

ANALISIS KEMIRIPAN GENETIKA ANTARA KAMBING PERANAKAN ETTAWA HASIL KAWIN ALAM DENGAN INSEMINASI BUATAN BERDASARKAN RAPD

Analysis of Genetic Similarity between PE Goats Derived from Natural Service and Artificial Insemination by RAPD-DNA

Mudawamah¹, I.D. Retnaningtyas², M.F. Wajdi², Badriyah², S. Susilowati², Aulanni'am³, dan Gatot Ciptadi⁴

¹Laboratorium Molekuler Halal Center, Universitas Islam Malang, Malang

²Fakultas Peternakan Universitas Islam Malang

³Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang

⁴Laboratorium Pemuliaan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang

E-mail: mudawamah@gmail.com

ABSTRAK

Analisis genetika menggunakan *random amplified polymorphic DNA* (RAPD) untuk mengetahui kemiripan genetika antara kambing peranakan Ettawa (PE) hasil inseminasi buatan (IB) dan kawin alam (KA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 20 primer OPA hanya 10 primer yang bisa digunakan untuk mengamplifikasi fragmen *deoxyribonucleic acid* (DNA) dalam kelompok kambing PE, yang terdiri atas 21 kambing hasil KA dan 19 kambing hasil IB. Berdasarkan profil DNA yang diperoleh dan hasil analisis dengan *software numerical taxonomy and multivariate analysis system* (NTSYS) disimpulkan bahwa hubungan genetika antara kambing PE hasil kawin alam dengan inseminasi buatan adalah sebesar 48% dan dikategorikan rendah.

Kata kunci: kambing, PE, RAPD, kemiripan genetika

ABSTRACT

Genetic analysis by RAPD was used to determine the genetic relationship PE goats between progeny derived from natural mating and artificial insemination. The 20 primers of OPA were used in this research, but only ten primers could amplify DNA fragments of PE goat group which consist of 21 goats derived from natural mating and 19 goats from artificial insemination. Based on the DNA profile obtained and the results of the analysis with NTSYS software conclude that genetic relationship between natural mating goats and artificial insemination goats is about 48% and it is categorized as low.

Key words: goat, PE, RAPD, genetic similarity

PENDAHULUAN

Kambing peranakan Ettawa (PE) sebagai salah satu kambing lokal Indonesia memiliki keunggulan adaptasi yang tinggi terhadap kondisi lokal yang bisa dikembangkan sebagai kambing potong dan perah. Salah satu sentra kambing PE adalah di Kabupaten Malang dengan populasi tahun 2009 adalah 137.435 ekor (Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan, 2010). Dari hasil penelitian Badriyah (2011) menunjukkan bahwa sifat *litter size* dan berat lahir kambing PE hasil inseminasi buatan (IB) nyata lebih tinggi daripada kawin alam tetapi pada sifat berat lahir, *kidding interval*, dan *days open* tidak berbeda antara kambing PE hasil IB dan kawin alam. Variasi potensi kambing PE tersebut belum bisa dijelaskan secara ilmiah karena belum diperkuat dengan penelitian molekuler variasi DNA.

Salah satu metode analisis DNA adalah dengan *random amplified polymorphic DNA* (RAPD). Keuntungan RAPD dibandingkan dengan metode DNA lainnya adalah cepat, murah, dapat digunakan untuk sampel DNA yang terbatas, cocok untuk digunakan banyak genom (Fard *et al.*, 2012) dan mendeteksi pada berbagai urutan (Chikkaswamy *et al.*, 2013; Prasad dan Sethi, 2013). Tetapi ada beberapa keterbatasan pada

RAPD yaitu sensitivitas fragmen pada perubahan kondisi yang kecil atau ada peluang tidak bisa dilakukan amplifikasi. Untuk menghindari keterbatasan tersebut, perlu dilakukan penelitian pendahuluan untuk memastikan reaksi yang terjadi dan memilih marker yang dapat bekerja dengan baik (Fahmi dan Al-Otaibi, 2011).

Analisis RAPD dapat digunakan secara luas untuk mendeteksi polimorfisme DNA, untuk menghasilkan marker molekuler yang digunakan pada berbagai aplikasi yang berbeda (Bagali *et al.*, 2010; Jain *et al.*, 2010; Kumar dan Gurusubramanian, 2011) dan untuk menganalisis variasi genetika di dalam dan di antara populasi tanaman (Kant *et al.*, 2006; Azimi *et al.*, 2012). Analisis RAPD digunakan untuk mendeteksi kesamaan atau kemiripan genetika di antara individu (Bhattacharya *et al.*, 2003), untuk mengungkap polimorfisme berbagai hewan (Arslan *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2003). Di samping itu, teknik ini dapat digunakan untuk mengungkap variasi genetika dalam spesies dengan variasi genetika yang rendah (Costa *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006). Oleh karena itu penting dilakukan analisis RAPD pada kambing PE hasil IB dan kawin alam untuk melihat kemiripan genetika antara keduanya yang sama-sama merupakan sumber gen kambing asli Indonesia sebagai landasan penentuan

kebijakan program pemuliaan dalam jangka pendek, menengah dan panjang dari kambing PE yang merupakan ternak unggul di Indonesia khususnya di Jawa Timur.

MATERI DAN METODE

Sampel yang diambil telah diketahui estimasi pedigrenya dan berasal kelompok ternak sehat dan tidak mengalami gangguan reproduksi. Pengambilan sampel secara *purposive sampling* dengan penentuan sampel menggunakan presisi 20% dari populasi. Sampel yang digunakan sebanyak 21 ekor kambing PE hasil kawin alam dan 19 kambing PE hasil IB. Pengambilan darah sampel sebanyak 3-5 ml tiap ekor ternak. Ekstraksi DNA meliputi isolasi sel darah putih dan isolasi DNA dari sel darah putih, amplifikasi RAPD, visualisasi fragmen dengan elektroforesis.

Amplifikasi menggunakan *master cycler gradient* dengan program sebagai berikut: predenaturasi pada suhu 95° C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 95° C selama 45 detik, *annealing* pada suhu 36° C selama 45 detik, ekstensi pada suhu 72° C selama satu menit, pasca ekstensi pada suhu 72° C selama 10 menit. Sampel diamplifikasi dengan 35 siklus. Produk RAPD dielektroforesis dalam agarosa 1%. Hanya pita berbeda dan jelas yang diberi skor untuk estimasi berbagai variabel. Kehadiran dan tidak adanya pita diberi skor 1 dan 0. Variasi genetika antara individu dari kelompok yang sama atau berbeda dihitung dengan menggunakan *software* NTSYS versi 2.0 melalui pengamatan kemiripan dan dendogram. Primer yang dapat digunakan dalam penelitian ini adalah 10 primer yang mampu menghasilkan fragmen DNA lebih dari tiga jenis pita yang berbeda seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Urutan primer dan suhu *annealing* yang digunakan pada analisis *random amplified polymorphic DNA* (RAPD)

No.	Primer	Urutan	Annealing temperatur (° C)
1	OPA4	AATCGGGCTG	36
2	OPA6	GGTCCCTGAC	36
3	OPA7	GAAACGGGTG	36
4	OPA8	GTGACGTAGG	36
5	OPA9	GGGTAACGCC	36
6	OPA10	GTGATCGCAG	36
7	OPA15	TTCCGAACCC	36
8	OPA16	AGCCAGCGAA	36
9	OPA17	GACCGCTTGT	36
10	OPA19	CAAACGTCCG	36

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Konstruksi Penanda Molekuler Berdasarkan Analisis RAPD

Pada penelitian ini, hanya 10 dari 20 primer (OPA-1 sampai OPA-20) yang menunjukkan keberhasilan dengan hanya OPA-4, OPA-6, OPA-7, OPA-8, OPA-9, OPA-10, OPA-15, OPA-16, OPA-17, OPA-19

ditandai dengan fragmen DNA. Berdasarkan pendapat Kumar *et al.* (2008), El-Bayomi *et al.* (2013), dan Ahmed *et al.* (2007), beberapa penanda molekuler untuk analisis RAPD adalah primer OPA, OPB, OPC, OPE, OPF, OPO, OPX. Pada penelitian domba lokal dan hasil *crossbreeding* yang berasal dari India dengan primer RAPD yang sama yang mampu menghasilkan polimorfisme yang berbeda dengan menggunakan OPA-6, OPA-7, OPA-10, OPA-12, OPA-15, OPA-16, OPA-17, OPA-18, OPA-19 dan OPA-20 (Kumar *et al.*, 2008; Sharma dan Dass, 2013).

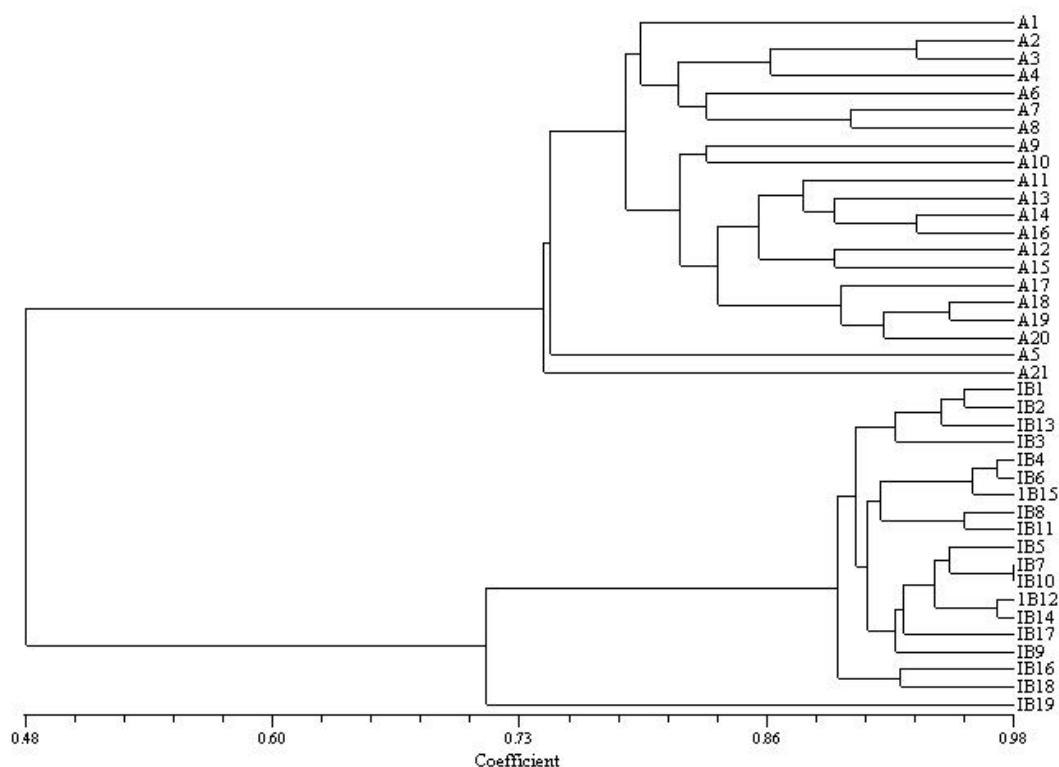
Dendogram Hasil RAPD antara Kambing Hasil Kawin Alam dan IB

Dendogram hasil RAPD pada kambing PE hasil kawin alam dan IB dengan menggunakan primer OPA-4, OPA-6, OPA-7, OPA-8, OPA-9, OPA-10, OPA-15, OPA-16, OPA-17, OPA-19 telah berhasil dilakukan dan disajikan pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan nilai kesamaan genetika antar individu kambing hasil kawin alam adalah 74%. Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan nilai kemiripan antar individu kambing hasil IB adalah 71%. Hal ini disebabkan terbatasnya ketersediaan pejantan kawin alam dan hanya mengandalkan pejantan di desa masing-masing atau wilayah di sekitar Jawa Timur. Kambing hasil IB, sumber pejuantannya berupa semen beku yang diproduksi oleh Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari yang diperoleh dari berbagai wilayah Indonesia. Di samping itu, variasi pejantan pada kambing hasil kawin alam relatif rendah dibandingkan dengan IB. Pergantian pejantan pada kelompok kawin alam digunakan selama 4 tahun pada kelompok induk yang sama dengan tetap menghindari perkawinan antar saudara sedangkan pada kawin suntik, setiap perkawinan bisa menggunakan *straw* dengan kode pejantan yang berbeda atau sama setiap perkawinan disesuaikan dengan permintaan peternak dan ketersediaan *straw* yang ada.

Nilai kesamaan genetika antara kelompok kambing hasil kawin alam dibandingkan dengan hasil IB adalah 48%. Ini menunjukkan bahwa kesamaan genetika antara kambing hasil kawin alam dan hasil IB rendah. Rendahnya kesamaan genetika ini disebabkan asal usul dan cara seleksi pejantan berbeda. Pejantan dari kambing hasil kawin alam seleksi berdasarkan penampilan luar saja khususnya postur tubuh, dan tidak berdasarkan catatan produksi. Pejantan hasil IB merupakan ternak hasil seleksi baik penampilan luar maupun catatan produksi terutama penambahan bobot badannya.

Kesamaan genetika antar individu atau kelompok atau bangsa ternak mempunyai korelasi positif dengan hubungan genetika yang dapat digambarkan melalui dendogram dengan menggunakan RAPD. Metode ini telah banyak dilakukan pada ternak kambing dan domba (Oliviera *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2008; Yadav dan Yadav, 2008; Gaali dan Satti, 2009; Sabir *et al.*, 2012; Sharma dan Dass, 2013).



Gambar 1. Dendrogram hasil RAPD dengan *software* NTSYS pada kambing hasil kawin alam (nomor sampel A1- A21) dan hasil IB (nomor sampel IB1-IB19)

KESIMPULAN

Kemiripan genetika antara kelompok kambing PE hasil kawin alam dibandingkan dengan kelompok kambing PE hasil IB adalah sekitar 48% dan dikategorikan rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ditlitabmas Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional Kemdiknas Republik Indonesia yang telah membiayai kegiatan penelitian ini melalui Hibah Pekerti dengan surat perjanjian No. 0032/SP2H/PP/K7/II/2012 tanggal 9 Pebruari 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Arslan, A., I. Ilhak, M. Calicioglu, and M. Karahan. 2005. Identification of meats using random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. *J. Muscle Foods*. 16:37-45.
- Azimi, M.H., S.V. Sadeghian, A.V. Razavi, F. Khazaei, and A.H. Fathi. 2012. Genetic variation of Iranian Iris species using morphological characteristic and RAPD marker. *Int. J. Agrisci*. 2(9):875-889.
- Badriyah. 2011. Perbedaan Produktivitas Kambing Peranakan Etawah (PE) antara Perkawinan Alam dan Inseminasi Buatan (IB) di Ampel Gading Kabupaten Malang. *Tesis*. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Bagali, P.G., P.D.A.H. Prabhu, K. Raghavendra, P.G. Bagali, S. Hittalmani, and J.S. Vadivelu. 2010. Application of molecular markers in plant tissue culture. *AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol*. 18(1):85-87.
- Battacharya T.K., P. Kumar, J.D. Joshi, and S. Kumar. 2003. Estimation of Inbreeding in cattle using RAPD markers. *J. Dairy Research*. 70:127-129.
- Chikkaswamy, B.K., M.P. Prasad, and K.S. Chandrashekaralah. 2013. Detection of genetic diversity in *Ocimum* species using RAPD markers. *Int. J. Res. Phram. Sci*. 4(1):58-64.
- Costa, D.R.F., T.N.S. Pereira, A.P. Vitoria, K.P.D. Campos, R. Rodrigues, D.H.D. Silva, and M.G. Pereira. 2006. Genetic diversity among *Capsicum* accessions using RAPD markers. *Brazilian Soc. Plan Breed*. 6:18-23.
- Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2010. **Laporan Populasi Ternak Kambing di Kabupaten Malang Tahun 2009**. Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Kabupaten Malang, Malang.
- El-Bayomi, K.M., A. Awad, and A.A. Saleh. 2013. Genetic diversity and phylogenetic relationship among some rabbit breeds using random amplified polymorphic DNA markers. *Life Sci. J*. 10(1):1149-1457.
- Fahmi, A.L. and Al-Otaibi, S.A. 2011. Genetic variation in captive herd of Arabian Oryx using RAPD and ISSR markers. *African J. Biotechnol*. 10(270):5251-5262.
- Fard, J.R., Z. Zamani, M.R.F. Moghaddam, and M. Kafi. 2012. Evaluation of genetic diversity among some genotypes of Kentucky bluegrass by RAPD molecular markers. *Horticult. Environment Biotechnol*. 53(4):298-303.
- Gaali, E.E. and M. Satti. 2009. Genetic characterization of two Sudanese goat breeds (*Capra hircus*) using RAPD molecular markers. *African J. Biotechnol*. 8(10):2083-2087.
- Huang M.C., Y.M. Hornig, H.L. Huang, Y.L. Sin, and M.J. Chen. 2003. RAPD Fingerprinting for species identification of Animals. *Asian-Aust. J. Anim. Sci*. 16(10):1406-1410.
- Jain, S.K., B. Neckhra, D. Pandey, and K. Jain. 2010. RAPD marker system in insect study: A review. *Indian J. Biotechnol*. 9:7-12.
- Kant A., D. Pattanayak, S.K. Chakrabarti, R. Sharma, M. Thakur, and D.R. Sharma. 2006. RAPD analysis of genetic variability in *Pinus gerardiana* Wall. in Kinnaur (Himachal Pradesh). *Indian J. Biotechnol*. 5:62-67.
- Kumar S., A.P. Kolte, B.R. Yodaf, S. Kumar, P.L. Arora, and V.K. Singh. 2008. Genetic variability among sheep breeds by random amplified polymorphic DNA-PCR. *Indian J. Biotechnol*. 7:482-486.
- Kumar, S.N. and G. Gurusubramanian. 2011. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its application. *Sci. Vision*. 11(3):116-124.

- Oliveira, R R.de, A.A. do Egito, M. N. Ribeiro, S.R. Paiva, M. do S.M. Albuquerque, S.R. Castro, A. da S. Mariante, and E.M. Adrião. 2005. Genetic characterization of the Moxotó goat breed using RAPD markers. **Pesq. Agropec. Brasília.** 40(3):233-239.
- Prasad, M.P. and R. Sethi. 2013. Studies on detection of genetic variation of commercially cultivated Mushroom spesiec using RAPD markers. **Int. J. Res. Pharm. Sci.** 42(1):165-170.
- Sabir, J.S.M., M.H.Z. Mutawakil, A.A. El-Hanafi, and M.M. Ahmed. 2012. Genetic similarity among four breeds of goat in Saudi Arabia detected by random amplified polymorphic DNA marker. **African J. Biotechnol.** 11(170):3958-3963.
- Sharma, B. and G. Dass. 2013. Detection of genetic similarity in muzaffarnagari sheep using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. **Asian J. Exp. Biol. Sci.** 4(1):137-141.
- Wang J.L., Y.B. Gao, N.X. Zhao, A.Z. Ren, W.B. Ruan, L. Chen, J.L. Liu, and C.L. Li. 2006. **Botanical Studies.** 47:23-35.
- Yadav, A., and B.R. Yadav. 2008. DNA Fingerprint: Genetic relationship in six Indian Goat Breeds. **Indian J. Biotechnol.** 7:487-400.