

**KARAKTERISASI GENETIK DNA MITOKONDRIA D-LOOP  
SAPI BALI DAN BANTENG (F2) DI UPT PERBIBITAN  
TERNAK DAN HIJAUAN PAKAN TERNAK (UPT-PTHPT)  
PROVINSI SULAWESI SELATAN**

**SKRIPSI**

**MUH. IDHAM  
I111 15 323**



**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

**KARAKTERISASI GENETIK DNA MITOKONDRIA D-LOOP  
SAPI BALI DAN BANTENG (F2) DI UPT PERBIBITAN  
TERNAK DAN HIJAUAN PAKAN TERNAK (UPT-PTHPT)  
PROVINSI SULAWESI SELATAN**

**SKRIPSI**

**MUH. IDHAM  
I111 15 323**

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Peternakan  
pada Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin**

**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muh. Idham

NIM : 1111 15 323

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul: **“Karakterisasi Genetik DNA Mitokondria D-Loop sapi Bali dan Banteng (F2) di UPT Perbibitan Ternak dan Hijauan Pakan Ternak (UPT-PTHPT) Provinsi Sulawesi Selatan “**adalah Asli.

Apabila sebagian atau seluruhnya dari karya skripsi ini tidak asli atau plagiasi maka saya bersedia dibatalkan dikenakan sanksi akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 20 Januari 2020



MUH. IDHAM

## HALAMAN PENGESAHAN

**Judul Penelitian** : Karakterisasi Genetik DNA Mitokondria D-Loop sapi Bali dan Banteng (F2) di UPT Perbibitan Ternak dan Hijauan Pakan Ternak (UPT-PTHPT) Provinsi Sulawesi Selatan

**Nama** : Muh. Idham

**NIM** :1111 15 323

Skripsi ini Telah Diperiksa dan Disetujui Oleh :



Prof. Dr. Ir. Sudirman Baco, M.Sc  
Pembimbing Utama



Drh. Kusumandari Indah Prahesti, M. Si  
Pembimbing Anggota



Dr. Ir. Muh. Ridwan, S.Pt., M.Si  
Ketua Program Studi Peternakan

Tanggal Lulus : 20 Januari 2020

## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

Alhamdulillahirabbi'alam, segala puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT karena berkat taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat merampungkan penyusunan skripsi yang berjudul **“Karakterisasi Genetik DNA Mitokondria D-Loop sapi Bali dan Banteng (F2) di UPT Perbibitan Ternak dan Hijauan Pakan Ternak (UPT-PTHPT) Provinsi Sulawesi Selatan”** yang diajukan sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Ilmu Peternakan (S.Pt) pada Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Makassar.

Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW yang merupakan rahmat bagi semesta Alam dan menjadi sosok suri teladan bagi kita, beserta sahabat-sahabatnya dan kepada pengikut setianya Insya Allah. Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini tidak akan terselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak yang telah memberi dukungan, doa, semangat, perjalanan dan pengalaman berharga pada penulis sejak penulis menginjak bangku perkuliahan hingga proses penyusunan skripsi.

Selama penyusunan skripsi, tentunya tidak lepas dari berbagai hambatan dan tantangan, namun berkat doa yang begitu besar dari manusia yang begitu berharga dan merupakan penyemangat hidup. Untuk itu, perkenankanlah penulis menghanturkan ucapan terima kasih dan penghargaan yang istimewa kepada Ayah tercinta **H. M. Yakub** dan Ibu **Hj.Hasni**, serta keluarga yang tampah pamrih, penuh kasih sayang membesarkan dan mendidik penulis sejak kecil hingga menyelesaikan pendidikan seperti saat ini.

Terselesaikannya skripsi ini juga tidak lepas dari bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, melalui kesempatan ini penulis dengan segala kerendahan hati dan rasa hormat untuk mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A** selaku Rektor Universitas Hasanuddin Makassar.
2. **Bapak Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc** selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Makassar
3. **Prof. Dr. Ir. Sudirman Baco, M.Sc.** selaku Dosen Pembimbing utama dan **Drh. Kusumandari Indah Prahesti, M. Si** selaku Dosen Pembimbing anggota atas bimbingan dan mengarahkan penulis mulai dari penyusunan proposal sampai penyelesaian skripsi ini.
4. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S. Pt., Ph. D. IPU** selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan banyak masukan selama Penulis Menumpuh Pendidikan di Universitas Hasanuddin Makassar.
5. **Prof. Rr. Sri Rachma A. B., M. Sc., Ph. D** dan **Dr. Muh. Ihsan A. Dagong, S.Pt., M.Si** selaku penguji yang telah memberikan saran dan kritikan yang konstruktif demi kesempurnaan penulisan dan penyusunan skripsi
6. Seluruh **Pengawai di UPT- PTHPT di Kab. Maros Provinsi Sulawesi Selatan** terkait, yang membantu selama masa penelitian.
7. Seluruh **Staf Jurusan** dan **Akademik** yang selama ini membantu penulis dalam proses administrasi.
8. Penulis Juga mengucapkan banyak terima kasih kepada teman-teman

**Rantai 15, Tim Peneliti**, senior-senior di Laboratorium Terpadu, **kak Trias Devianty, kak Magfirah, dan kak Tilawati** dan **KKN UNHAS POSKO BOJO BARU** angkatan 99 yang telah banyak membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

9. Penulis Juga mengucapkan banyak terima kasih kepada **Ayu Anggita Putri Amd.Kep** yang senantiasa memberikan semangat dan motivasi dalam penyelesaian skripsi ini.

Dengan sangat rendah hati, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik serta saran pembaca sangat diharapkan demi perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan nantinya. Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi kita semua Aamiin Ya Robbal Aalamin. Akhir Qalam.

*Wassalamualaikum Warahmatullah Wabarakatuh.*

Makassar, Januari 2020

Penulis

## ABSTRAK

**MUH. IDHAM.** I11115323. Karakterisasi Genetik DNA Mitokondria D-Loop sapi Bali dan Banteng (F2) di UPT Perbibitan Ternak dan Hijauan Pakan Ternak (UPT-PTHPT) Provinsi Sulawesi Selatan. Pembimbing Utama: **Sudirman Baco** dan Pembimbing Anggota: **Kusumandari Indah Prahesti**.

Sapi Bali adalah jenis sapi asli Indonesia yang diduga dari keturunan Banteng yang sudah didomestikasi dan merupakan plasma nutfah ternak asli Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi karakterisasi genetik Banteng (F2) dan sapi Bali berdasarkan keragaman gen *Displacement Loop* dengan teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)-Sekuensing* dan mengetahui hubungan kekerabatan antara Banteng (F2) dan sapi Bali yang sering dikatakan memiliki kemiripan pada fenotipnya melalui analisis komposisi nukleotida, jarak genetik dan pohon filogeni. Penelitian ini menggunakan DNA mitokondria yang di ekstraksi dari sampel darah Banteng (F2) sebanyak 10 ekor dan sampel sapi Bali sebanyak 9 ekor yang berasal dari UPT-PTHPT Sulawesi Selatan. PCR dilakukan dengan menggunakan primer forward 5-AAA CTG CAG TCT CAC CAT CAA C-3' dan reverse 3-GAT TAT AGA ACA GGC TCC TCT A-5' dengan panjang target ampikon 1607 bp. Hasil sekuensing kemudian dianalisis dengan menggunakan ClustalW dalam program MEGA 6 dengan panjang 561bp. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya variasi nukleotida yang terjadi pada Banteng (F2) dan sapi Bali. Banteng (F2) dan sapi Bali memiliki jarak genetik yang masih relatif rendah (0,0 - 0,11). Analisis DNA mitokondria pada gen *Displacement Loop* Banteng (F2) dan sapi Bali menunjukkan adanya variasi genetik meskipun masih relatif kecil.

Kata Kunci: *Banteng (F2) dan sapi Bali, Displacement Loop, DNA Mitokondria*



## ABSTRACT

**MUH IDHAM.** I11115323. Genetic Characterization of D-Loop Mitochondrial DNA of Bali Cattle and Banteng (F2) at the Animal Breeding and Forage Feeding Unit (UPT-PTHPT), South Sulawesi Province. Supervised by: Sudirman Baco and Kusumandari Indah Prahesti.

Bali cattle is a type of native Indonesian cattle suspected of being a domesticated Banteng filial and is Indonesian germplasm. The purpose of this study was to identify the genetic characterization of Banteng (F2) and Balicattle based on the diversity of the Displacement Loop gene with the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique-sequencing and analyze the genetic relationship between Bali cattle and Banteng (F2) through the nucleotide composition, genetic distance, and phylogenetic tree. This study used mitochondrial DNA extracted from 10 Banteng (F2) and 9 Bali cattle blood samples from UPT-PTHPT South Sulawesi. The PCR method was conducted using the 5'-AAA CTG CAG TCT CAC CAT CAA C-3' forward and the 3'-GAT TAT AGA ACA GGC TCC TCT A-5' reverse primers, with the amplicon length of 1607 bp. The Sequencing results were then analyzed using ClustalW in the MEGA 6 program with a length of 561 bp. The results showed that the presence of nucleotide variations occurred in Banteng (F2) and Bali cattle. Banteng (F2) and Bali cattle have a relatively small genetic distance (0.0 - 0.11). Analysis of mitochondrial DNA in the Displacement Loop gene of Banteng (F2) and Bali cattle showed genetic variation, although still relatively small.

**Keywords:** *Banteng (F2) and Bali cattle, Displacement Loop, Mitochondrial DNA*

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
Daftar Isi.....	x
Daftar Tabel .....	xi
Daftar Gambar.....	xii
PENDAHULUAN .....	1
TINJAUAN PUSTAKA .....	3
Gambaran Umum Sapi Bali .....	3
Gambaran Umum Banteng.....	5
DNA Mitokondria .....	7
D-Loop Mitokondria .....	10
METODE PENELITIAN.....	12
Waktu dan Tempat Penelitian .....	12
Materi Penelitian .....	12
Prosedur Penelitian.....	13
Analisis Data .....	16
HASIL dan PEMBAHASAN.....	18
Amplifikasi DNA .....	18
Komposisi Runutan Nukleotida .....	19
Jarak Genetik.....	22
Analisis Pohon Filogeni .....	23
KESIMPULAN dan SARAN.....	26
Kesimpulan.....	26
Saran.....	26
DAFTAR PUSTAKA .....	27
LAMPIRAN .....	30

## DAFTAR TABEL

<b>No.</b>		<b>Halaman</b>
1.	Jumlah sampel darah ternak yang digunakan .....	12
2.	Komposisi nukleotida parsial mtDNA D-Loop .....	20
3.	Jarak genetik .....	22

## DAFTAR GAMBAR

No.		Halaman
1.	Skema genom DNA Mitokondria .....	11
2.	Gambar sistem perkawinan sapi Bali dan Banteng (F2).....	14
3.	Skema <i>mtDNA</i> D-Loop .....	15
4.	Skema alur penelitian .....	18
5.	Hasil amplikasi mtDNA Banteng (F2) dan sapi Bali.....	19
6.	Analisis pohon filogeni .....	23

## PENDAHULUAN

Sumberdaya genetik ternak dihadapkan pada dua tantangan yang saling bertolak belakang yaitu pemanfaatan ternak unggul eksotis untuk memenuhi kebutuhan daging dan susu, sementara disisi lain sumberdaya genetik ternak lokal terus berkurang. Salah satu komoditas kekayaan plasma nutfah nasional di sub sektor peternakan adalah sapi Bali (*Bos sondaicus*). Sapi Bali adalah jenis sapi asli Indonesia yang diduga dari keturunan Banteng yang sudah didomestikasi dan merupakan plasma nutfah ternak asli Indonesia. Sapi Bali juga mudah beradaptasi di lingkungan yang buruk dan tidak selektif terhadap makanan. Selain itu, sapi Bali cepat beranak, jinak, mudah dikendalikan dan memiliki daya cerna terhadap makanan serat yang baik (Batan, 2006).

Penelitian-penelitian yang telah dilakukan oleh para ahli sebelumnya membuktikan bahwa sapi Bali mengalami penurunan performan. Penurunan performan sapi Bali mungkin disebabkan karena faktor bibit yaitu terjadinya inbreeding (kawin sedarah) dan tidak adanya pejantan unggul di dalam kelompok ternak masyarakat yang digunakan sebagai pemacek sehingga terjadi perkawinan acak tanpa kontrol dalam kelompok (Baco, 2001).

Perkembangan sejumlah penanda molekuler memungkinkan untuk melakukan identifikasi terhadap perubahan-perubahan genetik yang terjadi dalam suatu persilangan serta hubungan dengan sifat kuantitatif dan kualitatif ternak. Selain itu, penanda molekuler juga dapat digunakan untuk membedakan antara suatu ras ternak dengan yang lain terutama kaitannya dalam upaya pelestarian dan menjaga kemurnian dari ras tersebut. Salah satu teknik untuk mengetahui variasi

genetik dan hubungan kekerabatan (filogenetik) antar spesies dalam suatu populasi ialah berdasarkan pada analisis DNA mitokondria D-Loop.

DNA mitokondria memiliki karakteristik sebagai molekul DNA yang diturunkan secara utuh tanpa adanya rekombinasi, memiliki molekul dengan ukuran kecil/pendek yang susunannya berbeda dengan DNA inti dan memiliki variasi basa nukleotida yang lebih tinggi dibandingkan dengan DNA inti. Molekul DNA Mitokondria memiliki daerah yang disebut *displacement loop* atau *D-loop*. Daerah *D-loop* mengandung pangkal replikasi untai berat (O), promotor transkripsi untai berat (H), dan promotor transkripsi untai ringan (L). Hal tersebut menunjukkan bahwa daerah *D-loop* berperan penting dalam replikasi dan transkripsi. Daerah *D-loop* mengandung sekuens DNA yang paling bervariasi dari keseluruhan genom DNA Mitokondria.

Diduga karakteristik DNA Mitokondria D-Loop pada sapi Bali dengan Banteng berbeda, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik genetik sapi Bali dan Banteng (turunan F2), menambah bahan referensi dan sebagai ilmu pengetahuan, serta sebagai dasar pengambilan kebijakan dalam pengembangan sapi Bali.

## TINJAUAN PUSTAKA

### Gambaran Umum Sapi Bali

Sapi Bali merupakan salah satu bangsa sapi asli Indonesia yang sangat potensial sebagai penghasil daging. Sapi Bali berasal dari group *Bibovine* (*Bos sondaicus*, *Bos javanicus*, *Bibos banteng*). Sapi Bali sebagai salah satu bangsa (rumpun) sapi asli Indonesia yang memiliki beberapa keunggulan-keunggulan.

Keunggulan utamanya adalah dalam beradaptasi pada hampir seluruh kondisi tropis di Indonesia sehingga membuatnya terkenal sebagai sapi dengan julukan “sapi perintis”. Keunggulan lainnya adalah tetap produktif pada kondisi lingkungan baru tempat ia dipelihara dengan tetap mempunyai tingkat reproduksi dan pertumbuhan serta kondisi tubuh yang baik. Selain itu, sapi Bali mempunyai daya tahan terhadap caplak dan invasi cacing terbaik dibanding sapi-sapi lainnya di Indonesia. Cara pemeliharaan adalah salah satu faktor lingkungan yang mampu diadaptasi oleh sapi Bali. Cara pemeliharaan sapi Bali dibedakan atas yang dikandangan terus-menerus, yang digembalakan pada areal tertentu, dan kombinasi kedua cara pemeliharaan tersebut.

Sapi Bali mempunyai ciri khas yang tidak dimiliki oleh sapi dari bangsa lainnya dan merupakan sumber daya genetik asli Indonesia yang perlu dijaga dan dipelihara kelestariannya sehingga dapat memberikan manfaat dalam peningkatan kesejahteraan dan kemakmuran rakyat Indonesia.

Menurut Williamson and Payne, 1993 sapi Bali mempunyai klasifikasi taksonomi sebagai berikut :

Phylum : *Chordata*

Subphylum : *Vertebrata*  
Class : *Mamalia*  
Sub class : *Theria*  
Infra class : *Eutheria*  
Ordo : *Artiodactyla*  
Sub ordo : *Ruminantia*  
Infra ordo : *Pecora*  
Famili : *Bovidae*  
Genus : *Bos (cattle)*  
Group : *Taurinae*  
Spesies : *Bos sondaicus* (banteng/sapi Bali)

Sapi Bali yang merupakan keturunan Banteng, mempunyai warna dan bentuk tubuh yang sama dengan Banteng liar. Pada sapi jantan maupun betina, warna kaki dari lutut kebawah adalah putih, memiliki “telau” yakni bulu putih pada bagian pantat, dan terdapat garis (bulu) hitam disepanjang punggung. Sapi Bali tidak memiliki punuk, bentuk badan kompak dan dada dalam. Dibandingkan dengan bangsa sapi lainnya, sapi Bali jantan lebih agresif penampilannya (Susilawati, 2017).

Domestikasi atau penjinakan Banteng liar menjadi sapi Bali, sampai kini belum ada kesepakatan di antara para ahli, sapi Bali merupakan domestikasi Banteng liar yang terjadi di pulau Jawa. Teori ini didasarkan pada kenyataan bahwa Banteng liar berada di pulau Jawa yang merupakan nenek moyang sapi Bali. Berdasarkan catatan para sejarawan, bahwa pada jaman dahulu raja-raja di



Jawa dalam menerima upeti selain berupa perhiasan juga berupa sapi yang serupa dengan Banteng yang telah dijinakkan (Susilawati, 2017).

### **Gambaran Umum Banteng**

Banteng (Ordo: *Artiodactyla*, Famili: *Bovidae*, Subfamili: *Bovinae*, Genus: *Bos*, Sub genus: *Bibos*), adalah bangsa sapi liar yang sudah mulai terancam kepunahan, dan merupakan nenek moyang dari sapi-sapi yang di domestikasi di Negara-negara asia tenggara. Banteng Jawa (*Bos javanicus*) merupakan satu dari 5 (lima) spesies Banteng yang ada di dunia (satu spesies telah punah). Banteng terdiri atas tiga subspecies (sub-jenis) yakni *Bos javanicus javanicus* (terdapat di Jawa, Madura, dan Bali, Indonesia), *Bos javanicus lowi* (terdapat di Kalimantan) dan *Bos javanicus birmanicus* (terdapat di Indocina) (Nowak, 1991).

Banteng (*Bos javanicus*) mempunyai tinggi sekitar 160 cm dengan panjang antara 190-225 cm. Meskipun beberapa Banteng mampu memiliki berat hingga satu ton namun rata-rata Banteng jantan memiliki berat berkisar antara 600-800 kg. Sedangkan Banteng betina memiliki berat dan ukuran yang lebih kecil. Banteng memiliki sepasang tanduk dikepalanya yang panjangnya berkisar antara 60-75 cm. Rata-rata kisaran umur di alam liar mampu mencapai 11 tahun, meskipun sebenarnya mereka dapat hidup sampai 20 – 25 tahun (Wilson and Reeder, 1993).

Kulit kaki bagian bawah, punuk, dan daerah sekitar mata dan moncong Banteng (*Bos javanicus*) berwarna putih. Banteng jantan memiliki kulit berwarna biru kehitam-hitaman atau coklat gelap dengan punuk di bagian pundak dan tanduk yang melengkung ke atas, Sedangkan Banteng betina memiliki kulit berwarna coklat kemerahan tanpa punuk dan tanduk yang mengarah ke dalam.

Banteng merupakan satwa yang hidupnya berkelompok terdiri dari satu jantan dewasa, jantan muda, betina induk, dan anak-anaknya. Mereka suka melakukan perjalanan jauh sambil makan, tetapi kurang tahan terhadap terik matahari sehingga sering berlindung di bawah pohon rindang di dekat *monsoon forest*, savana atau padang rumput. Populasi satwa ini di kawasan konservasi *in-situ* seperti taman nasional mengalami penurunan populasi akibat perburuan liar dan penurunan kualitas habitat karena invasi tumbuhan *Acacia nilo-tica* LINN, *Chromolaena odorata*, dan *Crotalaria* sp. di savana (Yahya, 2001).

Di kawasan konservasi *ex-situ*, perkawinan banteng cenderung tidak acak dan keturunannya cenderung ada permasalahan terkait *inbreeding* dalam keragaman genetiknya, sehingga populasi keturunannya sangat rentan terhadap serangan penyakit maupun seleksi alam dan dikhawatirkan akan menghancurkan keseluruhan populasi. Hal ini dinyatakan juga oleh WWF-Indonesia (2002) dan Yahya (2001) di mana populasi Banteng di beberapa lokasi taman nasional mengalami kecenderungan penurunan sebagai akibat dari perambahan dan gangguan habitat oleh masyarakat, kompetisi antar satwa-liar dalam hal ruang maupun pakan, kualitas genetika yang makin menurun akibat *inbreeding*, rasio antara Banteng jantan dan betina tidak seimbang, dan penyakit hewan yang dapat menyebabkan penurunan kemampuan produksi dan reproduksi.

Sapi Jaliteng merupakan persilangan antara sapi Bali dan Banteng Jawa. Jaliteng sendiri merupakan singkatan dari Jawa, Bali dan Banteng. Sapi Jaliteng merupakan perkawinan antara sapi bali dan banteng dari taman nasional baluran yang diprakarsai oleh Taman Safari Indonesia II Prigen bersama Dinas Peternakan Provinsi Jawa Timur. Tanda-tanda yang dimiliki bila dilihat seperti sapi Bali,

yaitu warna putih pada bagian belakang paha, mulai tarsus dan carpus sampai batas pinggir atas kuku, rambut pada ujung ekor hitam, rambut pada bagian dalam telinga putih, terdapat garis belut (garis hitam) yang jelas pada bagian atas punggung. Warna tubuh ternak tersebut juga beragam, ada yang hitam dan coklat, mirip dengan sapi Bali.

Terdapat sedikit perbedaan pada bagian bentuk tanduk pada sapi Bali jantan. Jalannya pertumbuhan tanduk mula-mula dari dasar sedikit keluar lalu membengkok keatas, kemudian pada ujungnya membengkok sedikit keluar, sedangkan pada sapi Jaliteng tanduk langsung mengarah ke atas seperti banteng pada umumnya. Performa sapi hasil persilangan Banteng dengan Bali dilaporkan memiliki performa yang cukup bagus dengan bobot lahir berkisar 15 – 21 kg, serta memiliki bobot hidup yang dapat mencapai 450 kg yang lebih tinggi jika dibandingkan rata-rata bobot sapi Bali (300 kg) (BBIB Singosari, 2016).

Hasil domestikasi Banteng yang berupa sapi Bali telah berlangsung lama, tidak terdokumentasi dengan baik secara prinsip pemuliaan yaitu tercatat baik dan jelas keturunannya, melalui analisis genom, seperti *D-loop* DNA mitokondria yang dapat menunjukkan marka genetik cukup akurat. Analisis DNA mitokondria merupakan alat yang kuat dalam mempelajari evolusi satwa dan banyak digunakan untuk mengenali struktur populasi, aliran gen, hibridisasi biogeografi, dan poligeni. Hal ini disebabkan DNA mitokondria yang berbentuk sirkuler berutas ganda diturunkan langsung secara maternal.

### **DNA Mitokondria**

Organisme eukariot termasuk ternak domestik, sumber DNA dapat diperoleh oleh organel-organel sitoplasmik antara lain DNA mitokondria. DNA

mitokondria memiliki karakteristik sebagai molekul DNA yang diturunkan secara utuh tanpa adanya rekombinasi, memiliki molekul dengan ukuran kecil/pendek yang susunannya berbeda dengan DNA inti (Lewin, 2000) dan memiliki variasi basa nukleotida yang lebih tinggi dibandingkan dengan DNA inti. Tingginya variasi basa nukleotida disebabkan DNA mitokondria memiliki laju perubahan 5-10 kali lebih tinggi dibandingkan DNA inti (Muladno, 2006). DNA mitokondria terutama daerah D-loop, sangat baik digunakan untuk analisis keragaman hewan, baik di dalam spesies maupun antar spesies (Muladno, 2006).

Setiap sel mengandung satu hingga ratusan DNA mitokondria. DNA mitokondria merupakan DNA utas ganda yang berbentuk sirkuler (Freeland, 2005), mengandung sejumlah gen penting untuk respirasi dan pembentukan energi sel tubuh dan fungsi lainnya, sehingga relatif lebih mudah untuk mengisolasi nukleotidanya dari genom (MacHugh and Bradley, 2001). Genom mitokondria hewan berukuran relatif kecil dan terdapat dalam jumlah banyak, maka eksplorasi rumpun dan penelaahannya lebih mudah.

DNA mitokondria (mtDNA) mempunyai beberapa kelebihan yang menjadikannya banyak digunakan untuk mengidentifikasi keanekaragaman genetik dan dinamika populasi. Beberapa kelebihan tersebut adalah (1) memiliki ukuran yang kompak dan relatif kecil (16.000–20.000 pasang basa), tidak sekomplek DNA inti sehingga dapat dipelajari sebagai satu kesatuan yang utuh; (2) berevolusi lebih cepat dibandingkan dengan jelas perbedaan antara populasi dan hubungan kekerabatannya; (3) hanya sel telur yang menyumbangkan material mitokondria sehingga mitokondria DNA hanya diturunkan dari induk betina; dan (4) bagian-bagian dari genom mitokondria berevolusi dengan laju yang berbeda,

sehingga dapat berguna untuk studi sistematika dan penelusuran kesamaan asal-usul. DNA mitokondria telah banyak digunakan sebagai penanda molekul untuk studi genetika populasi, penelusuran asal-usul dan pelacakan beberapa penyakit degeneratif, penuaan serta kanker (Wandia, 2001). DNA mitokondria telah dikarakterisasi dengan lebih baik pada sebagian besar ternak dan telah digunakan untuk studi evolusi (Freeland, 2005).

Tingkat evolusi dari suatu gen atau bagian DNA yang berbeda merupakan faktor penting yang menentukan penggunaan penanda DNA dalam studi sistematika dan biogeografi. Umumnya, gen-gen yang terkonservasi dengan baik (berevolusi lambat) dapat dijadikan dasar penelusuran asal-usul atau filogeni. Sebaliknya, gen-gen yang tidak terkonservasi dengan baik (berevolusi cepat) dapat digunakan untuk perbandingan galur-galur baru (Chen *et al.* 2005).

DNA mitokondria hewan secara umum memiliki jumlah dan jenis gen yang sama yaitu 13 daerah yang mengkode protein (URF1, URF2, URF3, URF4, URF5, URF6, URF6L, URF4L, *Cytochrome Oxidase* unit I, *Cytochrome Oxidase* unit II, *Cytochrome Oxidase* unit III, *Cytochrome -b* dan ATPase 6); 2 gen pengkode rRNA yaitu 12S rRNA dan 16S rRNA; 22 gen pengkode tRNA (Freeland, 2005).

Perkembangan sekarang ini ke-8 URF adalah diidentifikasi menjadi gen-gen 7 sub unit NADH-*dehidrogenase* (ND 1-6 dan ND 4L) dan sisa ATPase 8 (Lewin, 2000). Daerah bukan pengkode (*noncoding region*), hanya terdiri atas daerah kontrol (*control region*) yang memegang peranan penting dalam proses transkripsi dan replikasi genom mitokondria. Pada mamalia, daerah bukan pengkode meliputi daerah bukan pengkode utama yang merupakan tempat awal

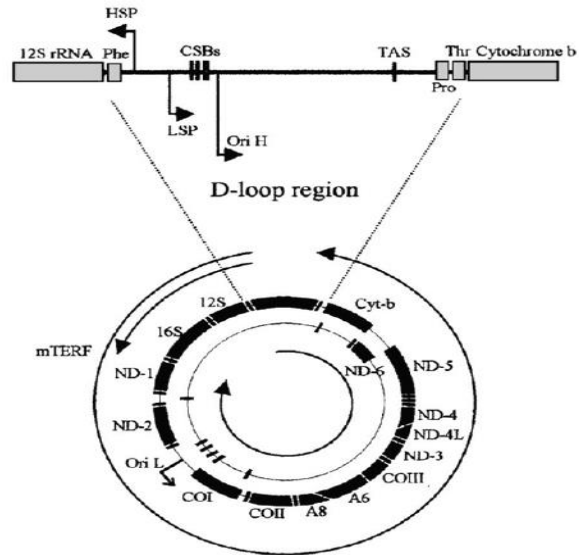
replikasi H *strand* (OH). Daerah bukan penyandi utama terletak pada wilayah *displacement-loop* (*D-loop region*). Bagian lainnya adalah daerah bukan pengkode segmen minor yaitu tempat awal replikasi L *strand* (OL) yang terletak pada gugus gen tRNA antara gen CO I dan ND 2.

### **D-loop Mitokondria**

Molekul *mtDNA* memiliki daerah yang disebut *displacement loop* atau *D-loop*. Daerah *D-loop* mengandung pangkal replikasi untai berat (O), promoter transkripsi untai berat (H), dan promoter transkripsi untai ringan (L). Hal tersebut menunjukkan bahwa daerah *D-loop* berperan penting dalam replikasi dan transkripsi (Ruokonen, 2001). Daerah *D-loop* mengandung sekuens DNA yang paling bervariasi dari keseluruhan genom *mtDNA* hewan.

Daerah ini bersifat sangat polimorfik dan memiliki tiga daerah *hipervariabel* yaitu *Hipervariabel I* (HVI), *Hipervariabel II* (HVII), dan *Hipervariabel III* (HVIII) dengan urutan sangat bervariasi antar individu. Daerah HVI terletak pada urutan nukleotida 57-372, sedangkan HVII terletak pada nukleotida 438-594, dan HVIII terletak pada nukleotida 16024-16383. Tiga daerah ini memiliki laju mutasi yang lebih tinggi dari daerah *coding*. Laju mutasi sejauh ini diketahui 1:33 generasi, artinya perubahan urutan nukleotida hanya akan terjadi setiap 33 generasi. Individu yang terkait hubungan maternal akan memiliki urutan sekuens yang sama dan yang tidak terkait hubungan maternal akan berbeda. Daerah HVI, HVII, dan HVIII terletak di daerah kontrol, yang juga bertanggung jawab terhadap replikasi dan transkripsi *mtDNA*. Daerah kontrol terletak antara gen tRNA yang masing-masing mengkode asam *amino prolin* dan *fenilalanin* (Hoong and Lex, 2005). Oleh karena itu, daerah ini sering dianalisis

dan sangat penting untuk digunakan dalam proses identifikasi individu. Daerah *D-loop* pada *mtDNA* dapat diamati pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema genom daerah D-loop (Freeland, 2005)

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai November 2019. Pengambilan sampel darah dilakukan di UPT- Perbibitan Ternak dan Hijauan Pakan Ternak (UPT-PTHPT), di Pucak Kecamatan Tompobulu, Kab. Maros dan uji karakterisasi genetik dilaksanakan di laboratorium Bioteknologi Terpadu Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.

### Materi Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jarum *venoject*, *holder*, tabung vakum, *vortex*, mikropipet, tips, tabung mikro 1.5  $\mu$ L, *centrifuge*, tube penyaring, *freezer*, inkubator (*waterbath shaker*), *Thermocycler PCR*, *Gel Agarose*, *Gel Documentation System*, program *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA 6.0), Bioedit.

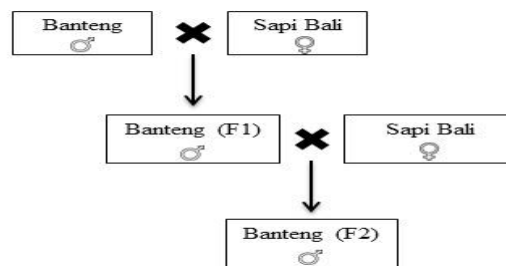
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel darah sapi Bali perkawinan dengan Banteng dan sapi Bali yang dikoleksi secara proporsi, bahan ekstraksi DNA yaitu (*lysis buffer*, *proteinase K*, *wash buffer I*, *wash buffer II*, *elution buffer*, *ethanol absolute 96%*), bahan PCR (*dNTP mix*,  $MgCl_2$ , enzim *Taq DNA polymerase*), bahan *elektroforesis* (*tris base*, *asam borat*, *agarose*,  $Na_2$  *EDTA*, *ethidium bromide*, *DNA marker*, *DNA loading dye*). Sampel darah yang digunakan diambil dari sapi Bali dan Banteng (F2) dengan jumlah sampel darah yaitu sapi Bali 9 sampel dan Banteng (F2) 10 sampel seperti pada Tabel 1. Banteng (F2) diperoleh dari perkawinan sapi Bali dan Pejantan Banteng yang



kemudian menghasilkan turunan Banteng (F1), kemudian dikawinkan kembali antara sapi Bali dengan Banteng turunan (F1) sehingga di dapatkan turunan Banteng (F2) seperti pada Gambar 2.

Tabel 1. Jumlah sampel darah ternak yang digunakan

Lokasi Sampling	Jenis Ternak				Jumlah
	Sapi Bali		Banteng (F2)		
	Jantan (ekor)	Betina (Ekor)	Jantan (Ekor)	Betina (Ekor)	
UPT- PTHPT Maros	5	4	4	6	19



Gambar 2. Sistem perkawinan sapi Bali dan Banteng

## Prosedur Penelitian

### a. Pengambilan Sampel

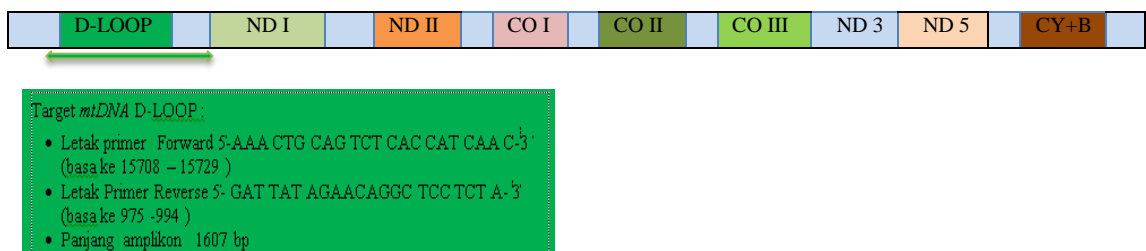
DNA yang diisolasi berasal dari sampel darah Banteng (f2) dan sapi Bali. Pengambilan sampel darah dilakukan dengan mengumpulkan sekitar 5 ml sampel darah dari sapi melalui vena jugularis dengan menggunakan venojet dan tabung vacutainer yang diberi antikoagulan (heparin dan EDTA). Sampel darah tersebut kemudian disimpan pada suhu 4°C sampai waktu dianalisis (ekstraksi DNA dan PCR).

b. Ekstraksi DNA

DNA diisolasi dan dimurnikan dengan menggunakan *Geneaid gSYNC™ DNA Extraction Kit* dengan mengikuti protokol ekstraksi yang disediakan. Sebanyak 200 µl sampel darah dilisiskan dengan menambahkan 200 µl larutan GSB buffer dan 20 µl proteinase K, kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 60 menit di dalam waterbath shaker. Setelah inkubasi, larutan kemudian ditambahkan 200 µl *Ethanol absolute 96%* dan disentrifugasi 15.000 × g selama satu menit.

Pemurnian DNA dilakukan dengan metode spin column dengan menambahkan 400 µl larutan pencuci wash buffer 1 pada yang kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi pada 15.000 g selama 30 detik. Setelah supernatannya dibuang, DNA kemudian dicuci lagi dengan 600 µl wash buffer dan disentrifugasi pada 12.000 g selama 30 detik. Setelah supernatannya dibuang, DNA kemudian dilarutkan dalam 200 µl elution buffer dan disentrifugasi pada 15.000 g selama 30 detik. Pengecekan kualitas DNA hasil ekstraksi dilakukan dengan *elektroforesis* pada gel agarose 1,5 % dengan *buffer 1 × TBE* (89 mM *Tris*, 89 mM asam borat, 2 mM Na<sub>2</sub> EDTA) yang mengandung 100 ng/ml *ethidium bromide* lalu divisualisasi pada UV transiluminator (*gel documentation system*).

c. Amplifikasi DNA Mitokondria D-Loop



Gambar 3. Skema target *mtDNA* D-loop

Hasil ekstraksi DNA diamplifikasi dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan primer (forward) 5'-AAACTGCAGTCTCACCATCAAC -3' (basa ke 15708-15729) dan (reverse) 5'-GATTATAGAACAGGCTCCTCTA -3' (basa ke 975-994) dengan panjang daerah ampikon 1607 bp (Mannen *et al.*, 2017). Komposisi reaksi PCR dalam volume 25µl dengan menggunakan sampel DNA 1µl, *Kit Tiagen 2 ×Taq Plus PCR MasterMix* (mengandung 0,1 U/µl Taq plus polymerase, 500 µM dNTP, 20 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, ddH<sub>2</sub>O, *loading dye*) 0,25 mM masing-masing primer *forward* dan *reverse*.

Kondisi PCR yang digunakan untuk proses amplifikasi adalah tahap denaturasi awal pada suhu 94°C selama 2 menit, tahap denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, tahap penempelan primer (*annealing*) pada suhu 58°C selama 30 detik, dan tahap ekstensi pada suhu 72°C selama 90 detik yang diulang selama 30 siklus, kemudian reaksi PCR diakhiri dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit (Gambar 4).

#### d. Elektroforesis

Hasil amplifikasi DNA dipisahkan berdasarkan berat molekulnya dengan menggunakan 0,60 gram *gel agarose* dalam 40 ml *buffer 1 × TBE*. Pewarnaan dilakukan dengan menambahkan 2,5 µl *etidium bromide* pada *gel agarose*, lalu dituang ke dalam cetakan yang sudah ada sisirnya. Sisir diambil apabila gel sudah mengeras, lalu dituangi dengan 250 ml 1 × TBE. Sampel dimasukkan ke dalam sumur gel. Disamping juga dipasang marker sebagai standar. Elektroforesis dijalankan pada tegangan 124 volt selama 45 menit. Kemudian divisualisasi pada UV transiluminator (*gel documentation system*).

#### e. Perunutan DNA

Produk amplifikasi yang menunjukkan pita tunggal yang masing-masing sampel produk PCR dimurnikan dan dijadikan cetakan dalam reaksi PCR untuk perunutan nukleotida. Reaksi PCR dilakukan dengan menggunakan metode Dideoxi Terminator dengan dNTP berlabel (*big dye terminator*). Perunutan nukleotida menggunakan mesin ABI Prism 3700-*Avant Genetic Analyzer*.

#### f. Analisis Filogeni

Runutan nukleotida yang telah diedit kemudian disejajarkan (*alignment*) dengan menggunakan program Clustal W yang terdapat pada software MEGA 6.0. Konstruksi pohon filogeni dilakukan dengan menggunakan program *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA 6.0) berdasarkan nilai *p-distance* yaitu jumlah nukleotida yang berbeda dibagi dengan jumlah total nukleotida yang dibandingkan. Konstruksi pohon filogeni menggunakan metode *UPGMA bootstrapped* 1000 kali pengulangan. Skema alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.

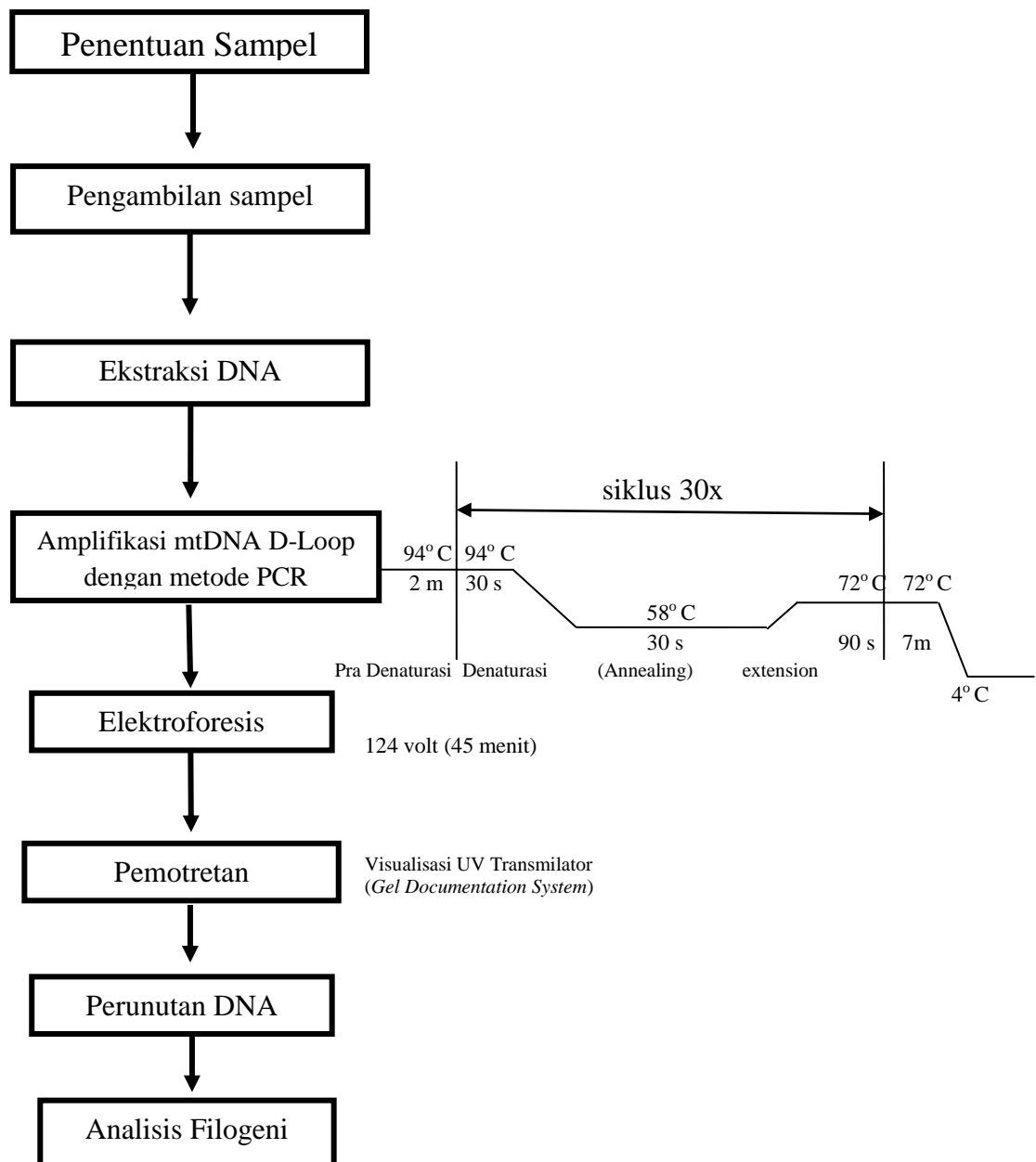
### **Analisis Data**

#### 1. Deskriptif

Data deskriptif menjelaskan/menggambarkan hubungan kekerabatan sapi Bali dengan Banteng (F2) dengan membandingkan sekuen sapi jenis lain yang di unduh pada *Genbank* melalui pohon filogeni pada software *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA 6.0).

## 2. Sekuensing

Data sekuensing dianalisis dengan cara disejajarkan menggunakan program *Clustal W*, kemudian penghitungan komposisi nukleotida dengan menggunakan program *Compute Nucleotide Composition*, serta menghitung jarak genetik dengan menggunakan program *Pairwise Distance* yang terdapat pada software *Molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA 6.0)*.

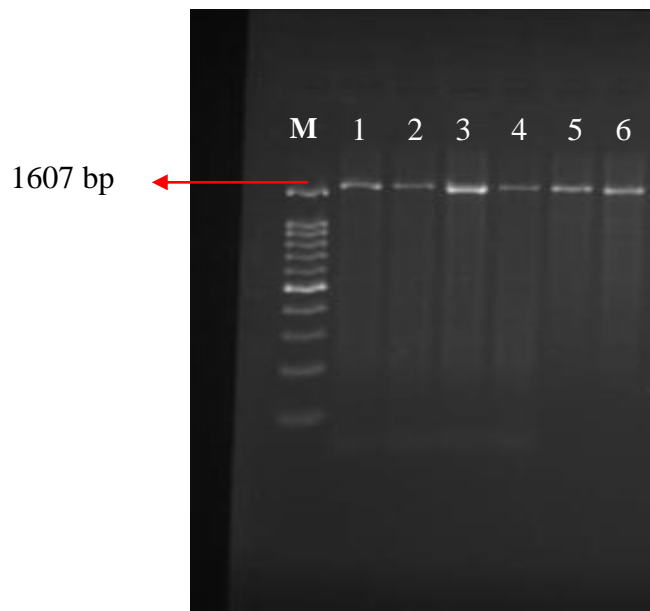


Gambar 4. Skema Alur Penelitian

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Amplifikasi mtDNA D-Loop

Amplifikasi mtDNA D-Loop dilakukan dengan menggunakan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Sampel yang berhasil di amplifikasi yaitu sampel Banteng (F2) berjumlah 9 dan sampel sapi Bali berjumlah 7. Hasil amplifikasi mtDNA D-loop yang dianalisis dengan mesin PCR dan divisualisasikan pada gel agarose dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil amplifikasi mtDNA D-Loop pada mesin PCR, M : marker 100 bp, 1 – 3 : sampel Banteng (F2), 4 – 6 : sampel sapi Bali, bp : *base pair*

Hasil amplifikasi mtDNA *D-Loop* yang divisualisasikan pada gel agarose didapatkan hasil yang baik sesuai dengan panjang target amplicon yaitu 1607 bp. Produk PCR ini didapatkan dengan menggunakan suhu *annealing* 58° C. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh (Rahayu, 2012), amplifikasi daerah D-loop DNA mitokondria (mtDNA) pada sampel DNA sapi Bali, Madura, Pesisir, Aceh, dan Peranakan Ongole dilakukan dengan menggunakan mesin PCR. Hasil optimal

fragmen D-loop mtDNA berhasil dilakukan amplifikasi pada kondisi annealing dengan suhu 60° C selama 45 detik, dan diperoleh produk PCR dengan panjang 1145 bp.

Keberhasilan amplifikasi daerah *D-loop* sangat ditentukan dengan kondisi penempelan primer pada DNA *genom*, selain faktor-faktor bahan pereaksi PCR dan mesin PCR yang digunakan. Weissensteiner (2004) menyatakan bahwa suhu penempelan (*annealing*) primer yang sesuai merupakan hal yang paling penting untuk keberhasilan PCR.

### **Komposisi Runutan Nukleotida Parsial mtDNA D-Loop**

Analisis komposisi runutan nukleotida dapat digunakan sebagai penentu karakteristik hereditas dan performa setiap makhluk hidup pada susunan dan jumlah basa nukleotida yang terletak pada untaian DNA (Arifin, 2004). Analisis komposisi runutan nukleotida dilakukan setelah runutan DNA Banteng dan sapi Bali yang disejajarkan dengan runutan nukleotida DNA pembanding yang dikoleksi dari *GenBank*.

Runutan Nukleotida parsial mtDNA D-loop yang berhasil dianalisis sepanjang 561 bp, yang disejajarkan runutan nukleotida DNA pembanding dari *GenBank*. Sekuen mtDNA D-loop yang berhasil di analisis berada pada daerah hipervariabel III. Rataan komposisi nukleotida DNA Banteng dan sapi Bali yang disejajarkan dengan runutan nukleotida DNA pembanding yang dikoleksi dari *GenBank* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi nukleotida mtDNA D-Loop Banteng dan sapi Bali disejajarkan dengan *Bos indicus*, *Bos taurus*, *Bos javanicus*, *Bubalus bubalis* dari Genbank (Ukuran 561 bp)

Sampel	T (%)	C (%)	A (%)	G (%)	A+T (%)	C+G (%)
B 01	31.0	22.6	30.4	16.0	61.4	38.6
B 02	31.1	22.5	30.4	16.0	61.5	38.5
B 03	31.1	22.5	30.4	16.0	61.5	38.5
B 04	31.1	22.5	30.4	16.0	61.5	38.5
B 05	31.1	22.5	30.4	16.0	61.5	38.5
B 09	31.1	22.5	30.4	16.0	61.5	38.5
B 10	31.1	22.5	30.4	16.0	61.5	38.5
<b>Rata-rata</b>	<b>31.1</b>	<b>22.5</b>	<b>30.4</b>	<b>16.0</b>	<b>61.5</b>	<b>38.5</b>
SB 02	31.1	22.5	30.4	16.0	61.5	38.5
SB 03	31.1	22.5	30.4	16.0	61.5	38.5
SB 04	31.1	22.5	30.4	16.0	61.5	38.5
SB 05	31.0	21.9	30.8	16.4	61.8	38.3
SB 08	31.1	22.5	30.4	16.0	61.5	38.5
<b>Rata-rata</b>	<b>31.1</b>	<b>22.5</b>	<b>30.4</b>	<b>16.0</b>	<b>61.5</b>	<b>38.5</b>
BJ	30.6	23.1	30.4	15.8	61	39
BT	28.2	23.4	35.1	13.3	63.3	36.7
BI	28.2	23.4	35.1	13.3	63.3	36.7
BB	26.2	26.6	32.3	14.9	58.5	41.5

Keterangan : \*; Sampel B01, B02, B03, B04, B05, B09, B10 (Banteng F2), sampel SB02, SB03, SB04, SB05, SB08 (sapi Bali), BT (*Bos taurus*) MN200934, BI (*Bos indicus*) DQ887760, BJ (*Bos javanicus*) AB915322.1, dan BB (*Bubalus bubalis*) KX758327.1 diambil dari Genbank

Tabel 2 menunjukkan rata-rata komposisi basa nukleotida sampel penelitian Banteng (F2) dan sapi Bali tidak berbeda meskipun pada salah satu sampel baik Banteng (F2) dan sapi Bali cenderung berbeda. Komposisi basa nukleotida sampel penelitian hanya berbeda pada sampel Banteng (F2) 01 dan sapi Bali 05. Pada Banteng (F2) 01 komposisi basa nukleotida yang berbeda yaitu pada basa T (0,1%) dan basa C (0,2%) dari sampel penelitian yang lain. Sampel sapi Bali 05 komposisi basa nukleotida yang berbeda dari sampel lain yaitu pada basa T (0,1%), basa C (0,4%), basa A (0,4%), dan basa G (0,4%). Tabel 2 juga menunjukkan komposisi basa A+T lebih tinggi dari komposisi basa C+G baik pada sampel Banteng (F2) maupun pada sapi Bali.



Penelitian lain juga menunjukkan komposisi nukleotida A+T pada daerah mtDNA D-loop pada semua sapi yang diteliti yaitu sapi Bali, Madura, Pesisir, Aceh, dan Peranakan Ongole memiliki rataan yang lebih tinggi dibandingkan dengan rataan nukleotida G+C. Rataan nukleotida A+T dari paling tinggi hingga paling rendah berturut-turut yaitu Aceh 63,0%, Pesisir 62,3%, Madura dan PO masing-masing 61,8%, serta Bali 61,7%. Rataan nukleotida G+C dari paling tinggi hingga paling rendah berturut-turut yaitu Bali dan PO masing-masing 38,3%, Madura 38,2%, Pesisir 37,7%, dan Aceh 37,0% (Rahayu, 2012).

Keragaman frekuensi basa nukleotida tersebut dikarenakan mtDNA memiliki laju mutasi lima sampai sepuluh kali lebih cepat dari pada DNA inti dan pada daerah kontrol memiliki kecepatan evolusi 10-20 kali lebih cepat dibandingkan dengan daerah mtDNA lainnya (Randi, 2000). Komposisi basa nukleotida A+T memiliki frekuensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan komposisi G+C pada hasil penelitian ini, karena pada daerah D-loop merupakan daerah *noncoding*. Hal tersebut diduga menyebabkan daerah *noncoding* memiliki laju evolusi lebih tinggi.

Adanya perbedaan komposisi basa nukleotida pada salah satu sampel Banteng (F2) dan sapi Bali menggambarkan variasi genetik yang relatif kecil. Variasi yang dapat ditemukan pada runutan komposisi nukleotida menjadi parameter yang akurat untuk menggambarkan terjadinya variasi genetik (Jiyanto *et al.* 2014). Menurut Albert, *et al.* (1994) perbedaan urutan dan jumlah basa nukleotida pada setiap makhluk hidup akan menentukan performa makhluk hidup melalui pengaturan reaksi-reaksi kimia di dalam sel yang diatur oleh enzim (protein) yang diterjemahkan dari basa nukleotida pada komponen penyusun gen.

Sekecil apapun variasi genetik yang dimiliki oleh runutan basa nukleotida akan mempengaruhi performa makhluk hidup tersebut.

### Jarak Genetik mtDNA D-Loop

Kedekatan hubungan genetik sapi yaitu sapi Bali dan Banteng (F2) dengan sapi *B. indicus* dan *B. Taurus* dilihat dengan mengukur jarak genetik. Jarak genetik diukur dengan menggunakan analisis *Pairwise Distance Calculation* yang ditunjukkan dengan matriks perbedaan genetik antara sapi Bali dan Banteng (F2) dengan DNA pembanding yang diambil dari *GenBank*. Jarak genetik model ini digunakan untuk melihat tingkat substitusi transisi dan tranversi melalui banyaknya perbedaan nukleotida per pasangan (Abdullah, 2008). Sapi-sapi yang memiliki nilai jarak genetik semakin rendah, maka ternak tersebut memiliki hubungan kekerabatan semakin dekat. Sebaliknya ternak yang memiliki jarak genetik tinggi, maka hubungan kekerabatannya semakin jauh.

Secara keseluruhan sampel banteng (F2) dan sapi Bali memiliki jarak genetik yang relatif dekat. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jarak genetik Banteng (F2) dan sapi Bali dan DNA pembanding *Bos indicus*, *Bos taurus*, *Bos javanicus*, *Bubalus bubalis* dari *Genbank*

Sampel	B 01	B 02	SB 04	SB 05	BJ	BT	BI	BB
B 01								
B 02	0.002							
SB 04	0.002	0.000						
SB 05	0.011	0.009	0.009					
BJ	0.006	0.008	0.008	0.017				
BT	0.319	0.323	0.323	0.321	0.317			
BI	0.313	0.316	0.316	0.314	0.310	0.008		
BB	0.279	0.282	0.282	0.287	0.277	0.244	0.233	

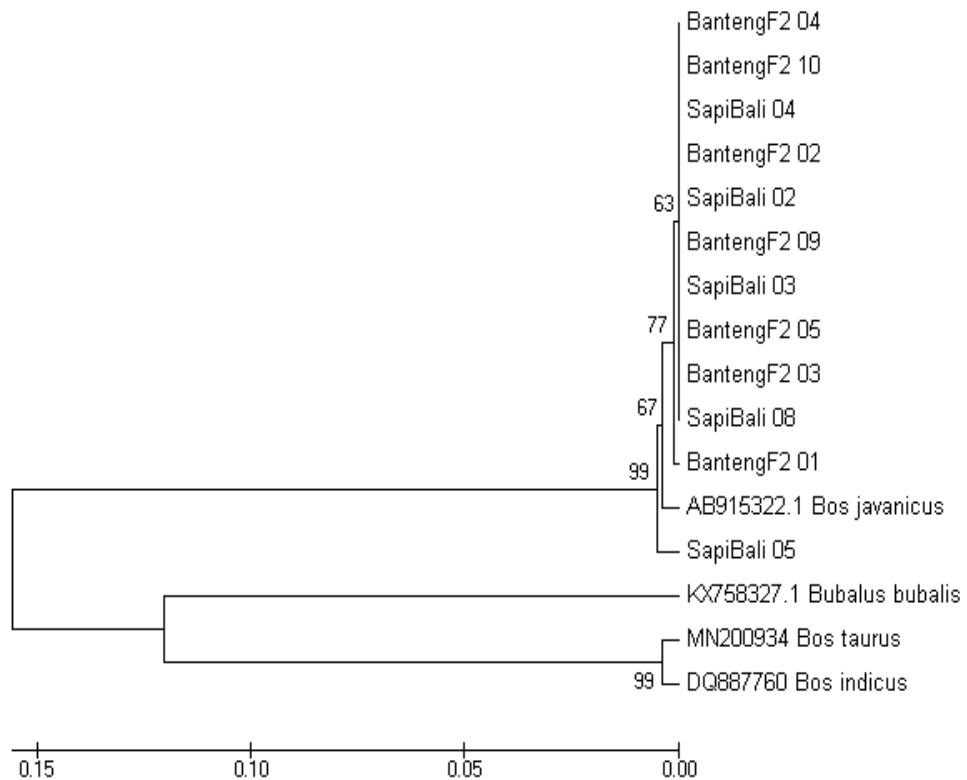
Keterangan : \*; Sampel B01, B02 (Banteng F2), sampel SB04, SB05 (sapi Bali), BT (*Bos taurus*) MN200934, BI (*Bos indicus*) DQ887760, BJ (*Bos javanicus*) AB915322.1, dan BB (*Bubalus bubalis*) KX758327.1 diambil dari *Genbank*

Nilai jarak genetik sampel Banteng (F2) dan sapi Bali cenderung relatif dekat yaitu berkisar antara 0,000 - 0,011. Sampel B 01 memiliki jarak genetik sebesar 0,002 dengan sampel B 02, sedangkan jarak genetik sampel B 01 dengan sampel SB 05 memiliki jarak genetik sebesar 0,011. Hal ini sejalan dengan pendapat Leary dan Booke (1990) bahwa jarak genetik berkisar antara 0-1. Jika jarak genetik sama dengan 0 maka dua populasi dikatakan memiliki hubungan genetik dekat. Sebaliknya, jika jarak genetik antara dua populasi sama dengan 1 maka populasi tersebut dikatakan tidak berhubungan genetik sama sekali.

### **Analisis Pohon Filogeni mtDNA D-Loop**

Pohon filogenetik atau pohon evolusi adalah pohon yang menunjukkan hubungan evolusi antara berbagai spesies yang diyakini memiliki nenek moyang yang sama diantara beberapa spesies. Pohon filogenetik dapat dilakukan dengan mengidentifikasi urutan nukleotida yang homolog pada mtDNA (Dawkin, 2000)

Sampel yang digunakan untuk membangun pohon filogeni yaitu 7 sampel Banteng (F2), 5 sampel sapi Bali dan pembanding *Bos indicus*, *Bos taurus*, *Bos javanicus*, dan *Bubalus bubalis* yang telah diidentifikasi serta dikoleksi dari *Genbank*. Pohon filogeni yang dibangun dari sampel sekuen Banteng (F2) dan sekuen sapi Bali serta sekuen pembanding yang di ambil dari *genbank* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Pohon Filogeni Banteng (F2) dan sapi Bali yang dibandingkan dengan *Bos indicus*, *Bos taurus*, *Bos javanicus*, *Bubalus bubalis* pada *Genbank* menggunakan UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average*) dengan *bootstrap* 1000×.

Pohon filogeni menunjukkan bahwa ada tiga klaster pada sampel penelitian. Klaster pertama terdiri dari Banteng (02,03,04,05,09,10) dan sapi Bali (02,03,04,08). Klaster kedua hanya terdiri Banteng (F2) 01, serta klaster ketiga hanya terdiri sampel sapi Bali 05.

Klaster pertama memiliki nilai bootstrap 63% yang artinya bahwa klaster pertama memiliki jarak kekerabatan yang dekat. klaster kedua memiliki nilai bootstrap 77% dan klaster ketiga 99% dimana kedua klaster ini memiliki perbedaan genetik yang relatif kecil dengan klaster pertama namun masih memiliki jarak kekerabatan yang dekat. Sekuen DNA pembanding *Bos javanicus* yang diperoleh dari *Genbank* juga menempati klaster yang berbeda dari sampel

Banteng(F2) serta sapi Bali meskipun berasal dari bangsa yang sama. Hal ini dikarenakan DNA sampel *Bos javanicus* yang dijadikan pembanding adalah *Bos javanicus lowi* (AB915322.1) adalah Banteng yang berasal dari Malaysia yang diteliti oleh Matsubayashi, *et al.* (2014), sehingga genetiknya berbeda dengan genetik sapi Bali yang ada di Sulawesi Selatan.

Hillis and Bull (1993) menyatakan, analisis bootstrap dengan nilai-nilai dari 70 % atau lebih tinggi mengindikasikan sebuah pengelompokan yang dapat dipercaya. Semakin tinggi nilai bootstrap maka tingkat jarak kekerabatan juga semakin jauh. Nilai bootstrap adalah patokan untuk menentukan tingkat akurasi pohon filogeni. Semakin tinggi nilai bootstrap berarti makin tinggi tingkat akurasi dari pohon filogeni. (Dharmayanti, 2011).

Dawkin (2000) menyatakan bahwa secara taksonomi hubungan kekerabatan (filogenetik) akan memisah ketika terjadi perbedaan atau perubahan dalam basa nukleotida, semakin banyak perbedaan tersebut maka hubungan kekerabatan akan semakin jauh.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **KESIMPULAN**

1. Komposisi nukleotida parsial mtDNA D-Loop Banteng (F2) dengan sapi Bali menunjukkan adanya variasi genetik yang relatif kecil.
2. Jarak genetik mtDNA D-Loop antara Banteng (F2) dengan sapi Bali berbeda namun masih relatif dekat dikarenakan Banteng adalah tetua dari sapi Bali.
3. Pohon filogeni menunjukkan 3 klaster yang memiliki jarak kekerabatan yang masih dekat.

### **SARAN**

Untuk pembuktian lebih lanjut tentang karakterisasi genetik mtDNA D-Loop antara Banteng (F2) dengan sapi Bali perlu pengujian kembali dengan koleksi sampel yang lebih banyak dari tempat lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M. A. N. 2008. Karakterisasi genetik sapi Aceh menggunakan analisis keragaman fenotipik, daerah *D-loop* DNA mitokondria dan DNA mikrosatelit. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Albert D, Bray, Lewis JM, Raff K, and Roberts JD. 1994. Biologi Molekuler Sel. Terjemahan: A.T. Kuntjoro. Edisi Kedua. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Baco S. 2001. Perbandingan Bobot Badan dan Beberapa Ukuran Dimensi Tubuh Sapi Bali Betina yang Dipelihara Secara Ekstensif pada Daerah Dataran Rendah dan Pegunungan di Kabupaten Bone. Laporan Penelitian Proyek DPP Universitas Hasanuddin
- Batan, I W. 2006. Sapi Bali dan Penyakitnya. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Denpasar.
- BBIB Singosari. Laporan Tahun 2015. Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari. Jawa Timur.
- Chen SY, Su YH, Wu SF, Sha T, and Zhang YP. 2005. Mitochondrial diversity and phylogeographic structure of Chinese domestic goats. *Mol Phylogen Evol* 37:804-814
- Dawkin, R. 2000. Mekanisme Evolusi. In: Campbell, N.A., J.B. Reece, & L.G. Mitchell. Biologi. Edisi ke-5. Jakarta. Terjemahan: Lestari, R., E.I.M. Adil, N. Anita, Andri, W.F. Wibowo, and W. Manalu. Erlangga.
- Dharmayanti, I.N.L.P. 2011. Filogenetika molekuler: metode taksonomi organisme berdasarkan sejarah evolusi. *Wartazoa*. 1(21):1-10.
- Freeland JR. 2005. *Molecular Ecology*. London: John Wiley and Sons, Ltd. pp.388
- Hillis, D.M. and Bull, J.J. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analyses. *Syst. Biol.* 42, 182–192.
- Hoong LL and Lex KC. 2005. Genetic polymorphisms in mitochondrial DNA hypervariable regions I, II and III of the Malaysian population. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology* 13(2): 79-85
- Jiyanto, Sutopo dan E. Kurnianto. 2014. The genetic diversity of kejobong goat based on cytochrome *b* gene. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric.* 39(2):75-82.

- Leary, R.F. dan H.E. Booke. 1990. Starch gel electrophoresis and spesies distinction. American Fisheries Society. Bethesda, Maryland, USA. pp. 141-170.
- Lewin B. 2000. Genes VII. Oxford: Oxford University Press.
- MacHugh DE, and Bradley DG. 2001. Livestock genetic origins: goat buck the trend. Proc Natl Acad Sci 98:5382-5384
- Mannen, H., R. Yonesaka., A. Noda., T. Shimogiri., I. Oshima., K. Katahira., M. Kanemaki., T. Kunieda., Y. Inayoshi., F. Mukai., and S. Sasazaki. 2017. Low mitochondrial DNA diversity of Japanese Polled and Kuchinosima feral cattle. Animal Science Journal. Japan. 739–744
- Matsubayashi, H., K. Hanzawa., T. Kono., T. Ishige., T. Gakuhari., P. Lagan., I. Sunjoto., J.R.A Sukor., W. Sinun., and A.H. Ahmad. 2014. First molecular dataon Bornean banteng *Bos javanicus lowi* (cetartiodactyla, Bovidae) from Sabah, Malaysian Borneo. Mammalia Journal. 78(4): 523-531.
- Muladno. 2006. Teknologi Rekayasa Genetik. Bogor: Pustaka Wirausaha Muda
- Nei and Kumar. 2000. Molecular evolution and phylogenetics. New York: Oxford University Press.
- Nowak RM. 1991. Walker's Mammals of the World (5th Edition), Baltimore: The Johns Hopkins University Press.
- Rahayu, S. 2012. Identifikasi Keragaman D-Loop DNA Mitokondria pada Sapi Potong di Indonesia. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Randi, E. 2000. Mithochondrial DNA Molecular Methods in Ecology. Oxford: Black Well Science.
- Ruokonen M. 2001. Phylogeography and conservation genetics of the lesser white-fronted goose (*Anser erythropus*). (Dissertation). Department of Biology University of Oulu. Finland.
- Susilawati, T. 2017. Sapi Lokal Indonesia. Malang: UB Press.
- Wandia IN. 2001. Genom Mitokondria. J Vet. 2(4) :131-137.
- Weissensteiner, T. 2004. Optimizing PCR with the Aid of Experimental Design. In: Weissensteiner, T., H. G. Griffin, and A. Griffin (Eds.). PCR Technology Current Inovations. Second edition. London: CRC Press.



- Wilson DE, and Reeder DM. 1993. *Mammal Species of the World* (2nd Ed). Washington: Smithsonian Institution Press.
- Williamson, G. and W. J. A. Payne. 1993. *Pengantar Peternakan di Daerah Tropis*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- WWF-Indonesia. 2002. *Analisa kompetisi badak dan banteng*. (Laporan Kegiatan WWF-Indonesia). Balai Taman Nasional Ujung Kulon.
- Yahya, M. 2001. *Population study on javan rhinoceros using camera trap in Ujung Kulon National Park*. (Report Activity of WWF Indonesia). Directorate General of Forest Protection and Nature Conservation and Ujung Kulon National Park Authority.

# LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. UJI CHI SQUARE BANTENG (F2) dan SAPI BALI

**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
ADENIN TIMIN * ADENIN TIMIN	5	71.4%	2	28.6%	7	100.0%

**ADENIN TIMIN \* ADENIN TIMIN Crosstabulation**

Count

		BANTENG		Total
		61,4	61,5	
SAPI BALI	61,5	1	3	4
	61,8	0	1	1
Total		1	4	5

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.312 <sup>a</sup>	1	.576		
Continuity Correction <sup>b</sup>	.000	1	1.000		
Likelihood Ratio	.505	1	.477		
Fisher's Exact Test				1.000	.800
Linear-by-Linear Association	.250	1	.617		
N of Valid Cases <sup>b</sup>	5				

a. 4 cells (100.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .20.

b. Computed only for a 2x2 table

**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
CITOSIN GUANIN *	5	71.4%	2	28.6%	7	100.0%
CITOSIN GUANIN						

**CITOSIN GUANIN \* CITOSIN GUANIN Crosstabulation**

Count

		BANTENG		Total
		38,6	38,5	
<b>SAPI BALI</b>	38,5	1	3	4
	38,3	0	1	1
<b>Total</b>		1	4	5

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.312 <sup>a</sup>	1	.576		
Continuity Correction <sup>b</sup>	.000	1	1.000		
Likelihood Ratio	.505	1	.477		
Fisher's Exact Test				1.000	.800
Linear-by-Linear Association	.250	1	.617		
N of Valid Cases <sup>b</sup>	5				

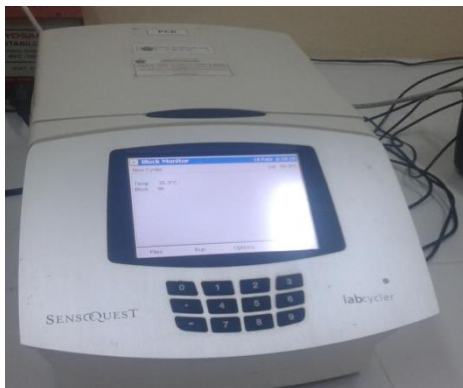
a. 4 cells (100.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .20.

b. Computed only for a 2x2 table

## LAMPIRAN 2 DOKUMENTASI



Sampel darah



Mesin PCR



Peralatan untuk Ekstraksi DNA



Peralatan Elektroforesis



Gel Dokumentasi



## RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Muhammad idham atau sering dipanggil idham. Lahir di pangkajenne sidrap 21 maret 1997, beragama Islam dan beralamatkan di Bumi Tamalanrea Permai, Makassar. Asal daerah dari kabupaten Soppeng. Penulis merupakan putra ketiga dari tiga bersaudara dari pasangan ayah H. M. Yakub dan ibu Hj.Hasni. Penulis memulai pendidikan pada tingkat Sekolah Dasar (SD) di SDN 52 WELONGE pada tahun 2003-2009. Kemudian melanjutkan pendidikan di tingkat sekolah menengah pertama (SMP) di SMPN 5 MARIORIAWA pada tahun 2009-2012 dan melanjutkan pendidikan di tingkat sekolah menengah akhir (SMA) di SMAN 1 MARIORIAWA pada tahun 2012-2015. Penulis kemudian melanjutkan pendidikannya pada tahun 2015 sebagai salah satu mahasiswa di Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Pada tanggal 20 Januari 2020, penulis kemudian dapat menyelesaikan studi S1 dan meraih gelar sarjananya di Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.