

# Karakterisasi Molekuler Enam Subpopulasi Kambing Lokal Indonesia berdasarkan Analisis Sekuen Daerah D-loop DNA Mitokondria

ARON BATUBARA<sup>1,2</sup>, R.R. NOOR<sup>1</sup>, A. FARAJALLAH<sup>3</sup>, B. TIESNAMURTI<sup>4</sup> dan M. DOLOSARIBU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Sekolah Pascasarjana, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>2</sup>Loka Penelitian Kambing Potong, Sei Putih, Galang 20585, Sumatera Utara

<sup>3</sup>Departemen Biologi, Sekolah Pascasarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>4</sup>Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Bogor

(Diterima Dewan Redaksi 12 Februari 2011)

## ABSTRACT

BATUBARA, A., R.R. NOOR, A. FARAJALLAH, B. TIESNAMURTI and M. DOLOSARIBU. 2011. Molecular characterization of six sub population Indonesian local goats based on mitochondrial DNA D-loop. *JITV* 16(1): 49-60.

Indonesian local goats were spread in some region, but there was still limited data's known about the characteristics of its genetic diversity and origin. The Mitochondrial DNA D-loop sequences were used to study the genetic diversity and relationships of six sub population Indonesian local goats, namely, Kacang, Marica, Samosir, Jawarandu, Muara and Bengali goats. From 539 blood samples and DNA extraction collections were selected about 60 samples (10 samples each sub populations) analyzed by PCR-RFLP methods, followed sequence analyzed about 5 PCR products each sub population. The results of the sequence analyses were edited and acquired about 957 bp of nucleotides length. After the alignment analyses were found 50 polymorphic sites which divided into 19 haplotype groups of mtDNA D-loop region. The value of nucleotide diversity was  $0.014 \pm 0.002$ . Analysis of Neighbour Joining with Kimura 2 Parameter methods and bootstrap test with 1000 replication indicated that each sub population groups was significantly different between one groups to the others. The maternal lineages origin of six breeds of Indonesian local goats was included to the group of lineage B. The Lineage B was the maternal origin of the haplogroup of goats in the region of East Asia, South Asia, China, Mongolia, North and South Africa, Malaysia, Indonesia, Pakistan and India.

**Key words:** Genetic Diversity, mtDNA D-loop, Haplotypes, Local Goats

## ABSTRAK

BATUBARA, A., R.R. NOOR, A. FARAJALLAH, B. TIESNAMURTI dan M. DOLOSARIBU. 2011. Karakterisasi molekuler enam sub populasi kambing lokal Indonesia berdasarkan analisis sekuen daerah D-loop DNA mitokondria. *JITV* 16(1): 49-60.

Kambing lokal Indonesia tersebar di berbagai wilayah, tetapi masih belum banyak diketahui data karakteristik keragaman genetik dan asal usulnya. Sekuen nukleotida dari ruas genom D-loop mtDNA mitokondria digunakan untuk mempelajari keragaman dan hubungan genetik 6 kambing lokal Indonesia. Kambing lokal yang diamati adalah kambing Kacang, Marica, Samosir, Jawarandu, Muara dan Benggala. Dari 539 sampel darah dan ekstraksi DNA koleksi, dipilih 60 hasil ekstraksi DNA (masing-masing 10 sampel DNA per subpopulasi) telah analisis dengan metode PCR-RFLP, kemudian dilanjutkan analisis sekuensing masing-masing 5 produk PCR per subpopulasi. Dari hasil analisis sekuensing setiap situs diedit dan diperoleh nukleotida sepanjang 957 bp, kemudian setelah disejajarkan terdapat 50 situs polimorfik pada ruas D-loop mtDNA yang terbagai atas 19 kelompok haplotipe. Nilai keragaman nukleotida adalah  $0,014 \pm 0,002$ . Berdasarkan analisis Neighbour Joining dengan metode 2 parameter Kimura dan uji bootstrap 1000 ulangan menunjukkan bahwa antara setiap kelompok subpopulasi kambing terpisah dengan subpopulasi lainnya. Asal-usul keenam kambing lokal Indonesia yang diteliti termasuk dalam kelompok garis keturunan (*lineage*) B. *Lineage* B adalah nenek moyang secara maternal dari *haplogroup* kambing di daerah Asia Timur, Afrika Selatan dan Afrika Utara, Asia Selatan, Cina, Mongolia, Malaysia, Indonesia, Pakistan dan India.

**Kata Kunci:** Keragaman Genetik, D-loop mtDNA, Haplotipe, Kambing Lokal

## PENDAHULUAN

Kambing (*Capra hircus*) merupakan salah satu jenis ternak yang pertama dibudidayakan oleh manusia untuk keperluan sumber daging, susu, kulit dan bulu (CHEN *et al.*, 2005; JOSHI *et al.*, 2004). Bukti arkeologi menemukan bahwa kambing merupakan hewan yang

pertama didomestikasi di kawasan Asia Barat sekitar 10.000 tahun lalu (ZEDER and HESSE, 2000).

Analisis DNA mitokondria (mtDNA) merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk mempelajari asal-usul ternak domestikasi (MACHUGH dan BRADLEY, 2001). Pada mamalia DNA mitokondria hanya diturunkan lewat jalur induk

(maternal) tanpa rekombinasi. Sekuen mitokondria telah digunakan untuk mempelajari asal-usul sapi (TROY *et al.*, 2001), babi (GIUFFRÀ *et al.*, 2000), domba (HIENDLEDER *et al.*, 2002), kuda (VILLA *et al.*, 2001), anjing (SAVOLAINEN *et al.*, 2002), keledai (BEJA-PREIRA *et al.*, 2004) dan kambing (JOSHI *et al.*, 2001; LUIKART *et al.*, 2001; MANNEN *et al.*, 2001; SULTANA *et al.*, 2003; CHEN *et al.*, 2005; NADERI *et al.*, 2007; ROYO *et al.*, 2009; ZHAO *et al.*, 2011).

Kambing domestik dapat dikelompokkan menjadi 4 garis kelompok keturunan utama atau *Lineage* (JOSHI *et al.*, 2004). *Lineage A* merupakan kelompok kambing domestikasi yang paling beragam dan luas penyebarannya di seluruh dunia. *Lineage B* menyebar di daerah Asia Timur dan Asia Selatan termasuk Cina, Mongolia, Afrika Selatan, Afrika Utara, Laos, Malaysia, Pakistan dan India. *Lineage C* meyebar di sekitar Mongolia, Swiss, Slovenia, Pakistan dan India. *Lineage D* di daerah Pakistan dan kambing lokal di India. Selain itu NADERI *et al.* (2007) mengelompokkan kambing menjadi enam *haplogroups* yaitu menambahkan *haplogroups* F dan G dengan 4 *haplogroups* yang dilaporkan oleh JOSHI *et al.* (2004). *Lineage F* menyebar di daerah Sicilia dan *lineage G* menyebar di daerah Timur Tengah dan Afrika Utara. Kombinasi hasil penelitian ini dengan temuan arkeologi menunjukkan bahwa kambing domestikasi mempunyai asal usul beberapa garis keturunan ibu (maternal origins) (ZEEDER dan HESSE, 2000). Dengan penambahan sampel terutama di daerah yang mungkin merupakan asal garis keturunan mtDNA akan mendukung pemahaman kambing lokal lainnya di berbagai wilayah (MCHUGH dan BRADLEY, 2001; CHEN *et al.*, 2005).

Ternak kambing sebagai salah satu kekayaan sumberdaya genetik di Indonesia belum banyak diketahui. Menurut SUBANDRYO (2004) ada dua rumpun kambing yang dominan di Indonesia yakni kambing Kacang dan kambing Etawah. Kambing Kacang berukuran kecil sudah ada di Indonesia sejak tahun 1900-an dan kambing Etawah tubuhnya lebih besar, masuk ke Indonesia di masa peradaban Hindu dan Islam. Beberapa jenis kambing didatangkan ke Indonesia pada jaman pemerintahan Hindia Belanda, Portugis dan sesudah Indonesia merdeka. Namun demikian, jika diamati karakteristik kambing lokal yang ada di berbagai daerah wilayah Nusantara sudah menunjukkan keragaman genetik yang cukup signifikan. Dengan bertambahnya bangsa kambing maka lama kelamaan terjadi proses adaptasi terhadap agroekosistem yang spesifik sesuai dengan lingkungan dan manajemen pemeliharaan yang bervariasi membuat kemungkinan muncul jenis ras atau genotipe kambing lokal baru.

Balai Penelitian Ternak, Ciawi telah memulai mengkarakterisasi kambing Kacang, Peranakan Etawah,

Kosta (tahun 1995) dan Gembrong pada tahun 1997 (SETIADI *et al.*, 1995; 1998; 1999). Diperkirakan masih banyak lagi bangsa kambing lokal Indonesia yang belum dikarakterisasi dan sebagian mungkin sudah langka atau populasinya sudah terbatas, sementara belum sempat dieksplorasi karakteristik, potensi dan keragaman genetiknya dapat dimanfaatkan sebagai sumber peningkatan mutu genetik kambing di Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari keragaman genetik daerah D-loop DNA Mitokondria pada 6 subpopulasi kambing lokal Indonesia untuk mengetahui asal usul menurut garis keturunan maternal.

## MATERI DAN METODE

### Sampel darah kambing penelitian

Sampel darah dari 539 ekor kambing terdiri dari: kambing Kacang 213 ekor dari Kabupaten Deli Serdang, kambing Muara 30 ekor dari Kabupaten Tapanuli Utara, kambing Samosir 42 ekor dari Kabupaten Samosir, Propinsi Sumatera Utara; kambing Marica 60 ekor dari Kabupaten Maros, Kota Makassar, Kabupaten Jeneponto, Propinsi Sulawesi Selatan; kambing Jawarandu 94 ekor dari Kabupaten Blora-Propinsi Jawa Tengah; dan kambing Benggala 96 ekor dari Kabupaten Kupang, Kota Kupang, Kabupaten Sikka, Kabupaten Ende, Propinsi Nusa Tenggara Barat. Sampel darah diawetkan dalam alkohol *absolute* dan disimpan di Laboratorium Molekuler Departemen Biologi, FMIPA Institut Pertanian Bogor.

### Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan memodifikasi metode SAMBROOK *et al.* (1989) menggunakan *buffer* lisis sel (350 µl 1xSTE, dan 40 µl 10% SDS) dan 20 µl proteinase-K. DNA dimurnikan dengan metode fenol-kloroform, yaitu dengan menambahkan 40 µl 5 M NaCl dan 400 µl fenol dan kloroform iso amil alkohol (CIAA). DNA diendapkan dengan 40 µl 5 M NaCl dan 800 µl etanol *absolute*. Endapan dicuci dengan menambahkan 400 µl, 70% etanol kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1200 rpm selama 5 menit. Selanjutnya etanol dibuang dan diuapkan dengan menggunakan pompa vakum. DNA kemudian dilarutkan dengan 80 µl 80% *buffer* TE.

### Amplifikasi mtDNA

Dari 539 sampel DNA yang telah diekstraksi dipilih sebanyak 60 ekor yang masing-masing 10 sampel DNA per subpopulasi dilanjutkan analisis PCR-RFLP untuk proses amplifikasi. Amplifikasi genom mitokondria

menggunakan primer AF22 (*forward*) 5'GCGTACG CAAT CTTACGATCA-3' dan AF23 (*reverse*) 5'ATGCAGTTAAGTCCAGCTAC-3'. Primer AF22 menempel pada basa ke 14979 dan AF23 menempel pada basa ke 16098 dari mtDNA *Capra hircus* (no akses GenBank AF533441). Pasangan primer AF22 dan AF23 mengapit ruas tengah hingga akhir Cyt b, tRNA Pro, tRNA Thr dan juga bagian awal hingga tengah daerah D-loop.

Komposisi reaksi PCR dalam volume 25 µl adalah sampel DNA 2 µl (10-100 ng), RBC Bioscience taq polymerase 1,25 unit beserta sistim buffernya, dNTP 0,4 nmol, MgCl<sub>2</sub> 0,2 mM, primer AF22 dan AF23 masing-masing 1 nmol.

Kondisi PCR yang digunakan untuk proses amplifikasi adalah tahap denaturasi awal pada suhu 94°C selama 3 menit, tahap denaturasi pada suhu 94°C selama 45 detik, tahap penempelan primer (*annealing*) pada suhu 58°C selama 30 detik, dan tahap polimerasi (*extension*) pada suhu 72°C selama 1 menit yang diulang selama 30 siklus, kemudian reaksi PCR diakhiri dengan polimerasi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Visualisasi produk PCR dilakukan menggunakan teknik elektroforesis gel poliakrilamid (PAGE) 6% dalam *buffer* 1xTBE (Tris-HCl 10 Mm, asam borat 1 M, EDTA 0,1 mM). Elektroforesis dijalankan pada kondisi 200 mV selama 50 menit. Proses dilanjutkan dengan pewarnaan sensitif perak (TEGELSTROM, 1986) dengan sedikit modifikasi.

### Perunutan DNA

Produk amplifikasi yang menunjukkan pita tunggal yang masing-masing 5 sampel produk PCR dimurnikan dan dijadikan cetakan dalam reaksi PCR untuk perunutan nukleotida. Primer yang digunakan dalam proses PCR sama dengan primer yang digunakan untuk amplifikasi. Reaksi PCR dilakukan dengan menggunakan metode *Dideoxi Terminator* dengan dNTP berlabel (*big dye terminator*). Perunutan nukleotida menggunakan mesin *ABI Prism 3700-Avant Genetic Analyzer*.

### Analisis data

Runutan nukleotida yang diperoleh kemudian diedit dengan menggunakan program Bio Edit versi 6.0.7. Urutan DNA yang telah diedit disejajarkan dengan beberapa runutan DNA dari kelompok *Capra hircus* yang dipublikasikan dalam GenBank (<http://ncbi.nlm.nih.gov>). Data yang diambil sebagai pembandingan yaitu *Capra hircus* dengan nomor akses AF533441. Proses pensejajaran menggunakan ClustalW versi 8.1 yang ada dalam program MEGA 4 (TAMURA *et al.*, 2007) yang kemudian diedit lagi secara manual.

Pengeditan hasil pensejajaran dilakukan dengan unit-unit ruas DNA berulang.

Analisis yang dilakukan meliputi penghitungan komposisi nukleotida, laju substitusi, jarak genetik berdasarkan ruas D-loop. Proses analisis dilakukan dengan menggunakan program MEGA versi 4 (TAMURA *et al.*, 2007). Perhitungan nilai jarak genetik dilakukan berdasarkan model substitusi Kimura 2 parameter (K2P). Rekonstruksi pohon filogeni dilakukan berdasarkan ruas daerah D-loop untuk semua nukleotida yang bersifat parsimoni. Rekonstruksi pohon filogeni kedua dilakukan menggunakan metode *Neighbour Joining* (NJ) dengan uji bootstrap 1000 kali. Jumlah dan rincian hubungan antar haplotipe dalam bentuk *median joining network* menggunakan program NETWORK versi 4.6. (FLUXUS TECHNOLOGY  *Ltd.*, 2010).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Polimorfisme segmen daerah D-loop DNA mitokondria

Amplifikasi daerah D-loop dilakukan menggunakan pasangan primer AF22 dan AF23 pada nukleotida sepanjang 957 bp (posisi antara 15.430-16.309 bp). Setelah saling disejajarkan ditemukan 62 situs polimorfik (*variable site*) yang terdiri dari 35 *singleton variable site* dan 30 *parsimony informative sites* (Gambar 1).

Terdapat 19 haplotipe berdasarkan 62 situs nukleotida yang bersifat polimorfik pada 6 kambing lokal yang diamati. Pada kambing Kacang terdapat 4 haplotipe yang khas, kambing Marica terdapat 3 haplotipe yang khas, kambing Samosir terdapat 2 haplotipe, kambing Benggala 3 haplotipe, kambing Jawarandu 4 haplotipe dan kambing Muara terdapat 3 haplotipe yang khas (Tabel 1). Keragaman nukleotida antar individu dalam subpopulasi paling tinggi adalah pada kambing Kacang dan kambing Jawarandu, sedangkan paling rendah keragamannya pada kambing Samosir yang hanya terdapat 2 haplotipe.

Runutan basa-basa nukleotida yang polimorfik terletak pada situs ke-113-944 berupa substitusi dan insersi. Berdasarkan runutan nukleotida yang disejajarkan ditemukan substitusi nukleotida khas yang bisa digunakan sebagai penciri 6 kambing lokal Indonesia jika dibandingkan dengan *Capra hircus* (AF533441) yaitu; situs ke-113 (C-T), 201 (A-G), 207 (T-C), 298 (G-A), 386 (A-G), 537 (G-C), 597 (T-C), 625 (A-G), 633 (C-T), 697 (C-T), 812 (C-A). Susunan nukleotida tersebut terdapat pada setiap kelompok situs kambing lokal Indonesia, tetapi tidak dijumpai pada situs nukleotida *Capra hircus* (AF533441).

	1222234444	4444455555	5566666666	6666666666	6666677777	7778888888	8899999999
	1003982234	4888923467	8901222222	3345566667	7889912234	689112345	88001344
	3175862359	9145337330	0706156789	3440823671	9092781755	667296957	14178434
<i>C. hircus</i>	CATTGA---T	TAA-GAGCGG	TTTTTATTC	CGATCTTTAG	GGCTCCGGTG	TGACTCCCC	CCTTCCCT
Marica1	TGC. AG---C	C. .-AGCT. A	CC. CCGC. . .	T. . . T. . . . A	AA. . T. . . C. . .	. . . A. . . . .	. . . . .
Marica2	TGC. AG---C	C. .-AGCT. A	CC. CCGC. . .	T. . . T. . . . A	AA. . T. . . C. . .	. . . A. . . . .	. . . . .
Marica3	TGC. AG---C	C. .-AGCT. A	CC. CCGC. . .	T. . . T. . . . A	AA. . T. . . C. . .	. . . A. . . . .	. . . . . A. .
Marica4	TGC. AG---C	C. .-AGCT. A	CC. CCGC. . .	T. . . T. . . . A	AA. . T. . . C. . .	. . . AC. . . . .	. . . . . TC
Marica5	TGC. AG---C	C. .-AGCT. A	CC. CCGC. . .	T. . . T. . . . A	AA. . T. . . C. . .	. . . A. . . . .	. . . . .
Kacang1	TGC. AG---. .	G-.GC. . . .	C. . . G. CCT	T. . . T. C. . .	. ATCTT. . . .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Kacang2	TGC. AG---. .	G-.GC. . . .	C. . . G. CCT	T. . . T. CCA	AATCT. . . C. . .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Kacang3	TGC. AG---. .	G-.GC. . . .	C. . . G. CCT	T. . . T. C. . .	AATCT. . . . .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Kacang4	TGC. AG---. .	G-.GC. . . .	C. . . G. CCT	T. . . T. C. . .	AATCT. . . . .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Kacang5	TGC. AG---. .	G-.GC. . . .	C. . . G. CCT	T. . . T. C. . .	. ATCT. . . . .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Samosir1	TGC. AG---C	C. .-AGCT. A	CC. CCG. CCT	TAGG. . C. . A	AATCT. . . C. .	A. . A. TAGG	. T. CA. . .
Samosir2	TGC. AG---C	C. .-AGCT. A	CC. CCG. CCT	TAG. T. C. . A	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Samosir3	TGC. AG---C	C. .-AGCT. A	CC. CCG. CCT	TAG. T. C. . A	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Samosir4	TGC. AG---C	C. .-AGCT. A	CC. CCG. CCT	TAG. T. C. . A	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Samosir5	TGC. AG---C	C. .-AGCT. A	CC. CCG. CCT	TAG. T. C. . A	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Benggal a1	TGC. AG---C	CC. -A. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . .	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Benggal a2	TGC. AG---C	CC. AA. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . .	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Benggal a3	TGC. AG---C	C. .-A. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . .	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Benggal a4	TGC. AG---C	CC. AA. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . .	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Benggal a5	TGC. AG---C	CC. -A. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . .	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Jawarandu1	TGC. AG---C	C. .-A. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . A	AAT. T. A. C. . .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Jawarandu2	TGC. AG--TC	C. .-A. CT. A	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . A	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Jawarandu3	TGC. AG---C	C. .-A. CT. A	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . A	AATCT. A. C. . .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Jawarandu4	TGC. AG---C	C. .-A. CT. A	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . A	AATCT. A. C. . .	. . . A. . . . .	. T. . . . .
Jawarandu5	TGC. AG---C	C. .-A. CT. A	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . A	AATCT. AACC	. CGA. . . . .	. T. . . . .
Muara1	TGC. AGAC-C	C. .-A. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . A	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. TC. . . . .
Muara2	TGC. AGAC-C	C. .-A. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . A	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. GTC. . . . .
Muara3	TGC. AGAC-C	C. .-A. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . A	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. TC. . . . .
Muara4	TGCCAGAC-C	C. .-A. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . A	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. TC. . . . .
Muara5	TGCCAGAC-C	C. .-A. CTAA	CCCCCG. CCT	TAG. TCC. . A	AATCT. . . C. .	. . . A. . . . .	. TC. . . . .

**Gambar 1.** Polimorfisme nukleotida daerah D-loop DNA mitokondria pada Kambing Marica, Kacang, Samosir, Benggala, Jawarandu, Muara dibandingkan dengan situs nukleotida *Capra hircus*-AF.533441 dari *GenBank* (tiga baris pertama dibaca secara vertikal merupakan posisi nukleotida)

**Tabel 1.** Jumlah haplotipe berdasarkan nukleotida D-loop mtDNA setiap jenis kambing lokal Indonesia yang diamati

Kambing lokal	n sample	n haplotipe	Haplotipe
Marica (M)	5	3	1, 2, 3
Kacang (K)	5	4	4, 5, 6, 7
Samosir (S)	5	2	8, 9
Benggala (B)	5	3	10, 11, 12
Jawarandu (J)	5	4	13, 14, 15, 16
Muara (R)	5	3	17, 18, 19

Setiap kelompok kambing juga ditemukan perbedaan antara satu kelompok kambing lokal dengan kelompok yang lain, sehingga runutan nukleotida yang khas dapat digunakan sebagai penciri dari setiap kelompok populasi kambing lokal tersebut (Tabel 2). Perubahan (mutasi) susunan nukleotida berupa substitusi ditemukan pada situs nukleotida kambing Kacang, Marica dan kambing Muara. Sementara itu, pada kambing Bengkulu, Jawarandu dan kambing Muara dijumpai mutasi berupa substitusi dan insersi. Mutasi insersi nukleotida yang ditemukan antara lain: insersi nukleotida A pada situs ke-485 pada kambing Bengkulu, insersi nukleotida T pada situs ke-425 pada kambing Jawarandu dan insersi A,C pada situs ke-422, 423 pada kambing Muara secara berurutan.

### Keragaman runutan nukleotida

Urutan frekuensi nukleotida paling tinggi terdapat pada nukleotida A(33,7), kemudian T (27,2%), C (26,4)

dan G (12,6) secara berurutan. Perbandingan rataan frekuensi A dan T (60,9%) lebih tinggi dibandingkan dengan C dan G (39,8%). Perbedaan susunan basa nukleotida paling rendah ditemukan antara kambing Kacang dengan *C. hircus AF533441* (0,5%), dan tertinggi dijumpai antara kambing Kacang dengan Muara (10,30%). Rataan keragaman susunan nukleotida secara keseluruhan adalah  $0,014 \pm 0,002$ . Keragaman susunan nukleotida antar individu dalam kelompok kambing penelitian yaitu; Marica (0,001), Kacang (0,005), Samosir (0,008), Jawarandu (0,004), Muara (0,001) dan kambing Bengkulu tidak terdapat perbedaan antar individu dalam kelompok (0,000).

Perbedaan keragaman susunan nukleotida antar kelompok kambing lokal berkisar antara 0,004-0,103. Keragaman susunan nukleotida paling tinggi adalah antara kambing Kacang dengan Muara (0,1030) dan paling rendah dijumpai antara kambing Samosir dengan Marica (0,004) dan nilai yang sama dijumpai antara kambing Jawarandu dan kambing Muara (Tabel 3).

**Tabel 2.** Mutasi nukleotida yang khas sebagai penciri kelompok kambing lokal Indonesia dibandingkan dengan *Capra hircus* (AF533441) dari GenBank

Subpopulasi	Substitusi	n	Situs ke-	Insersi	n	Situs ke-
Marica	T-C	5	626		-	-
	T-C	1	819			
	C-A	1	934			
	CT-TC	1	943-944			
Kacang	A-G	5	848	-	-	-
	TA-CC	5	666-667			
Samosir	T-G	1	650	-	-	-
	T-A	1	766			
	C-T	1	826			
	C-A	1	839			
	C-G	1	845			
	C-G	1	857			
	T-C	1	907			
	C-A	1	918			
Bengkala	A-C	4	481	A	2	485
Jawarandu	G-A	4	721	T	1	435
	G-C	1	727			
	G-C	1	786			
	A-G	1	797			
Muara	C-G	1	881	AC	5	422-423
	T-C	5	901			

**Jarak genetik kambing lokal Indonesia dengan kambing pembanding lainnya**

Jarak genetik antar individu dalam kelompok kambing penelitian antara lain; nilai jarak genetik kambing Samosir 0,004, Kacang dan Jawarandu 0,003, Marica 0,002, Muara 0,001 dan kambing Benggala tidak ada perbedaan (0,000). Nilai jarak genetik antar individu dan subpopulasi ini menunjukkan sampel kambing Benggala relatif homogen walaupun diambil dari tempat berbeda kabupaten.

Nilai jarak genetik antar kelompok kambing lokal berkisar 0,004-0,044 dan rata-rata jarak genetik keseluruhan adalah 0,014. Jarak genetik tertinggi antara kambing lokal dengan pembanding *Capra hircus* (AF533441) ditemukan pada kambing Muara (0,044) dan terendah dengan kambing Kacang (0,028).

Nilai jarak genetik antar kelompok kambing lokal terkecil antara kambing Muara dan Benggala (0,004), sedangkan tertinggi merupakan jarak genetik antara kambing Kacang dan Marica (0,004) (Tabel 4). Jarak genetik kambing Marica paling dekat dengan kambing Samosir (0,015) dan paling jauh dengan kambing Kacang (0,023). Jarak genetik kambing Kacang paling dekat hubungannya dengan kambing Samosir (0,017) dan paling jauh hubungannya dengan kambing Jawarandu dan Muara (0,021). Jarak genetik kambing Samosir paling dekat hubungannya dengan kambing

Jawarandu (0,008) dan paling jauh hubungannya dengan kambing Muara dan Benggala (0,009). Jarak genetik kambing Benggala lebih dekat hubungannya dengan kambing Muara (0,004) dibandingkan dengan kambing Jawarandu (0,005). Jarak kambing Jawarandu dengan kambing Muara adalah 0,005 (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa kambing Jawarandu masih dekat hubungan kekerabatan dengan kambing Muara.

Pohon filogeni yang dibentuk berdasarkan metode 2 parameter Kimura dalam uji bootstrap 1000 kali pengulangan, diperoleh enam klaster kambing yaitu masing-masing subpopulasi membentuk klaster tersendiri yaitu klaster Kacang, Marica, Samosir, Jawarandu, Muara dan Benggala. Kambing Kacang merupakan klaster yang relatif dekat dengan *Capra hircus* dengan nilai uji bootstrap (65%). Kambing Kacang dikenal sebagai kambing asli Indonesia yang tersebar secara luas hampir di seluruh kepulauan yang ada penduduknya. Nilai uji bootstrap kambing Kacang dan Marica merupakan paling tinggi (99%) kemudian disusul oleh kambing Jawarandu (92%), Muara (78%), Samosir (66%) dan Benggala (64-65%). Hasil uji bootstrap 1000 kali ulangan pada analisis *Neighbour Joining* dengan metode 2 parameter Kimura menunjukkan bahwa keenam subpopulasi kambing lokal yang diteliti terbagi ke dalam 6 kelompok atau bisa dikelompokkan menjadi 6 bangsa yang berbeda yaitu bangsa kambing pertama Kacang, kedua kambing

**Tabel 3.** Keragaman susunan nukleotida pada 6 kambing lokal Indonesia dan *Capra hircus* (AF533441) dari *GenBank*

Genotipe	<i>C. hircus</i>	Marica	Kacang	Samosir	Benggala	J.randu	Muara
<i>Capra hircus</i>	0						
Marica (M)	0,022	0					
Kacang (K)	0,005	0,041	0				
Samosir (S)	0,025	0,004	0,043	0			
Benggala (B)	0,049	0,008	0,072	0,013	0		
Jawarandu (J)	0,061	0,011	0,089	0,016	0,005	0	
Muara (R)	0,073	0,016	0,103	0,021	0,004	0,004	0

**Tabel 4.** Jarak genetik berdasarkan susunan nukleotida pada 6 kambing lokal Indonesia dan dibandingkan dengan *Capra hircus* (AF533441) dari *GenBank*

<i>Capra hircus</i>	0						
Marica (M)	0.03	0					
Kacang (K)	0.028	0.023	0				
Samosir (S)	0.041	0.015	0.017	0			
Benggala (B)	0.041	0.019	0.02	0.009	0		
Jawarandu (J)	0.042	0.018	0.021	0.008	0.005	0	
Muara (R)	0.044	0.019	0.021	0.009	0.004	0.005	0

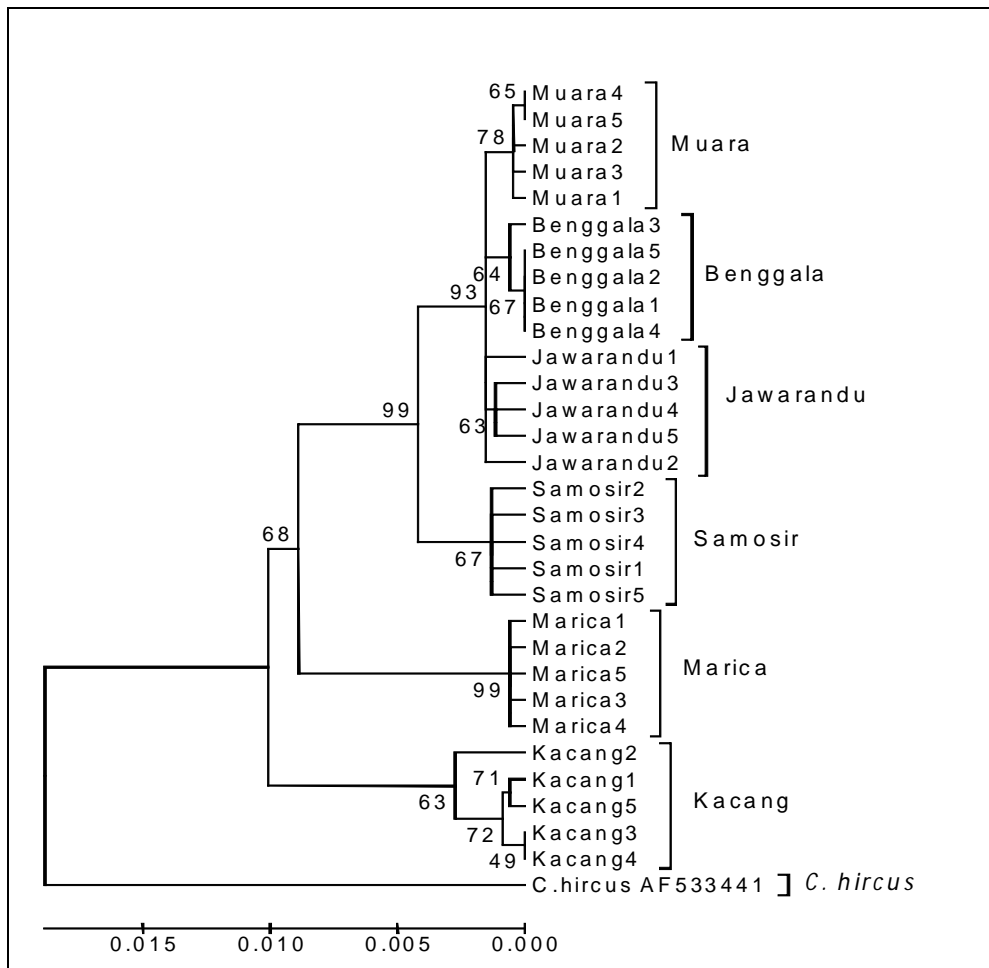
Marica, ketiga kambing Samosir, keempat kambing Jawarandu, kelima kambing Muara dan keenam kambing Bengkulu (Gambar 2) dengan nilai uji bootstrap di atas 60% antara satu kelompok sub populasi kambing lokal yang satu dengan yang lainnya.

Kambing Jawarandu, Muara dan Bengkulu menunjukkan terjadi mutasi perubahan susunan basa nukleotida dalam bentuk substitusi dan insersi (Tabel 3). Perubahan susunan nukleotida dalam bentuk insersi pada ketiga kambing ini diduga karena merupakan hasil persilangan pejantan kambing dari luar (*outgroup*) dengan induk kambing Kacang (hibridisasi) yang telah beradaptasi (berevolusi) dengan kondisi agro-ekosistem lokal dimana kambing tersebut berada.

Mutasi substitusi ditemukan pada kambing Kacang, Marica dan Samosir diduga merupakan tanda adanya proses adaptasi dari kambing Kacang (sebagai kambing asli) dengan kondisi lokasi baru yang berbeda dengan kondisi di Sumatera, Jawa dan Bali, dimana perubahan susunan basa nukleotida terjadi dalam bentuk substitusi sebagai akibat proses adaptasi terhadap kondisi

lingkungan yang sumber pakannya terbatas dan diduga akibat adanya seleksi yang berhubungan dengan tujuan produksi yang diinginkan oleh peternak. Seperti kambing Samosir, tujuan utama pemeliharaan kambing ditujukan untuk menghasilkan kambing yang berwarna putih, karena nilai ekonomi (harga jual) yang tinggi. Pengguna atau konsumen menggunakan kambing berwarna putih untuk keperluan acara ritual bagi penganut agama/aliran kepercayaan Parmalim di daerah Gunung Pusuk Buhit dan sekitar Kabupaten Samosir.

Perubahan mutasi nukleotida pada kambing Marica diduga disebabkan proses adaptasi dengan kondisi iklim yang berbeda dan ketersediaan bahan pakan terutama pada saat musim kemarau yang rata-rata di atas 6-7 bulan per tahun membuat ketersediaan rumput sangat terbatas. Pada musim pertengahan dan akhir musim kemarau umumnya rumput sudah layu dan kering diakibatkan musim kering yang berkepanjangan seperti pada umumnya di daerah kepulauan Indonesia Bagian Timur, sehingga ketersediaan rumput sangat terbatas.



**Gambar 2.** Dendrogram pohon Neighbor Joining nukleotida daerah d-loop parsial (957 nt) pada enam subpopulasi kambing lokal Indonesia (bootstrap 1000 ulangan)

Kemungkinan dalam jangka waktu yang lama kambing Marica mengalami proses adaptasi dengan kondisi setempat, maka terjadilah proses mutasi substitusi nukleotida (Tabel 2) yang secara fenotip kambing Marica mempunyai performans tubuh yang lebih kecil jika dibandingkan dengan kambing Kacang.

Jika digabungkan dengan sekuen nukleotida daerah D-loop DNA mitokondria kambing dari luar negeri yang terdapat pada *GenBank*, kelompok kambing lokal yang diamati mempunyai jarak genetik yang jauh dari *Capra hircus* (AF533441) karena sampel kambing tersebut berasal dari Eropa (Italia) (PARMA *et al.*, 2003) dengan nilai uji bootstrap sangat tinggi (99%) (Gambar 2).

Sekuen DNA daerah D-loop kambing lokal yang diteliti, jika disejajarkan dan dibandingkan dengan 26 sekuen DNA yang berasal dari *GenBank* yang mewakili 6 kelompok utama (*haplogroup*) kambing di dunia berdasarkan asal-usulnya secara maternal (NADERI *et al.*, 2007; JOSHI *et al.*, 2004) menunjukkan bahwa ke enam subpopulasi kambing lokal Indonesia termasuk ke dalam kelompok haplotipe *Lineage B* (Gambar 3). Kambing yang termasuk dalam *haplogroup B* adalah kambing yang berdasarkan garis keturunan ibu (maternal) dan telah dilaporkan menyebar di daerah Asia Timur dan Asia Selatan termasuk Cina, Mongolia, Afrika Selatan, Afrika Utara, Laos, Malaysia, Pakistan dan India. Nilai uji *bootstrap* dengan pengulangan 1000 kali pada kambing Boer sangat rendah (30%) pada kambing Boer dan (38-65%) kambing Jawarandu menunjukkan bahwa kedua jenis kambing tersebut masih dekat kekerabatannya, karena kambing Boer adalah merupakan persilangan kambing Jamnapari dengan kambing lokal di Afrika Selatan.

Hampir sama dengan nilai uji bootstrap kambing Muara juga rendah (46%), hal ini juga memperkuat dugaan bahwa kambing Muara juga merupakan hasil persilangan kambing lokal dengan Peranakan Etawah (PE) di Indonesia, saat ini kambing Muara sudah mempunyai karakteristik morfologi tersendiri dan susunan basa nukleotida mempunyai kekhasan tersendiri.

Kambing Benggala mempunyai nilai *bootstrap* cukup jauh (65%) dari kambing Kacang. Berdasarkan performans karakteristik tubuh dan warna bulu kambing Benggala diduga merupakan persilangan kambing Black Bengal dengan kambing lokal yang telah beradaptasi dengan kondisi agro-ekosistem di Pulau Timor dan Pulau Flores

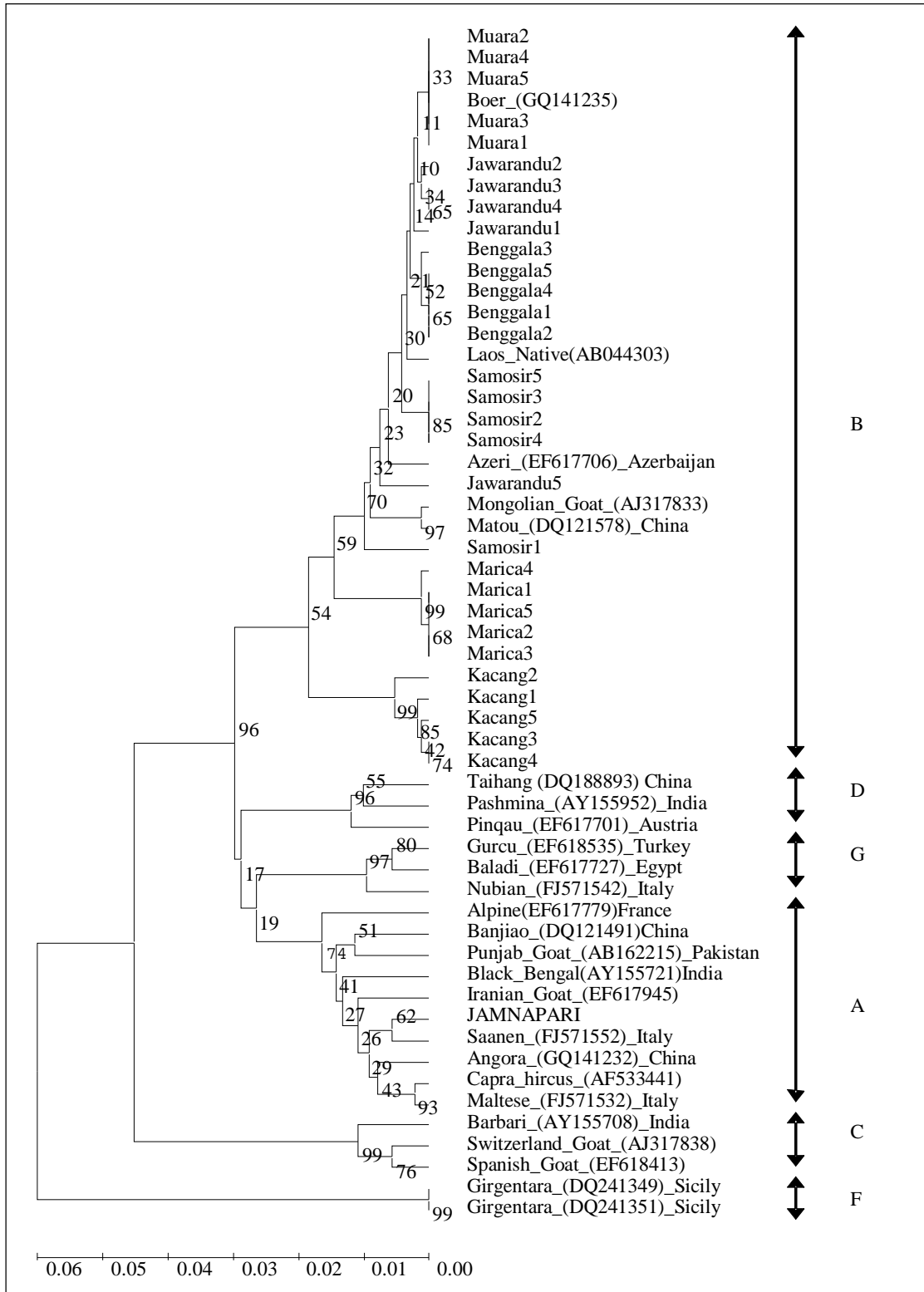
(Provinsi Nusa Tenggara Timur). Kambing Jawarandu, Muara dan Benggala merupakan persilangan kambing dari luar dengan kambing lokal, yang kemudian terjadi proses adaptasi dengan kondisi agro-ekosistem lokal sehingga penampilan produksi dan karakteristik kambing yang diteliti telah berubah jika dibandingkan dengan karakteristik bangsa asal kambing itu sendiri.

Seperti kambing Benggala jika dibandingkan dengan kambing Black Bengal tubuh kambing Benggala relatif lebih kecil, tetapi bentuk telinga dan warna bulu sama-sama warna hitam dan coklat tua pada umumnya. Kambing Muara bentuk ukuran tubuh hampir sama, tetapi lebar dada relatif lebih panjang dan panjang telinga lebih pendek dan pola warna lebih bervariasi jika dibandingkan dengan kambing Peranakan Etawah (PE). Kambing Jawarandu bentuk tubuh lebih kecil, telinga pendek dan warna bulu tubuh relatif lebih bervariasi jika dibandingkan dengan kambing Etawah dan kambing Peranakan Etawah.

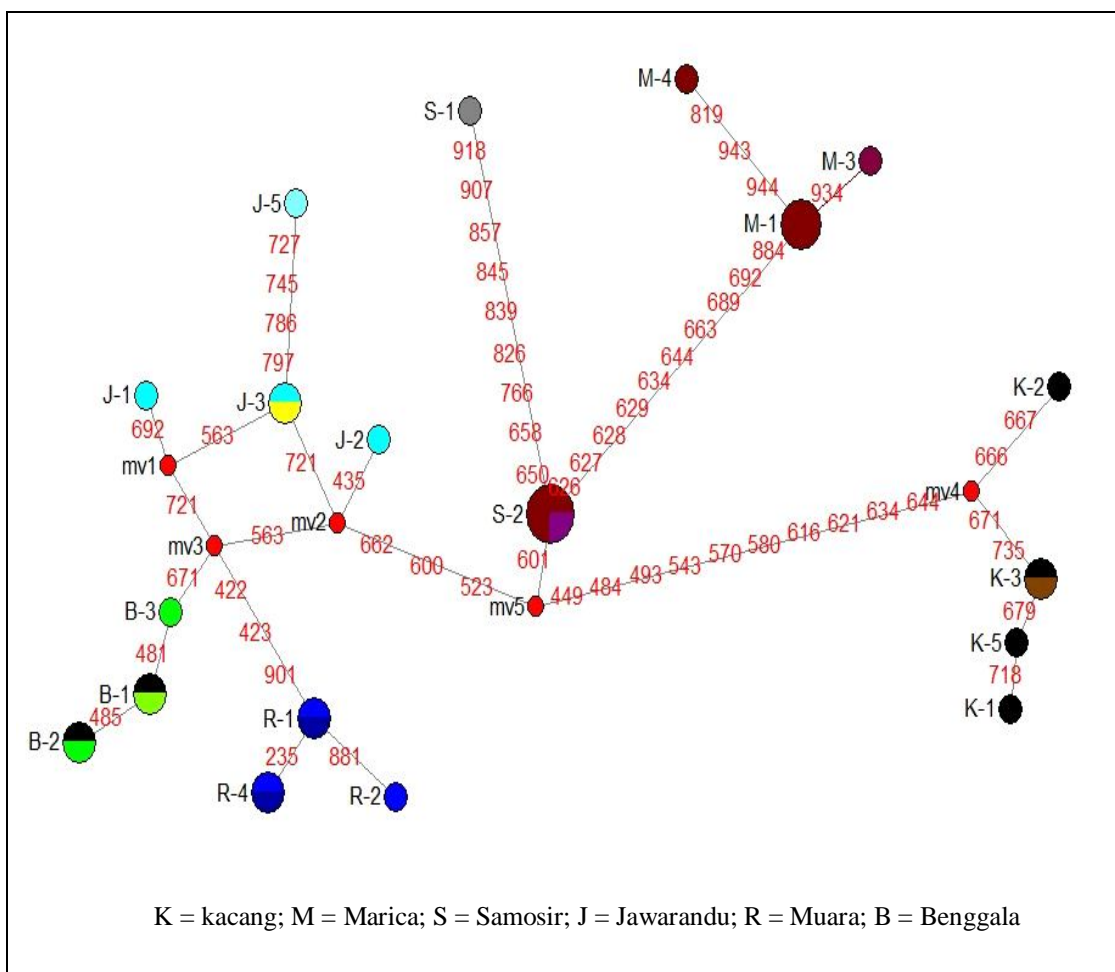
Berdasarkan analisis *Media-joining network* dari 30 sekuen nukleotida daerah D-loop kambing yang diamati terdapat 62 situs yang bersifat polimorfik, terdapat sebanyak 19 haplotipe runutan DNA yang unik. Aliran gen berasal dari kambing Kacang sebagai kambing asli di Indonesia, yang kemudian mengalami adaptasi sesuai dengan kondisi agro-ekosistem dan perlakuan manajemen dan terjadi perubahan susunan nukleotida dan perubahan fenotipik yang dikenal dengan kambing Marica di daerah Sulawesi Selatan dan Kambing Samosir di daerah Kabupaten Samosir. Mutasi susunan nukleotida paling banyak dijumpai antara kambing Kacang dengan kambing Marica dan Samosir (Gambar 4).

Perubahan mutasi ini terjadi diduga akibat adanya proses adaptasi dari kambing Kacang sebagai kambing asli Indonesia dengan kondisi lingkungan yang sangat berbeda seperti lamanya musim kering yang tinggi di daerah Sulawesi Selatan yang mengakibatkan pakan hijauan layu dan mengering sehingga sangat terbatas jumlahnya di ujung musim kemarau. Hal ini bisa dilihat dari perubahan (mutasi) susunan nukleotida dalam bentuk substitusi pada situs-situs tertentu (Tabel 2). Pada kambing Jawarandu, Benggala dan Muara ditemukan mutasi substitusi dan insersi nukleotida diduga akibat proses adaptasi lingkungan dan merupakan hasil persilangan (proses hibridisasi) dengan bangsa kambing di luar kambing lokal yang terdapat di daerah setempat.





**Gambar 3.** Dendrogram pohon *Neighbour Joining* berdasarkan daerah D-loop parsial 6 kambing lokal Indonesia dan 6 kelompok utama kambing dari *GeneBank*



**Gambar 4.** Median joining network dari 19 haplotipe nukleotida daerah D-loop DNA mitokondria pada 6 kambing lokal Indonesia

### KESIMPULAN

Karakterisasi molekuler pada enam subpopulasi kambing lokal Indonesia (Kacang, Marica, Samosir, Jawarandu, Muara dan Bengkulu) berdasarkan sekuen daerah D-loop DNA mitokondria telah berhasil dilakukan untuk melihat keragaman genetik dan hubungan antar subpopulasi kambing penelitian. Rataan jarak genetik 6 kambing lokal Indonesia yang diamati adalah  $0,014 \pm 0,002$  dan ditemukan 50 situs susunan nukleotida yang polimorfik dan terdiri dari 19 haplotipe yang unik. Keenam subpopulasi kambing lokal Indonesia menunjukkan keragaman susunan nukleotida yang berbeda antara setiap kelompok dengan kelompok sub populasi kambing lainnya. Perbedaan susunan nukleotida yang khas pada setiap bangsa kambing dapat dipakai sebagai penciri DNA antar bangsa kambing. Berdasarkan analisis jarak genetik pada sekuen kambing penelitian dan sekuen nukleotida dari *GeneBank* diduga asal usul tetua secara maternal

kambing lokal yang diamati termasuk kedalam kelompok utama (*haplogroup*) lineage B.

Perlu dilakukan analisis molekuler dengan menggunakan kambing lokal Indonesia lainnya untuk memetakan karakter genetik plasma nuftah kambing lokal Indonesia, sebagai salah satu upaya untuk meningkatkan pemanfaatan sumber daya genetik kambing lokal guna mendukung pengembangan bibit kambing unggul di Indonesia. Untuk karakterisasi atau pemetaan genetik DNA mitokondria yang lebih lengkap perlu dilakukan analisis peruntukan nukleotida komplit (*complete genome*) dan dengan jumlah sampel yang lebih banyak.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan pada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian yang telah mendanai penelitian ini melalui APBN Tahun 2007 dan kepada Pimpinan dan Petugas Laboratorium Molekuler

Departemen Biologi, FMIPA Institut Pertanian Bogor. Secara khusus disampaikan terimakasih atas kerjasama yang baik selama di lapangan kepada Bapak Ir. Mathius Sariubang, MSi, Ir. Daniel Pasambe, Ir. Bonggas Pasaribu, Drh. Wasito M.Si., Ir. Debora Kana Hau, M.Si., Ir. Erwin Sihite dan Ir.Rosianna Tarigan. Juga terimakasih banyak kepada semua petugas dan peternak yang banyak memberikan bantuan selama pengambilan data di lapangan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- BEJA-PEREIRA, A., P.R. ENGLAND, N. FERRAND, S. JORDAN, A.O. BKHIET, M.A. ABDALLA, M. MAKHOUR, J. JORDANA, P. TABERLET and G. LUIKART. 2004. African origin of the domestic donkey. *Science* 304: 1781-1789.
- CHEN S.Y., Y.H. SU, S.F. WU., T. SHA and Y.P. ZHANG., 2005. Mitochondrial diversity and phylogeographic structure of Chinese domestic goats. *Mol. Phylogenet. Evol.* 37: 804-814.
- GIUFFRA, E., J.M.H. KIJAS, V. AMARGER, O. CARLBORG, J.T. JEON and L. ANDERSON. 2000. The origin of the domestic pig: Independent domestication and subsequent introgression. *Genetics* 154: 1785-1791.
- HIENDLEDER, S., B. KAUPÉ, R. WASSMUTH and A. JANKE. 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 269: 893-904.
- JOSHI, M.B., P.K. ROUT, A.K. MANDAL, C. TYLER-SMITH, L. SINGH and K. THANGARAJ. 2004. Phylogeography and origin of Indian domestic goats. *Mol. Biol. Evol.* 21: 454-462.
- LUIKART, G., L. GIELLY, L. EXCOFFIER, J.D. VIGNE, J. BOUVET and P. TABERLET. 2001. Multiple maternal origins and weak phylogenetic structure in domestic goats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 5927-5932.
- MACHUGH, D.E. and D.G. BRADLEY. 2001. Livestock genetic origins: goat buck the trend. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 5382-5384.
- MANNEN, H., Y. NAGATA and S. TSUJI. 2001. Mitochondrial DNA reveal that domestic goat (*Capra hircus*) are genetically affected by two subspecies of bezoar (*Capra aegagurus*). *Biochem. Genet.* 39: 145-154.
- NADERI, S., H.R. REZAEI, P. TABERLET, S. ZUNDEL, S.A. RAFAT, H.R. NAGASHA, M.A.A. EL-BARODY, O. ERTUGRUL and F. POMPANON. 2007. Large-scale mitochondrial DNA analysis of domestic goat reveal six haplogroup with high diversity. *PLoS ONE* 2, e1012. Doi: 10.1371/journal.pone.0001012.
- PARMA, P., M. FELIGINI, G. GREEPI and G. ENNE. 2003. The complete nucleotide sequence of goat (*Capra hircus*) mitochondrial genome. *DNA Sequence* 14: 199-203.
- ROYO L.J., A.TRAORE, H.H. TAMBOURA, I. ALVAREZ, A. KABORE, I. FERNANDEZ, G.O. SANOU, A. TOGUYENI, L. SAWADOGO and F. GOYACHE. 2009. Analysis of mitochondrial DNA diversity in Burkina Faso populations confirms the maternal genetic homogeneity of the West African Goat. *Anim. Genet.* 40: 344-347.
- SAMBROOK, J., E.F. FRITSCH and T. MANIATIS. 1989. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. 2<sup>nd</sup> Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SAVOLAINEN, P., Y.P. ZHANG, J. LUO, J. LUNDBERG, T. LEITNER and T. LEITNER. 2002. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science* 298: 1610-1613.
- SETIADI, B., SUBANDRIYO and L.C. INIGUES. 1995. Reproductive performance of small ruminants in an outreach pilot project in West Java. *JITV* 1: 73-80.
- SETIADI, B., I.W. MATHIUS dan K.I. SUTAMA 1998. Karakteristik sumberdaya kambing Gembrong dan alternatif pola konservasinya. Pros. Sem. Nas. Peternakan dan Veteriner. Bogor, 1-2 Desember 1998. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 328-337.
- SETIADI, B., D. PRIYANTO dan SUBANDRIYO. 1999. Karakteristik morfologi dan produktivitas induk kambing Peranakan Etawah di daerah sumber bibit Kabupaten Purwokerto. Pros. Seminar Nasional Kiat Usaha Peternakan. Purwokerto, 23 Agustus 1999. Universitas Jenderal Sudirman, Purwokerto. hlm. 114-117.
- SUBANDRIYO. 2004. Strategi pemanfaatan plasma nutfah kambing lokal dan peningkatan mutu genetik kambing di Indonesia. Pros. Lokakarya Nasional kambing Potong. Bogor, 6 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 39-50.
- SULTANA, S., H. MANNEN, and S. TSUJI. 2003. Mitochondrial DNA diversity of Pakistani goats. *Anim. Genet.* 34: 417-421.
- TAMURA, K., J. DUDLEY, M. NEI and S. KUMAR. 2007. Molecular evolutionary genetic analysis (MEGA) Software version 4. *Mol. Biol. Evol.* 24: 1596-1599.
- TEGELSTROM, H. 1986. Mitochondrial DNA in natural population: An improved routine for the screening of genetic variation based on sensitive silver staining. *Electrophoresis* 7: 226-229.
- TROY, C.S., D.E. MACHUGH, J.F. BAILEY, D.A. MAGEE, R.T. LOFTUS, P. CUNINGHAM, A.T. CHAMBERLAIN, B.C. SYKES and D.G. BRADLEY. 2001. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 410: 1088-1091.
- VILA, C., J.A. LEONARD, A. GÖTHERSTROM, S. MARKLUND, K. SANDBERG, K. LIDEN, R.K. WAYNE and H. ELLERGEN. 2001. Widespread origin of domestic horse lineages. *Science* 291: 474-477.

ZEDER, M.A. and B. HESSE. 2000. The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros Mountain 10,000 years ago. *Science* 287: 2254-2257.

ZHAO, Y., J. ZHANG, E. ZHAO, X. ZHANG, X. LIU and N. ZHANG. 2011. Mitochondrial DNA diversity and origins of domestic goats in Southwest China (excluding Tibet). *Small Rum. Res.* 95: 40-47.