

**IDENTIFIKASI VARIASI GENETIK KERBAU LOKAL JAWA TIMUR
(*Bubalus bubalis*) DARI WILAYAH YANG BERBEDA
BERBASIS MIKROSATELIT**

Riyanto

Program Studi Pendidikan Biologi, IKIP Budi Utomo Malang, Indonesia

E-mail: ryn_kebo@yahoo.com

ABSTRAK: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui: 1) variasi fenotip kerbau lokal di Jawa Timur dari wilayah Banyuwangi dan Blitar; dan 2) variasi genotip berbasis Mikrosatelit kerbau lokal di Jawa Timur dari wilayah Banyuwangi dan Blitar. Pengamatan pola variasi genetik dilakukan mulai tahapan isolasi DNA yang dilanjutkan dengan elektroforesis dengan menggunakan gel agarose setelah itu dilakukan PCR dan dilanjutkan dengan elektroforesis gel poliakrilamid. Dari elektroforesis gel ini didapatkan band yang kemudian dianalisis dengan menggunakan Genepop ver. 3.1d. Hasil analisis menunjukkan bahwa variasi genetic populasi kerbau Blitar lebih tinggi apabila dibandingkan dengan populasi kerbau Banyuwangi. Hal ini dapat dilihat dari rata-rata nilai informasi polimorfik alel pada populasi kerbau Blitar yaitu 55% sedangkan rata-rata nilai informasi polimorfik pada populasi kerbau Banyuwangi yaitu 47%. Nilai frekuensi alel ketiga lokus mikrosatelit populasi kerbau Blitar berkisar antara 0,06 sampai 0,65, sedangkan nilai frekuensi alel ketiga lokus mikrosatelit populasi kerbau Banyuwangi berkisar antara 0,07 sampai 0,63, setelah diketahui nilai frekuensi alel, maka analisis dilanjutkan dengan penentuan nilai heterosigositas. Nilai rata-rata heterosigositas pada populasi kerbau Blitar dari ketiga lokus sebesar 41,50%, sedangkan nilai rata-rata heterosigositas dari populasi kerbau Banyuwangi ketiga lokus sebesar 27,60%. Angka ini menunjukkan bahwa nilai rata-rata heterosigositas pada populasi kerbau Blitar lebih tinggi apabila dibandingkan dengan nilai rata-rata heterosigositas pada populasi kerbau Banyuwangi.

Kata Kunci: Variasi Genetik, Kerbau Lokal Jawa Timur, Mikrosatelit.

ABSTRACT: This study aims to determine: 1) the variation of the local buffalo phenotype in East Java from the Banyuwangi and Blitar regions; and 2) genotypes of local buffalo-based genotypes in East Java from the Banyuwangi and Blitar regions. Observation of genetic variation patterns was carried out starting from the stages of DNA isolation followed by electrophoresis using agarose gel after PCR was carried out and followed by polyacrylamide gel electrophoresis. From this gel electrophoresis, a band was obtained which was then analyzed using Genepop ver. 3.1d. The results of the analysis show that the genetic variation of Blitar buffalo population is higher when compared to the Banyuwangi buffalo population. This can be seen from the average value of allele polymorphic information in the Blitar buffalo population of 55% while the average value of polymorphic information in the Banyuwangi buffalo population is 47%. The allele frequency values of the three microsatellite loci of Blitar buffalo population ranged from 0.06 to 0.65, while the allele frequency values of the three microsatellite loci of the Banyuwangi buffalo population ranged from 0.07 to 0.63, after the allele frequency values were known, the analysis continued with determination heterozygosity value. The average value of heterozygosity in the Blitar buffalo population of the three loci is 41.50%, while the average value of heterozygosity of the Banyuwangi buffalo population is the third locus of 27.60%. This figure shows that the average value of heterozygosity in the Blitar buffalo population is higher when compared with the average value of heterozygosity in the Banyuwangi buffalo population.

Keywords: Genetic Variation, East Java Local Buffalo, Microsatellite.

PENDAHULUAN

Kerbau (*Bubalus bubalis*) merupakan salah satu jenis ternak di Indonesia yang memberikan kontribusi besar dalam penyediaan daging nasional untuk memenuhi

kebutuhan protein hewani masyarakat. Dari seluruh populasi ternak kerbau yang ada di Indonesia sebanyak 40% terdapat di Pulau Jawa. Salah satu propinsi di Indonesia yang memiliki kerbau cukup banyak adalah Jawa



Timur. Daerah di Jawa Timur yang memiliki jumlah kerbau dan potongan terbanyak adalah Banyuwangi, Blitar, dan Sumenep (Departemen Peternakan Propinsi Jawa Timur, 2008).

Melihat dari *performance*, tampilan produksi dan kondisi pengembangan peternakan kerbau sebagaimana disampaikan di atas, ternak kerbau yang ada di Jawa Timur dapat dijadikan sebagai salah satu koleksi *Plasma Nutfah* yang dimiliki oleh daerah dan nasional. Ditinjau dari jumlah populasi ternak kerbau di Jawa Timur, dikaitkan dengan kriteria pengaturan plasma nutfah dan pemanfaatannya maka ternak kerbau di Jawa Timur termasuk dalam katagori populasi yang semakin tahun semakin berkurang. Berdasarkan data di Departemen Peternakan Propinsi Jawa Timur (2008), jumlah populasi ternak kerbau di Jawa Timur dari tahun 2003-2007 mengalami penurunan drastis. Tahun 2003 jumlah ternak kerbau 110.685 ekor sedangkan tahun 2007 jumlahnya 53.364 ekor. Selama 4 tahun mengalami penurunan sekitar 50%.

Searah dengan berkembangnya teknologi DNA, maka variasi genetik, kesamaan genetik dan jarak genetik pada kerbau yang berasal dari berbagai wilayah dapat dipelajari. Variasi genetik ini dapat dipelajari dengan melihat variasi alel DNA pada populasi kerbau di Jawa Timur. Variasi genetik ini sangat diperlukan dalam usaha pemuliaan ternak, karena dengan adanya variasi genetik dimungkinkan untuk membentuk bangsa ternak baru melalui seleksi dan sistem perkawinan. Hal ini penting karena dapat dipergunakan sebagai bahan pertimbangan untuk melakukan *outbreeding* dengan menggunakan kerbau jantan dari wilayah lain (Drent *et al.*, 1995).

Berdasarkan kondisi di atas, untuk menunjang keberhasilan upaya pembibitan dari kerbau, maka perlu segera dilakukan identifikasi variasi genetik. Sebagaimana menurut Rahayu, dkk. (2006) bahwa variasi genetik merupakan salah satu kunci pengelolaan yang optimal terhadap sumber daya genetik. Keuntungan identifikasi genetik secara molekuler yaitu mempunyai efisiensi waktu dan efektifitas pelaksanaan karena seleksi bisa dilakukan pada saat ternak belum mencapai dewasa. Salah satu penanda molekuler yang dapat dimanfaatkan dalam kegiatan identifikasi genetik adalah *mikrosatelit*.

Mikrosatelit atau *simple sequence repeats* (SSRs) terdiri dari susunan DNA dengan motif 1-6 pasang basa, berulang sebanyak lima kali atau lebih secara tandem (Vigouroux *et al.*, 2002). Bentuk pengulangan sekuen DNA sederhana yang berulang-ulang menjadikan marka mikrosatelit sering disebut *simple sequencerepeats* (SSRs), *short tandem repeats* (STRs) atau *simple sequence lengthpolymorphisms* (SSLPs) yang sekarang menjadi salah satu marka paling banyak digunakan secara luas untuk pemetaan genetik, analisis variasi genetik, dan studi evolusi. Dewasa ini, marka mikrosatelit merupakan pilihan untuk pemetaan genom, menganalisa sifat genetik yang kompleks dan mempelajari perbedaan genetik. Kemurnian mikrosatelit memiliki polimorfisme yang tinggi, mempengaruhi cara pewarisan sifat dan kemudahan pemetaan (Beckmann and Wber, 1992).

Penggunaan alel-alel mikrosatelit DNA telah banyak digunakan untuk mendapatkan data variasi genetik. Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data memperlihatkan bahwa jumlah alel mikrosatelit tertinggi terdapat pada lokus mikrosatelit INRA 008 dan INRA 124, pada populasi sapi Madura (*Bos javanicus*) yakni sebanyak 3 buah (Setyaningrum, 2008).

Mikrosatelit salah satu penanda genetik yang secara luas digunakan untuk mengendalikan silsilah dan genetika populasi dalam hewan ternak (Mommens *et al.*, 1998). Menurut Powell *et al.*, (1996), beberapa pertimbangan untuk penggunaan penanda mikrosatelit dalam studi genetik di antaranya: 1) penanda ini terdistribusi secara melimpah dan merata dalam genom, variabilitasnya sangat tinggi (banyak alel dalam lokus), sifatnya kodominan dan lokasi genom dapat diketahui; 2) merupakan alat uji yang memiliki reproduksibilitas dan ketepatan yang sangat tinggi; 3) merupakan alat bantu yang sangat akurat untuk membedakan genotip; dan 4) studi genetik populasi dan analisis diversitas genetik. Suatu peta genetik dengan resolusi tinggi yang hampir sempurna terdiri dari marker mikrosatelit telah berhasil dikonstruksikan pada manusia (Guyer and Collins, 1993).

METODE

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian deskriptif komparatif. Pendekatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasi laboratorik yang bertujuan untuk membuat pencandraan secara



sistematis, factual dan akurat mengenai fakta-fakta dan sifat populasi dari keragaman fenotip kerbau lokal Jawa Timur.

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh kerbau lokal yang ada di Jawa Timur dari Kabupaten Blitar dan Kabupaten Banyuwangi. Sedangkan sampel dalam penelitian ini sebanyak 22 ekor kerbau lokal Jawa Timur yang terdiri 11 ekor dari wilayah Blitar dan 11 ekor dari wilayah Banyuwangi. Pengambilan sampel darah dilakukan dengan teknik *random sampling*.

Darah diambil melalui vena jugularis di leher dengan menggunakan venojack yang berisi darah diberi label dengan EDTA sebanyak 10 ml. Langkah pertama yang harus dilakukan adalah mengambil sampel darah sebanyak 200-250 μ l yang ditempatkan pada tabung eppendorf 1,5 ml, kemudian menambahkan 200 μ l larutan BQ₂ (*lysis buffer*) dan 25 μ l larutan Proteinase-K, dikocok dengan menggunakan *vortex* hingga homogen. Campuran tersebut kemudian di inkubasi pada suhu 70°C selama 15 menit. Setelah itu, ditambahkan lagi dengan larutan Proteinase-K sebanyak 25 μ l dan diinkubasi kembali pada suhu 70°C selama 15 menit. Setelah keluar dari inkubator, campuran tersebut ditambahkan ethanol 96-100% sebanyak 200 μ l, *vortex* sampai homogen, hasil dari *vortex* tersebut dipindahkan ke tabung saringan, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1-2 menit, supernatan dibuang. Setelah itu, ditambahkan larutan BQ₂ (*wash buffer*), disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 3-4 menit, supernatan dibuang. Tahapan terakhir adalah penambahan larutan BE (*buffer elution*) sebanyak \pm 50-75 μ l yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 70°C, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1-2 menit, sehingga dihasilkan DNA hasil isolasi dari darah.

Elektroforesis digunakan untuk mendeteksi hasil isolasi DNA. Sebelum memulai proses elektroforesis, alat elektroforesis harus dalam keadaan bersih, gel yang sudah jadi diletakkan ke dalam tabung elektroforesis, kemudian menuangkan larutan TBE 1x ke dalam elektroforesis hingga gel terendam. Setelah gel benar-benar terendam keseluruhannya, maka DNA dimasukkan ke dalam sumur (*well*) gel. Mula-mula menyiapkan BPB (*Bromophenol Blue*) atau *loading dye* sebanyak 1 μ l ke atas kertas parafilm dan menambahkan pellet DNA darah kerbau yang telah ditambahkan TE (10 mMTris-HCl pH 8 dan 1mM EDTA pH 8).

Memasukkan DNA yang sudah dicampur dengan BPB ke dalam sumur (*well*) gel agarose dengan menggunakan *micropipette* 1-10 μ l. Setelah sumur (*well*) terisi, langkah selanjutnya melakukan pengaturan voltase dan arus elektroforesis sesuai dengan yang diinginkan. Lama waktu elektroforesis DNA selama 60 menit (50 volt), kemudian gel dipindahkan ke dalam larutan pewarna EtBr (*Ethidium Bromide*) dan merendamnya selama \pm 10 menit. Setelah itu, gel dicuci dengan akuades steril dan dibilas kembali selama \pm 10 menit, kemudian gel diidentifikasi dengan menggunakan alat UV transiluminator. Apabila diketahui bahwa terdapat pita DNA, maka proses selanjutnya difoto Polaroid untuk dokumentasi.

Membuat larutan PCR yang terdiri dari: 2,5 μ l template DNA (10mg/ μ l); 12,5 μ l PCR mix (dNTP, buffer, Taq-polimerase, H₂O); 2,5 μ l dH₂O. Mencampurkan PCR *mix solution* menggunakan *vortex*, kemudian memasukkan masing-masing tabung yang berisi larutan PCR ke dalam mesin PCR. Setelah reaksi PCR selesai (\pm 2 jam), kemudian mengambil tabung yang berisi larutan PCR dari mesin PCR. Sampel hasil PCR dapat disimpan pada suhu 4°C atau langsung dilakukan proses elektroforesis (*running*).

Produk PCR selanjutnya di elektroforesis dalam gel poliakrilamid yang telah direndam dengan larutan penyangga TBE 2x sebagai larutan elektrolit. Sebanyak 4 μ l DNA produk PCR dicampur dengan 2 μ l BPB, kemudian campuran tersebut dimasukkan dalam sumur yang terdapat pada gel poliakrilamid. Menjalankan elektroforesis pada tegangan 30 volt selama 90 menit. Selanjutnya gel poliakrilamid hasil elektroforesis diwarnai dengan menggunakan larutan *silver staining*.

Metode pengambilan data yang digunakan pada penelitian ini adalah metode observasi dengan pendekatan laboratorium, yaitu teknik pengumpulan data dimana peneliti mengadakan pengamatan secara langsung terhadap gejala subjek yang diteliti, baik pengamatan itu dilakukan pada situasi sebenarnya maupun dilakukan di dalam situasi yang khusus diadakan. Hasil pengamatan berupa pita (band) DNA kemudian dianalisis menggunakan Genepop ver. 3.1d option 3-1 dan 3-3.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel dalam penelitian ini sebanyak 22 ekor kerbau lokal Jawa Timur yang terdiri 11 ekor dari wilayah Blitar dan 11 ekor dari



wilayah Banyuwangi. Dari hasil pengamatan terhadap ciri fenotip dari kedua wilayah yaitu Blitar dan Banyuwangi yang meliputi bentuk tubuh, warna tubuh, warna mata, bentuk tanduk dan arah tanduk. *Performance* kerbau yang meliputi bentuk tubuh, warna tubuh, warna mata, bentuk tanduk baik dari wilayah Blitar maupun Banyuwangi rata-rata memiliki pola yang sama, hal itu dikarenakan dari kedua wilayah tersebut termasuk ke dalam satu varietas yang sama yaitu kerbau lumpur. Kerbau lumpur merupakan salah satu jenis kerbau yang hampir seluruh waktunya pada siang hari berada di tanah yang berlumpur untuk melindungi dirinya dari sengatan sinar matahari. Ciri-ciri umum dari kerbau lumpur yaitu warna yang menutupi tubuh adalah cokelat kehitaman kadang kala terdapat albino. Penampakan bundar, tanduk besar melebar semi melingkar (menyabit) mendatar, muka datar dan lingkaran dada besar.

Hasil pengukuran terhadap ciri fenotip dari kedua wilayah yaitu Blitar dan Banyuwangi mempunyai beberapa perbedaan baik dari segi umur, lingkaran dada, panjang badan, tinggi badan, ukuran kepala, panjang leher, panjang ekor. Meskipun pada kedua populasi termasuk dalam varietas yang sama hal ini dikarenakan pertumbuhan pada kerbau tidak sama walaupun dengan umur yang sama. Menurut Sofro (1994) secara genetik tidak ada dua individu dalam suatu spesies yang persis sama. Faktor-faktor lingkungan juga ikut berpengaruh dalam timbulnya ciri-ciri yang muncul sebagai fenotip. Perbedaan lingkaran dada, panjang badan, tinggi badan, ukuran kepala, panjang leher, panjang ekor merupakan bagian dari variasi yang merupakan ciri umum yang terdapat di dalam suatu populasi. Keragaman tidak hanya terjadi pada lain bangsa tetapi juga dalam bangsa yang sama, antar populasi maupun di dalam populasi, dan di luar individu tersebut (Drent *et al.*, 1995).

Penggunaan alel-alel mikrosatelit DNA telah banyak digunakan untuk mendapatkan data variasi genetik. Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data memperlihatkan bahwa jumlah alel mikrosatelit tertinggi terdapat pada lokus mikrosatelit INRA 023, pada populasi kerbau Blitar yakni sebanyak 3 buah. Dari jumlah alel yang diperoleh dapat dicari nilai frekuensi alel. Nilai frekuensi alel ketiga lokus mikrosatelit pada populasi kerbau Blitar berkisar antara 0,06 sampai 0,65 sedangkan nilai frekuensi alel ketiga lokus mikrosatelit pada populasi kerbau Banyuwangi berkisar antara 0,07 sampai 0,63,

berdasarkan data di atas menunjukkan bahwa frekuensi alel pada populasi kerbau Blitar lebih tinggi apabila dibandingkan dengan frekuensi alel pada populasi kerbau Banyuwangi. Hal ini menandakan rata-rata jumlah alel yang bersifat heterozigot pada populasi kerbau Blitar lebih tinggi apabila dibandingkan populasi kerbau Banyuwangi. Frekuensi alel dapat dihitung dari frekuensi genetik dengan mengamati sebelumnya apakah dua gen dalam keadaan homozigot memberikan suatu keragaman, sebab setengah dari gen heterozigot dapat memberikan suatu keragaman. Sehingga dapat disimpulkan bahwa frekuensi alel adalah frekuensi individual yang mempunyai alel bersifat homozigot plus setengah dari frekuensi heterozigot dari alel tersebut. Satu alasan kenapa kita perlu mendeskripsikan variasi genetik pada lokus menggunakan frekuensi alel dari pada frekuensi genotip karena biasanya jumlah alel lebih sedikit daripada genotip. Dengan 2 alel kemungkinan dihasilkan 3 genotip, dengan 3 alel kemungkinan 6 genotip.

Nilai heterozigositas menunjukkan adanya variasi nilai heterozigositas alel dalam populasi kerbau di Blitar. Nilai heterozigositas lokus INRA 023 memiliki nilai heterozigositas tertinggi yaitu 45,00% dan lokus HEL 009 memiliki nilai heterozigositas terendah sebesar 35,00%, sedangkan pada populasi kerbau di Banyuwangi menunjukkan nilai heterozigositas lokus INRA 023 memiliki nilai heterozigositas tertinggi yaitu 37,5% dan lokus HEL 009 memiliki nilai heterozigositas terendah sebesar 16,70%. Nilai heterozigositas ini menunjukkan besarnya perbedaan variasi antar individu kerbau. Hal ini berarti lokus INRA 023 dapat dimanfaatkan sebagai pembeda karena memiliki alel lebih banyak dari kedua lokus lainnya. Tingginya polimorfisme dari suatu populasi bisa diartikan bahwa variasi alel serta sifat spesifik dari populasi cukup tinggi. Lokus yang polimorfik menggambarkan adanya heterozigositas dalam suatu individu. Setiap individu heterozigot masing-masing membawa dua macam alel atau lebih. Adanya perbedaan heterozigositas ini kemungkinan karena lokus yang diamati berbeda.

Dari nilai heterozigositas didapatkan nilai rata-rata heterozigositas pada populasi kerbau Blitar dari ke tiga lokus sebesar 41,50%, sedangkan nilai rata-rata heterozigositas dari populasi kerbau Banyuwangi ke tiga lokus sebesar 27,60% angka ini menunjukkan bahwa nilai rata-rata heterozigositas pada populasi kerbau Blitar lebih tinggi apabila dibandingkan dengan nilai

rata-rata heterozigositas pada populasi kerbau Banyuwangi. Adanya gambaran nilai rata-rata heterozigositas yang rendah pada kerbau Banyuwangi, maka dapat pula diasumsikan bahwa tingkat kekerabatan dari populasi kerbau Banyuwangi lebih tinggi apabila dibandingkan populasi kerbau dari Blitar. Jika hal ini dibiarkan secara terus menerus akan meningkatkan homozigositas yang dapat merugikan populasi ternak itu sendiri. Sesuai dengan Minkema, (1987) bahwa homozigositas yang tinggi, akan berakibat munculnya individu-individu resesif yang merugikan, serta berkurangnya heterozigositas dalam suatu populasi. Gambaran heterozigositas pada kerbau mengindikasikan bahwa kerbau diduga mendapatkan aliran alel. Menurut Baker & Manwell; dalam Winaya *et al.*, (2008), bahwa salah satu efek yang dapat dimunculkan dari heterozigositas adalah dihasilkannya *over dominant* dalam suatu bangsa, walaupun kemungkinan tersebut memerlukan proses seleksi yang ketat dan panjang.

Nilai polimorfik pada populasi kerbau Blitar yang tertinggi pada lokus INRA 023 (66%), sedangkan nilai informasi polimorfik terendah pada lokus HEL 009 (35%), ini berarti bahwa lokus INRA 023 lebih polimorfik dibandingkan lokus HEL 009 dan INRA 037. Perbedaan nilai informasi polimorfik lokus diantara individu kerbau menunjukkan adanya perbedaan keragaman genetik antar individu. Nilai informasi polimorfik pada populasi kerbau Banyuwangi yang tertinggi pada lokus INRA 037 (65%), sedangkan nilai informasi polimorfik terendah pada lokus HEL 009 dan INRA 023 (38%), dan rata-rata nilai informasi polimorfik pada populasi kerbau Banyuwangi yaitu 47%, apabila dibandingkan dengan rata-rata nilai informasi polimorfik alel pada populasi kerbau Blitar yaitu 55% populasi kerbau Banyuwangi lebih rendah, hal ini menandakan jumlah alel pada populasi kerbau Banyuwangi lebih rendah dibandingkan populasi kerbau Blitar. Nilai informasi polimorfik berbanding lurus dengan jumlah alel dalam setiap lokusnya, semakin tinggi jumlah alel, maka nilai informasi polimorfik juga semakin tinggi. Tingginya polimorfisme dari suatu populasi bisa diartikan bahwa variasi alel serta sifat spesifik dari populasi juga cukup tinggi. Lokus yang polimorfik menggambarkan adanya heterozigositas dalam suatu individu. Setiap individu heterozigot masing-masing membawa dua macam alel atau lebih. Selain melihat nilai informasi polimorfik dan heterozigositas/variasi pada populasi kerbau

Banyuwangi dan Blitar, maka perlu dipertimbangkan keseimbangan populasi kerbau menurut hukum Hardy-Weinberg.

Dari pembacaan pita alel mikrosatelit hasil elektroforesis dapat dihitung frekuensi alel pada masing-masing lokus dan dapat digunakan untuk menentukan nilai keseimbangan Hardy-Weinberg. Suatu kondisi dinyatakan seimbang jika nilai X^2 dari semua lokus lebih kecil dari nilai X_{tabel} (0,05) (Caughley, 1994; Warwick *et al.*, 1990). Keseimbangan populasi Hardy-Weinberg dapat ditentukan dengan uji chi-square. Berdasarkan hasil uji Chi-Square pada lokus HEL 009 nilai $X^2 = 2,93$ dan nilai X_{tabel} 3,84 ($\alpha = 0,05$), yang berarti bahwa $X^2 < X_{tabel}$ dan populasi berada pada keseimbangan Hardy-Weinberg. Pada lokus INRA 037 dengan nilai $X^2 = 55,14$ dan pada taraf signifikan 5% didapatkan X_{tabel} 5,99. Karena $X^2 = 55,14 > X_{tabel} = 5,99$ maka populasi pada lokus INRA 037 tidak berada pada keseimbangan Hardy-Weinberg. Pada lokus INRA 023 nilai $X^2 = 8,29$ dan pada taraf signifikan 5% didapatkan nilai $X_{tabel} = 5,99$ ini berarti bahwa $X^2 > X_{tabel}$ dan populasi tidak berada pada keseimbangan Hardy-Weinberg, sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa dari ketiga lokus mikrosatelit 2 diantaranya populasi berada dalam ketidak seimbangan Hardy-Weinberg, dan 1 diantara lokus yang lainnya populasi berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg. Sedangkan pada populasi kerbau Banyuwangi dari data pada lokus HEL 009 nilai $X^2 = 2,25$ dan nilai $X_{tabel} = 3,84$ ($\alpha = 0,05$), yang berarti bahwa $X^2 < X_{tabel}$ dan populasi berada pada keseimbangan Hardy-Weinberg. Pada lokus INRA 037 dengan nilai $X^2 = 14,66$ dan pada taraf signifikan 5% didapatkan X_{tabel} 5,99. Karena $X^2 = 6,84 > X_{tabel} = 5,99$ maka populasi pada lokus INRA 037 tidak berada pada keseimbangan Hardy-Weinberg. Pada lokus INRA 023 nilai $X^2 = 5,50$ dan nilai $X_{tabel} = 5,99$ ($\alpha = 0,05$), yang berarti bahwa $X^2 < X_{tabel}$ dan populasi berada pada keseimbangan Hardy-Weinberg, sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa dari 3 lokus mikrosatelit 1 diantaranya populasi berada dalam ketidak seimbangan Hardy-Weinberg, dan 2 diantara lokus yang lainnya populasi berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg ini berarti bahwa variasi genetik dalam populasi tersebut berada dalam keseimbangan yang stabil, artinya tidak mengalami perubahan ditingkat alel mikrosatelit. Menurut Hartl; (2001) ada beberapa asumsi hukum Hardy-Weinberg yang harus dipenuhi agar frekuensi alel berada dalam keseimbangan yang stabil,



yaitu: populasi itu besar dan jumlah individu-individunya tidak terbatas, sistem perkawinan (*random mating*), tidak ada seleksi, tidak ada mutasi dan migrasi.

Alel mikrosatelit pada kerbau yang diidentifikasi dapat digunakan sebagai penanda genetik, sehingga dapat menunjukkan variasi genetik. Mikrosatelit sangat bermanfaat sebagai penanda genetik karena bersifat kodominan, memiliki polimorfis sangat tinggi serta cukup mudah dalam proses pengujiannya. Pola sidik jari DNA dengan polimorfisme tinggi dihasilkan dari hewan ternak (sapi, domba, dan babi) dan tanaman hias dengan menggunakan klon genom sapi, yang mengandung enam rangkaian poli (GT) (Haberfield *et al.*, 1984).

Keragaman atau variasi individu, terutama berdasarkan keragaman variasi genotip memegang peranan penting dalam pemuliaan ternak, jika dalam populasi ternak tidak ada variasi genotip, maka usaha untuk menyeleksi ternak bibit tidak ada gunanya. Semakin tinggi variasi genotip di dalam populasi, semakin besar perbaikan mutu bibit yang diharapkan. Diketuainya variasi alel DNA mikrosatelit yang mengindikasikan keragaman genetik pada kerbau diharapkan dapat dijadikan acuan untuk penentuan mutu genetik kerbau melalui penyediaan bibit untuk program *outbreeding* atau untuk mengurangi efek silang dalam (*inbreeding*), sehingga mutu genetik dapat dipertahankan atau ditingkatkan.

Berdasarkan analisis ekspresi genotip dan fenotip ternyata tidak ada hubungan secara langsung karena ciri fenotip yang diamati tidak menggambarkan adanya keterkaitan dengan ekspresi genotip hal ini dapat dipahami karena alel dalam lokus yang diamati tidak mengekspresikan ciri fenotip yang diamati. Untuk mempelajari hubungan gen dan ekspresi fenotip dipelajari dalam kajian QTL (*quantity tread loci*).

SIMPULAN

Dari hasil penelitian terhadap ciri fenotip kerbau yang meliputi bentuk tubuh, warna tubuh, warna mata, bentuk tanduk baik pada populasi kerbau Blitar maupun pada populasi kerbau Banyuwangi rata-rata memiliki pola yang sama akan tetapi memiliki tingkat pertumbuhan yang berbeda.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data terhadap variasi genetik memperlihatkan bahwa jumlah alel mikrosatelit tertinggi terdapat pada lokus mikrosatelit INRA 023, pada populasi kerbau Blitar yakni sebanyak 3 buah. Dari jumlah alel yang

diperoleh dapat dicari nilai frekuensi alel. Nilai frekuensi alel ketiga lokus mikrosatelit dari wilayah Blitar berkisar antara 0,06 sampai 0,65, sedangkan nilai frekuensi alel ketiga lokus mikrosatelit dari wilayah Banyuwangi berkisar antara 0,07 sampai 0,63, berdasarkan data di atas menunjukkan bahwa frekuensi alel pada populasi kerbau Blitar lebih tinggi apabila dibandingkan dengan frekuensi alel pada populasi kerbau Banyuwangi.

Nilai heterozigositas lokus INRA 023 memiliki nilai heterozigositas tertinggi yaitu 45,00% dan lokus HEL 009 memiliki nilai heterozigositas terendah sebesar 35,00%, sedangkan pada populasi kerbau di Banyuwangi menunjukkan nilai heterozigositas lokus INRA 023 memiliki nilai heterozigositas tertinggi yaitu 37,5% dan lokus HEL 009 memiliki nilai heterozigositas terendah sebesar 16,70%.

Nilai informasi polimorfik pada populasi kerbau Blitar yang tertinggi pada lokus INRA 023 (66%), dan nilai informasi polimorfik terendah pada lokus HEL 009 (35%), ini berarti bahwa lokus INRA 023 lebih polimorfik dibandingkan lokus HEL 009 dan INRA 037. Sedangkan nilai informasi polimorfik pada populasi kerbau Banyuwangi yang tertinggi pada lokus INRA 037 (65%), dan nilai informasi polimorfik terendah pada lokus HEL 009 dan INRA 023 (38%), dan rata-rata nilai informasi polimorfik pada populasi kerbau Banyuwangi yaitu 47%, apabila dibandingkan dengan rata-rata nilai informasi polimorfik alel pada populasi kerbau Blitar yaitu 55% populasi kerbau Banyuwangi lebih rendah hal ini menandakan jumlah alel pada populasi kerbau Banyuwangi lebih rendah dibandingkan populasi kerbau Blitar.

SARAN

1. Variasi alel mikrosatelit dapat dijadikan acuan untuk penentuan variabel dalam evaluasi mutu genetik kerbau.
2. Hendaknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan antara penanda mikrosatelit pada kerbau dengan kemampuan produksi ternak untuk kriteria seleksi ternak.

DAFTAR RUJUKAN

- Beckmann, J., S., and Wber, J., L. 1992. *Survey of Human and Rat Microsatellit. Genomics.*
- Caughley, G. 1994. Directions in Conservation Biology. *Journal of Animal Ecology*, 63, 215-44.



- Departemen Peternakan Propinsi Jawa Timur. 2008. *Laporan Tahunan*. Departemen Peternakan.
- Drent, R., H., Ens, B., J., and Weissing, F., J. 1995. The Despotism Distribution and Deferred Maturity: Two Sides of the Same Coin. *Journal The American Naturalist*. Vol. 146. No. 4.
- Guyer, M., S., and Collins, F., S. 1993. The Human Genome Project and the Future of Medicine. *Am J Dis Child*. 147 (11).
- Haberfield, P., J., Kivuls, M., Haddad and T., Rizzo. 1984. Enthalpies, Free Energies, and Entropies of Transfer of Phenols from Nonpolar Solvents to Water. *J. Phys. Chem.* 88:1913-1915.
- Hartl, D., L. 2001. A Primer of Population Genetics. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. Volume 118, Issue 4. Sunderland, Massachusetts.
- Minkema, D. 1987. *Dasar Genetika dalam Pembudidayaan Ternak*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Mommens, G., Van Zeveren A., Peelman, L., J. 1998. *Effectiveness of Bovine Microsatellites in Resolving Paternity Cases in American Bison, Bison bison* L. *Anim Genet.* 29:12-18. doi: 10.1046/j.1365-2052.1998.00252.x.
- Powell, W., W., Kenneth, W., Koput and Laurel, S., D. 1996. Interorganizational Collaboration and the Locus of Innovation: Networks of Learning in Biotechnology. *Journal Administrative Science Quarterly*. Vol. 41, No. 1. pp. 116-145.
- Rahayu, S., Sumitro, S., B., Susilawati, T., dan Soemarno. 2006. *Analisis Isoenzim untuk Mempelajari Variasi Genetik Sapi Bali di Provinsi Bali*. Berkas Penelitian Hayati.
- Sofro, A., S., M. 1994. *Keanekaragaman Genetik*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Setyaningrum, Y. 2008. *Polimorfisme Alel DNA Mikrosatelit Kromosom Y pada Populasi Sapi Madura (Bos Javanicus)*. [skripsi]. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Program Studi Pendidikan Biologi.
- Vigouroux, Y., J., S., Jaqueth, Y., Matsuoka, O., S., Smith, W., D., Beavis, J., S., C., Smith, and J., Doebley. 2002. *Rate and Pattern of Mutation at Microsatellite Loci in Maize*. *Mol. Biol. Evol.*(Online), (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Diakses pada Tanggal 10 Agustus 2009.
- Warwick, E., J., J., M., Astuti dan W., Hardjosubroto. 1990. *Pemuliaan Ternak*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Winaya, A., Herwintono, Amin, M. 2008. Y Chromosomal Microsatellites Polymorphism in Madura Cattle (*Bos javanicus*). *Journal of Biotechnology Research in Tropical Region*, Vol. 1 (Special Edition) ISSN: 1979-9756.