) bahwa standar marker mikrosatelit yang bisa digunakan untuk analisis keragaman genetik adalah setiap lokus harus mempunyai lebih dari 4 alel dengan PIC (*Polymorphism Information Content*) setiap lokus lebih dari 0,7 dan ukuran alel berkisar antara 100-300 bp.



Gambar 2. Sebaran antar subpopulasi



Gambar 3. Sebaran alel lokus mikrosatelit INRA035 pada genom sapi PO. M : Marker DNA, Lajur 61-75 : produk PCR (120 bp)

Tabel 4. Jumlah dan ukuran alel hasil amplifikasi PCR dengan 6 lokus mikrosatelit

Lokus	Jumlah Alel					
	Blora		Tuban		Lamongan	
	Σ	Ukuran	Σ	Ukuran	Σ	Ukuran
BtDIASI	10	(334-412)	10	(291-382)	12	(325-424)
ETH152	6	(194-220)	8	(179-210)	11	(233-289)
HEL9	14	(102-228)	9	(150-192)	17	(119-220)
HRH1	8	(199-261)	11	(196-264)	5	(153-207)
ILSTS005	9	(138-206)	9	(127-237)	6	(154-208)
INRA035	16	(82-132)	13	(80-148)	21	(74-178)

Tingkat keragaman jumlah alel perlokus mikrosatelit yang dihasilkan sapi PO pada penelitian ini memiliki tingkat keragaman lebih tinggi dibanding terhadap beberapa jenis sapi potong dari beberapa hasil penelitian lainnya sebagaimana disajikan pada Tabel 5.

Mekanisme terjadinya keragaman jumlah dan ukuran alel pada lokus-lokus mikrosatelit kemungkinan disebabkan karena *slippage strand* selama replikasi atau kemungkinan karena rekombinasi yang tidak seimbang dan DNA polimerase *slippage* (TAUTZ and SCHLOTTERER, 1994) serta gangguan pada saat transkripsi (FOX *et al.*, 1994; DATTA and JINKS-ROBERTSON, 1995).

Frekuensi Alel

Frekuensi alel pada masing-masing lokus mikrosatelit pada ketiga subpopulasi sapi PO disajikan pada Tabel 6.

Frekuensi alel untuk setiap lokus dan subpopulasi sangat bervariasi satu dengan yang lain dan tidak ada satu alel yang memiliki frekuensi dominan. Frekuensi tertinggi hanya mencapai 41,38% ditampilkan alel F (178 bp) pada lokus HEL9 pada subpopulasi Tuban, sedangkan alel terendah mencapai 1,67% ditampilkan oleh lokus yang sama pada subpopulasi Lamongan masing-masing alel Q (180 bp), alel P (181 bp), alel K (193 bp), alel F (202 bp), alel E (211 bp) dan alel C(218

bp). Tingginya keragaman frekuensi alel mikrosatelit baik antar lokus maupun antar subpopulasi kemungkinan disebabkan karena lokus mikrosatelit ini memiliki sifat polimorfik yang tinggi.

Heterozigositas

Keragaman genetik dalam suatu *breed* diekspresikan sebagai rata-rata heterozigositas (METTA *et al.*, 2004). Analisis sederhana untuk mengetahui heterozigositas dari ke tiga subpopulasi sapi PO dapat dilakukan dengan menghitung heterozigositas pada ke 6 lokus mikrosatelit. Hasil analisis statistik terhadap nilai Heterozigositas (H) disajikan pada Tabel 7.

Berdasarkan hasil analisis statistik dapat diketahui bahwa sapi PO pada subpopulasi Lamongan memiliki tingkat heterozigositas yang tertinggi (19,6%), diikuti subpopulasi Blora (9,6%) dan subpopulasi Tuban (8,1%). Tingkat heterozigositas pada ke tiga subpopulasi ini lebih rendah dari beberapa hasil penelitian terdahulu. METTA *et al.* (2004) mendapat nilai heterozigositas pada *breed* Ongole dan Deoni sebesar 46 dan 50% dengan amplifikasi sebanyak 10 macam mikrosatelit. Rendahnya tingkat heterozigositas pada sapi PO ini mengindikasikan bahwa sapi PO pada ketiga subpopulasi ini masih cukup terjaga variasi genetiknya.

Tabel 5. Perbandingan beberapa hasil penelitian jumlah lokus dan alel pada berbagai bangsa sapi potong

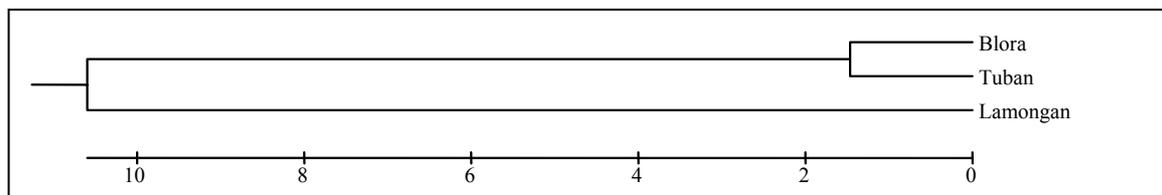
Jumlah lokus mikrosatelit yang digunakan	Jumlah Alel perlokus	Materi penelitian	Sumber
2	3,5	294 sampel sapi Bali	HANDIWIRAWAN <i>et al.</i> (2003)
20	8,4	728 sampel sapi African zebu, 2 European bison, 2 banteng	MACHUG (1996)
10	4,5	17 sampel sapi Ongole dan 13 sampel sapi Deoni	METTA <i>et al.</i> (2004)
6	10,5	90 sampel sapi PO	Hasil penelitian ini

Tabel 6. Jumlah dan frekuensi Alel pada masing-masing lokus mikrosatelit pada ke tiga subpopulasi sapi PO

Lokus	Frekuensi Alel persubpopulasi					
	Blora		Tuban		Lamongan	
	Tertinggi (%)	Terendah (%)	Tertinggi (%)	Terendah (%)	Tertinggi (%)	Terendah (%)
BtDIAS1	20,69	3,45	22,73	4,55	16,67	4,17
ETH152	30,00	3,33	26,67	1,67	25,00	1,67
HEL9	13,79	1,72	41,38	1,72	23,33	1,67
HRH1	25,00	5,00	26,00	2,00	32,00	2,00
ILSTS005	33,33	3,33	20,00	3,33	35,71	3,57
INRA035	27,78	1,85	31,67	1,67	15,00	1,67

Tabel 7. Hasil analisis Heterozigositas pada ke tiga subpopulasi sapi PO

Populasi	n	∑ Lokus	H yang diharapkan	H yang terobservasi	Jumlah alel
Blora	30	6	0,853	0,096	10,50
Tuban	30	6	0,840	0,081	10,00
Lamongan	30	6	0,859	0,196	12,00



Gambar 4. Phylogenetik yang menunjukkan hubungan antar subpopulasi

Jarak genetik dan phylogenetik antar subpopulasi

Hasil analisis jarak genetik dengan menggunakan *Microsatellite Analyser* (MSA) disajikan pada Tabel 8. Berdasarkan hasil analisis statistik dapat diketahui bahwa jarak terbesar diperlihatkan oleh subpopulasi Lamongan dan Tuban (22,08112) yang kemudian diikuti oleh subpopulasi antara Blora dan Lamongan (20,29766) dan terendah antara Blora dan Tuban (2,92123).

Hasil ini relevan dengan hasil analisis *Mahalanobis distance* yang menunjukkan bahwa subpopulasi Blora memiliki hubungan yang relatif dekat dengan subpopulasi Tuban bila dibandingkan dengan subpopulasi Lamongan (Gambar 4).

Hubungan jarak genetik dan phylogenetik antar subpopulasi berdasarkan analisis molekuler menunjukkan bahwa sapi PO pada subpopulasi Blora dan Tuban kemungkinan berasal dari nenek moyang yang sama, hasil ini memperkuat hasil analisis berdasarkan tampilan kuantitatif.

Tabel 8. MSA distance antar subpopulasi

Lokasi	Blora	Lamongan	Tuban
Blora	0	20,29766	2,92123
Lamongan		0	22,08112
Tuban			0

Diferensiasi genetik

Diferensiasi genetik diestimasi dengan menggunakan indeks fiksasi Wright atau F-statistik yang disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Nilai F-statistik (F_{IS} F_{ST} F_{IT}) untuk 6 lokus mikrosatelit

Lokus	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
BtDIASI	1,0000	0,0941	1,0000
ETH152	0,9469	0,1623	0,9556
HEL9	0,7243	0,1322	0,7607
HRH1	0,9324	0,1414	0,9420
ILSTS005	1,0000	0,1524	1,0000
INRA035	0,5357	0,1044	0,5842
Total	0,8488	0,1319	0,8687

F_{IS} : diferensiasi gen antar individu dalam subpopulasi
 F_{ST} : diferensiasi gen antar subpopulasi dalam populasi total
 F_{IT} : diferensiasi gen antar individu dalam populasi total

Berdasarkan amplifikasi ke-6 lokus mikrosatelit terhadap nilai F-statistik maka dapat diketahui bahwa nilai F_{ST} pada ketiga subpopulasi berkisar antara 0,0941 sampai 0,1623 dengan nilai total 0,1319. Hasil ini mengindikasikan adanya diferensiasi genetik antar subpopulasi, sedangkan nilai F_{IS} pada ketiga subpopulasi berkisar antara 0,5357 sampai 1,0000. Hasil ini lebih tinggi dari nilai F_{IS} yang dilaporkan oleh METTA *et al* (2004) yakni sebesar 0,36 dan 0,18 pada *breed* Ongole dan Deoni. Tingginya nilai F_{IS} pada penelitian ini mengindikasikan bahwa tingginya kasus *inbreeding* pada ketiga subpopulasi, namun indikasi ini perlu diperkuat oleh catatan rekording ternak sehingga nilai F_{IS} ini masih bersifat kasar. Tekanan *inbreeding* dalam populasi diakibatkan oleh adanya variasi genetik yang rendah, baik tampilan secara fenotipik, estimasi jarak genetik dan nilai heterozigositas pada ke-3 subpopulasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan karakteristik kuantitatif sapi PO pada ketiga subpopulasi, maka subpopulasi Blora dan Tuban memiliki keragaman yang relatif rendah bila dibandingkan dengan Lamongan. Jarak genetik terdekat ditampilkan oleh subpopulasi Tuban dengan Blora dan terjauh ditampilkan oleh subpopulasi Lamongan dengan Tuban. Hasil analisis kanonik menunjukkan korelasi relatif tinggi pada variabel lebar dada, lebar kepala, panjang badan, tinggi gumba dan tinggi pinggul sehingga kelima variabel ini bisa digunakan sebagai peubah pembeda antar subpopulasi.

Berdasarkan hasil analisis molekuler, maka keragaman genetik tertinggi ditampilkan oleh subpopulasi Lamongan sedangkan frekuensi alel sangat bervariasi dan tertinggi dihasilkan oleh lokus HEL9 pada subpopulasi Tuban sehingga lokus ini bersifat polimorfik yang tinggi. Jarak genetik terdekat ditampilkan oleh subpopulasi Tuban dengan Blora dan terjauh ditampilkan oleh subpopulasi Lamongan dengan Tuban. Diferensiasi genetik antar subpopulasi ditunjukkan oleh perbedaan nilai F_{ST} antar enam lokus yang merupakan indikasi meningkatnya *inbreeding* pada ketiga subpopulasi.

DAFTAR PUSTAKA

- CIAMPOLINI, R. 1995. Individual multilocus genotypes using microsatelit polymorphisms to permit the analysis of the genetic variability within and between Italian beef cattle breeds. *J. Anim. Sci.* 73: 3259-3268.
- DATTA, A. and S. JINKS-ROBERTSON. 1995. Association of increased spontaneous mutation rates with high levels of transcription in yeast. *Science* 268: 1616-1619.
- FOX, M.S., J.P. RADICELLA and K. YAMAMOTO. 1994. Some features of base pair mismatch repair and its role in the formation of genetics recombinants. *Experientia*. 50: 253-260.
- HANDIWIRAWAN, E., R.R. NOOR, MULADNO and L. SCHULLER. 2003. The use of HEL9 and INRA035 microsatellites as specific markers for Bali cattle. *Arch. Tier. Dummerstorf*. 46: 503-512.
- HAYASHI, Y., T. NISHIDA, J. OTSUKA and I.K. ABDULGANI. 1980. Measurement of the skull of native cattle and banteng in Indonesia. The Origin and Phylogeny of Indonesian Native Livestock: Investigation on the Cattle, Fowl and their Wild Forms. The Research Group of Overseas Scientific Survey. p. 19-27.
- HAYASHI, Y., J. OTSUKA and H. MARTOJO. 1982. Multivariate craniometrics of wild banteng, *Bos banteng*, and five types of native cattle in Eastern Asia. The Origin and Phylogeny of Indonesian Native Livestock (Part III): Morphological and Genetical Investigations on the Relationship between Domestic Animal and their Wild Forms in Indonesia. The Research Group of Overseas Scientific Survey. p. 19-30.
- MCHUGH, D.E. 1996. Molecular Biogeography and Genetic Structure of Domesticated Cattle. Thesis Doctor of Philosophy, Trinity College, University of Dublin.
- METTA, M., S. KANGINAKUDRU, N. GUDISEVA and J. NAGARAJU. 2004. Genetic characterization of the Indian cattle breeds, Ongole and Deoni (*Bos Indicus*), using microsatellite markers-a preliminary study. *BMC Genetic*. <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/5/16>
- NAUTA, M.J. and F.J. WEISSING. 1996. Constraints on allele size at microsatellite loci: Implications for genetic differentiation. *Genetics* 143: 1021-1032.
- OTSUKA, J., K. KONDO, S. SIMAMORA, S.S. MANSJOER and H. MARTOJO. 1980. Body measurement of the Indonesian native cattle. In the origin and Phylogeny of Indonesian native livestock. The Research Group of Overseas Scientific Survey.
- OTSUKA, J., T. NAMIKAWA, K. NOZAWA and H. MARTOJO. 1982. Statistical Analysis on the Body Measurements of East Asian Native Cattle and Bantengs: The Origin and Phylogeny of Indonesian Native Livestock (Part III). The Research Group of Overseas Scientific Survey.
- SARBAINI. 2004. Kajian Keragaman Karakter Eksternal dan DNA Mikrosatelit Sapi Pesisir di Sumatera Barat [disertasi]. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- SAREMI, M.A. 2007. *Rapid Genom DNA Extraction*. Protocol Online. <http://www.protocol-online.org>
- TAUTZ, D. and C. SCHLOTTERER. 1994. Simple sequences. *Current Opinions. Genet. Dev.* 4: 832-837.
- YU, Q., J. LUO, X. HAN, Y.Z. ZHU, C. CHEN, J.X. LIU and H. SHENG. 2009. Genetic diversity and relationships of 10 Chinese goat breeds in the Middle and Western China. *Small Ruminant Research*.