



## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dibagi dalam dua kegiatan yaitu kegiatan lapangan dilakukan di Provinsi Maluku Utara selama duabelas bulan mulai Januari s/d Desember (Lampiran 1). Pertimbangan pemilihan Provinsi Maluku Utara sebagai lokasi penelitian adalah (1) ada kebijakan pemerintah daerah setempat yang menetapkan salah satu wilayah menjadi pusat pembibitan ternak kambing kacang, (2) secara geografis provinsi Maluku Utara merupakan daerah kepulauan dengan jumlah ternak kambing yang terbanyak dibandingkan dengan ternak ruminansia lainnya, (3) tingginya ternak kambing yang diantarpulaukan sehingga terjadi percampuran dalam yang akan berdampak pada penurunan mutu genetik kambing di wilayah ini, dan (4) adanya kebijakan pemerintah setempat untuk mengembangkan sentra pengembangan ternak kambing tipe daging dan perah.

Kegiatan laboratorium untuk analisis DNA dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2008 di Laboratorium Genetika Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong kabupaten Bogor.

### Sampel dan Alat

#### Sampel

Karakterisasi fenotip, digunakan 712 ekor kambing kacang dari beberapa kabupaten/kota yang mewakili kabupaten/kota yaitu pulau Jailolo (kabupaten Halmahera Utara), pulau Sofifi (Kota Tidore Kepulauan), pulau Morotai (kabupaten Halmahera Utara), pulau Bacan (kabupaten Halmahera Selatan) pulau Ternate (kabupaten Ternate) dan pulau Sananan (kabupaten Kepulauan Sula). Untuk karakterisasi genotipe, sampel darah dari 180 ekor kambing diambil secara *venus* menggunakan *venoject* dengan tabung *vacuum* 10 ml yang lebih dulu dididihkan dengan heparin/etanol. Seluruh sampel darah tersebut merupakan sumber DNA yang akan dianalisis selanjutnya. Jumlah dan asal masing-masing asal kambing yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 14.



abel 14 Jumlah dan lokasi kambing kacang yang diambil darahnya untuk penelitian laboratorium.

Lokasi Kambing Kacang	Jumlah Sampel (ekor)		
	Jantan	Betina	Jumlah
Bacan (Pbn)	5	25	30
Jailolo (Pjo)	5	25	30
Morotai (Pmi)	5	25	30
Sanana (Psn)	5	25	30
Sofifi (Psf)	5	25	30
Ternate (Pte)	5	25	30
Jumlah	30	150	180

Bahan kimia yang digunakan pada setiap tahapan karakterisasi genotip adalah :

#### Ekstraksi dan purifikasi

1. Larutan penyangga pelisis A (*lysis buffer*) yang tersusun dari:
  - 0.32 M sucrose (timbang 54.8 gram sucrose
  - 1 % v/v Triton X-100 (ambil 5 ml larutan Triton X-100)
  - 5 mM MgCl<sub>2</sub> (ambil 5 ml larutan 1 M Tris HCl pH 7.4)
  - Masukkan kedalam air distilasi (steril) sampai volume 500 ml
2. Larutan Penyangga pencuci B (*rinse buffer*) yang tersusun dari:
  - 75 mM NaCl (ambil 7.5 ml larutan 5 M NaCl)
  - 50 mM EDTA pH 8.0 (ambil 50 ml larutan 0.5 M EDTA pH 8.0)
  - Masukkan kedalam air distilasi (steril) sampai volume 500 ml
3. Larutan penyangga digesti C (*digestion buffer*) yang tersusun dari:
  - 200 mM NaCl (ambil 20 ml larutan 5 M NaCl)
  - 50 mM Tris HCl (ambil 25 ml larutan 1 M Tris HCl)
  - 100 mM EDTA pH 8.0 (ambil 100 ml larutan 0.5 M EDTA)
  - 1 % (w/v) SDS (50 ml dari larutan 10% SDS)
  - Masukkan kedalam air distilasi (steril) sampai volume 500 ml
4. RNAase (10 mg/ml)
5. Proteinase K (10 mg/ml)
6. Larutan D tersusun dari:
  - TE pH 7.5
  - 10 mM Tris HCl (ambil 1 ml larutan 1 M Tris HCl)
  - 1 mM EDTA (ambil 0.2 ml larutan 0.5 M EDTA)



0,02 mg/ml RNAase (ambil 0.2 ml atau 200 µl larutan stock RNAase)  
Masukkan kedalam air distilasi (steril) sampai volume 100 ml dan simpan larutan D dalam freezer -20°C

7. Fenol
8. Chloroform
9. Ethanol 70% yang disimpan dalam lemari pendingin (4°C)

#### Analisis PCR

1. Sepasang Primer
2. Sampel DNA
3. Enzim taq polymerase
4. Deoxynucleoside triphosphate (dNTP)
5. Buffer PCR
6. Air

#### Elektroforesis gel agarose

1. Gel agarose
2. 1 x buffer TAE
3. Ethidium bromide (10 mg/ml)
4. DNA ladder
5. Loading dye

#### Elektroforesis gel polyacrylamide

1. Gel polyacrylamide
2. DNA ladder
3. Loading dye

t

Alat yang akan digunakan selama penelitian ini adalah sebagai berikut:

Untuk Karakterisasi fenotipe;

alat tulis, tongkat ukur, kliper, pita ukur dan timbangan

Untuk Karakterisasi genotip terdiri atas:

1.1. Ekstraksi dan Purifikasi

1. *Refrigerated Microcentrifuge (high speed)*

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University



2. General centrifuge
  3. Kotak Penyimpan sampel
  4. Rak Tabung ependorf
  5. Tabung ependorf 1.5 ml
  6. Tabung 10 ml
  7. Vortex mixer
  8. Pipetor (1 set) dengan tip pipet kuning dan biru
  9. Sarung tangan (*hand glove*), gunting dan pinset steril
  10. *Shaking Water bath, Autoclave, Rotary mixer, Aspirator, Kaca pembesar/lop, dan Mortar*
- 3.2. Polymerase Chain Reaction (PCR)
    1. Mesin Thermal cycler
    2. Tabung ependorf 0.2 ml, 0.5 ml atau 1.5 ml dengan rak tabungnya.
    3. Pipetor satu set dengan tip warna kuning, biru dan putih
    4. Vortex, dan Mesin sentrifuge.
  - 3.3. Elektroforesis
    1. Horizontal agarose electroforesis apparatus (MUPID)
    2. Well-forming combs (sisir pembentuk sumur)
    3. Power supply
    4. Microwave atau hotplate
    5. UV transilluminator
    6. Camera Pollaroid
    7. Parafilm atau plastic cling wrap.

### Metode Penelitian

#### Metode Pengumpulan Data

Untuk memperoleh gambaran mengenai penyebaran ternak kambing di Maluku Utara dilakukan studi awal dengan menggunakan data yang tersedia di Dinas Peternakan masing-masing Kabupaten/Kota di bantu juga dengan daftar pertanyaan (Lampiran 2)

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



data yang dikumpulkan:

*Informasi mengenai daerah sampel* : meliputi informasi yang berkaitan dengan penggunaan lahan, populasi ternak, curah hujan, komponen usaha tani, produksi pertahun dan karakteristik wilayah lainnya. Kategori data ini dikumpulkan dari Badan Pusat Statistik Provinsi sampai kantor desa.

*Informasi mengenai petani responden*; meliputi pengalaman beternak, umur peternak, pemilikan ternak, tingkat pendidikan dan penguasaan lahan.

*Dinamika Populasi* : Struktur populasi ternak kambing (Jantan, betina, induk kering, induk laktasi, jantan dan betina remaja, cempé).

*Produktivitas ternak* ; bobot lahir, bobot umur 30, 60, 90 dan 120 hari.

*Karakterisasi Kambing Kacang* meliputi tiga kegiatan yaitu karakterisasi fenotip kualitatif, karakterisasi fenotip kuantitatif dan karakterisasi genotip berbasis varians mitokondria DNA pada daerah *D-loop*

#### Pentuan Responden

Penentuan responden dilakukan dengan metode *Simple Random Sampling* yaitu sebesar 10% - 15% dari total peternak kambing yang ada pada setiap lokasi terpilih dengan kriteria yang sudah melakukan pemeliharaan kambing lebih dari 1 tahun.

#### Prosedur Penelitian

Mengetahui sifat-sifat dasar kambing kacang yang dimiliki atau dipelihara oleh pemilik dan pemelihara terpilih dilakukan dengan pengamatan dan dibantu dengan daftar pertanyaan (kuesioner), sedangkan untuk menentukan struktur populasinya selain dengan daftar pertanyaan dilakukan pengamatan pada struktur gigi kambing. Kambing yang gigi serinya belum berganti diberi Kode I-0, berumur kurang atau sama dengan satu tahun. Kode I-2, I-4, I-6, dan I-8 digunakan untuk kambing yang gigi serinya telah berganti sebanyak dua, empat, enam dan delapan buah yang masing-masing berumur 1-1.5 tahun, 2-2.5 tahun, 3-3.5 tahun dan lebih dari empat tahun.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

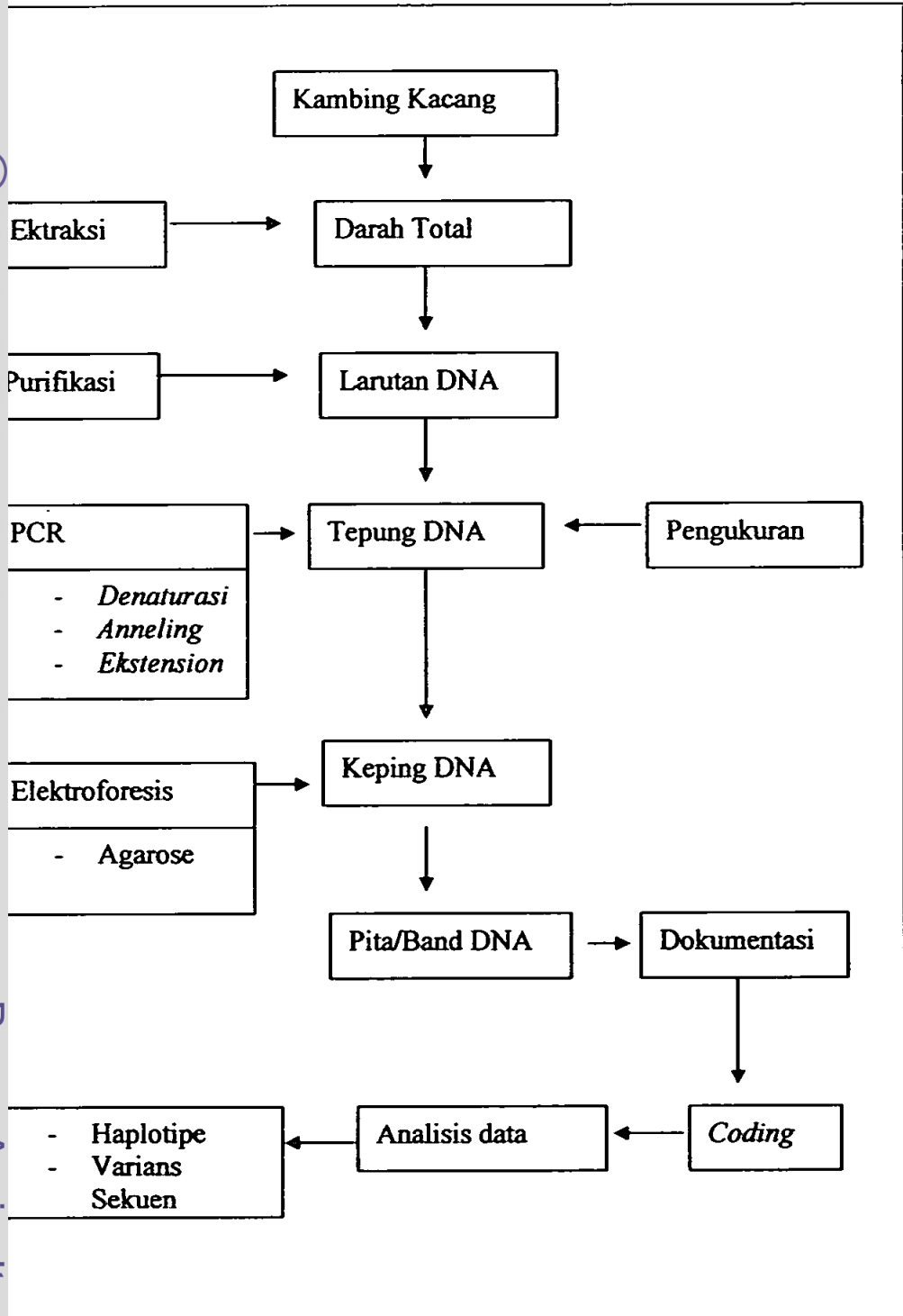
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- b) Karakterisasi genotip dilakukan dengan metode eksperimen sesuai petunjuk Sulandari dan Zein (2003).--Secara ringkas tahapan karakterisasi genotipe dapat disajikan pada Gambar 9 berikut ini:



Gambar 9 Tahapan karakterisasi genotipe





## Ekstraksi dan Purifikasi DNA

Sampel darah yang masih segar dipisahkan menjadi serum, sel darah merah dan sel darah putih (*buffy coat*) dengan teknik sentrifugasi pada kecepatan 3.500 rpm selama 10 menit.

Lapisan paling atas (serum) dibuang dengan menggunakan pipetor, kemudian lapisan kedua yang merupakan sel darah putih dikoleksi dengan pipetor dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge 10 ml dan disimpan didalam freezer sampai dilakukan ekstraksi DNA.

Kedalam tabung yang berisi sel darah putih (*buffy coat*) ditambahkan larutan penyangga pelisis A dengan volume sama dan kocok secara manual sampai larut.

Sentrifugasi dengan kecepatan 6500 rpm selama 1 menit pada temperatur kamar.

Supernatan dibuang, sedangkan endapannya (*erythrosit* dan *leukosit*) ditambahkan larutan penyangga pencuci B (*rinse buffer*) dengan volume sama (200  $\mu$ l), goyang-goyang dengan tangan dan divortex sampai endapan larut.

Ditambah larutan penyangga digest C sebanyak 500  $\mu$ l, 15  $\mu$ l proteinase K (10 mg/ml) dan 5  $\mu$ l RNAase (10 mg/ml). Goyang dengan tangan dan vortex sebentar.

Inkubasikan dengan menggunakan *shaking water bath* pada temperatur 55<sup>o</sup>C selama kurang lebih 16 jam.

Setelah sampel tercerna semua, ambil sampel dari inkubator dan ditambah phenol sebanyak 500  $\mu$ l. Vortex atau menggunakan *rotary mixer* selama 30 menit sehingga larutan tercampur semua.

Sentrifugasi pada kecepatan 13000 rpm selama 2 menit , sehingga di dalam tabung ependorf terlihat larutan terpisah menjadi dua.

0. Ambil larutan bagian atas/supernatan ( warna seperti putih telur) kemudian pindahkan ke tabung ependorf baru.

1. Tambah phenol-chloroform (1:1) dengan volume yang sama, vortex atau menggunakan *rotary mixer* perlahan-lahan selama 30 menit.

2. Sentrifugasi pada 13000 rpm selama 2 menit.



3. Ambil bagian atas (supernatan berwarna putih) dan pindahkan ke tabung ependorf baru.
4. Tambahkan ethanol 100% sebanyak 2 kali volume sampel, digoyang dengan tangan selama 10 menit dan biasanya akan terbentuk material putih (jika kandungan DNA sedikit, material putih tidak jelas). Simpan di dalam freezer selama 5 menit.
5. Sentrifugasi pada 13000 rpm selama 2 menit.
6. Ethanol dibuang dan diganti dengan 70% ethanol (600  $\mu$ l), kemudian sentrifugasi pada 13000 rpm selama 2 menit.
7. Ethanol 70% dibuang secara hati-hati menggunakan pipetor agar pellet DNA tidak ikut terbang bersama ethanol.
8. Material/pellet dikeringkan dengan bantuan aspirator.
9. Keluarkan larutan D dari tempat penyimpanannya ( $-20^{\circ}\text{C}$ ). Tambahkan larutan D sebanyak 100  $\mu$ l. Sentrifugasi sebentar dan inkubasi dalam *shaking water bath* pada temperatur  $37^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.
10. Simpan sampel DNA pada temperatur  $4^{\circ}\text{C}$ .

### Validasi Kuantitas dan Kualitas DNA

Secara kuantitatif, konsentrasi DNA ditentukan dengan *spektrofotometri* ultra violet dengan alat Spektrophotometer (Beckman DU 650). DNA erap secara kuat sinar ultra violet pada panjang gelombang 260 nm (nano ), sedangkan protein pada panjang gelombang 280 nm. Pada panjang ibang 260 nm, absorbansi dengan nilai satu setara dengan 50  $\mu\text{g/ml}$  DNA ganda. Dengan demikian untuk mendapatkan konsentrasi digunakan rumus :

$$\text{Konsentrasi DNA } (\mu\text{g/ml}) = OD_{260} \times 50 \times \text{faktor pengenceran}$$

Mengetahui tingkat kemurnian DNA yang berkorelasi dengan kualitas ditentukan dengan cara membagi nilai Optical Density ( $OD$ )<sub>260</sub> dengan <sub>280</sub>. Apabila nilai ratio yang didapatkan berkisar antara 1.8 – 2.0 maka DNA

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang memurnikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.





akan murni (kualitas DNA-baik).-Jika nilai ratio lebih kecil dari 1.80 maka  
tersebut terkontaminasi dengan protein.

### Analisis PCR (Polymerase Chain Reaction)

Analisis PCR merupakan teknik perbanyakan molekul DNA dengan ukuran  
ntu secara enzimatik melalui mekanisme perubahan suhu, reaksi PCR dibuat  
n tabung 0.2 ml dan proses reaksinya dilakukan dengan alat *thermocycler*  
*Amp PCR system 9700 (Applied Biosystem)*. Komponen yang terdapat dalam  
p tabung reaksi adalah sebagai berikut: larutan penyangga (buffer), dNTP  
*dymucleoside triphosphate*), primer, enzim Taq DNA *polymerase*, sampel  
dan air. Semua komponen tersebut diatas dicampur dalam total volume 50

reaksi PCR untuk volume 50  $\mu$ l :

- 1  $\mu$ l forward primer (2.5 pmol/  $\mu$ l)
- 1  $\mu$ l reverse primer (2.5 pmol/  $\mu$ l)
- 0.4  $\mu$ l dNTP Mix 10mM
- 5  $\mu$ l MgCl<sub>2</sub> 25mM
- 5  $\mu$ l Buffer 10 x
- 0.25  $\mu$ l Taq Ferment recomb
- 36.35  $\mu$ l dH<sub>2</sub>O

Untuk mengamplifikasi mtDNA D-loop pada ternak kambing kacang,  
yang PCR primer spesifik yang dibuat berdasarkan publikasi IAEA digunakan  
el 15).

15 Primer yang digunakan untuk analisis PCR dan sekuen

Primer	5' to 3' sequence
F	Forward: 5'-gcc cca cta tca aca ccc aaa gc-3'
R	Reverse: 5'-aat ggg cga ttt tag atg aga tgg c-3'

Angkan kondisi PCR yang dipakai selama 30 siklus adalah sebagai berikut:

- Pre Denaturasi 95<sup>0</sup>C selama 5 menit
- Denaturasi 94<sup>0</sup>C selama 45 detik



Anneling	-- 60 <sup>0</sup> C selama 45 detik	---
Extension	72 <sup>0</sup> C selama 90 detik	---
Final Extension	72 <sup>0</sup> C selama 10 menit	---

## Elektroforesis dan Visualisasi Produk PCR

Melalui proses elektroforesis pada gel agarose 2% yang diestimasi dari sitas fluorescence dan dipancarkan oleh ethidium bromide, visualisasi produk dilakukan dibawah lampu Ultra Violet (UV) dengan menggunakan iluminator. Bila terlihat adanya fragmen yang teramplifikasi pengambilan photograph dilaksanakan. Adapun proses elektroforesis dilaksanakan sebagai berikut:

1. Letakan gel agarose di dalam tangki elektroforesis dan tuangkan larutan 1 X buffer TAE ke dalam tangki tersebut hingga sekitar 1 mm di atas permukaan gel.

2. Ambil sampel dengan pipetor sebanyak kapasitas sumur yang biasanya sekitar 4-8  $\mu$ l. Letakkan sampel diatas parafilm atau plastik *cling wrap* dan tambahkan *loading dye buffer* sebanyak 1/10 volume sampel kemudian aduk hingga merata. Ambil larutan tersebut dengan pipetor dan masukkan ke dalam sumur pada gel agarose.

3. Setelah sampel dimasukkan dalam sumur, tutup tangki elektroforesis dan hubungkan arus listrik. Setelah itu proses elektroforesis siap dijalankan.

4. Lamanya elektroforesis tergantung dari persentasi gel agarose, tegangan arus listrik dan ukuran molekul DNA. Tegangan arus listrik yang digunakan 100 Volt dan ukuran fragmen DNA yang dianalisis 50 – 2000 pasang basa.

5. Setelah proses elektroforesis selesai, matikan arus listrik dan ambil tray dengan menggunakan sarung tangan. Letakan gel pada UV transilluminator dan jika pita molekul DNA kelihatan terang maka ambil dokumentasi dengan menggunakan camera Polaroid.



## Purifikasi Produk PCR

Produk PCR dipurifikasi dengan QIAquick PCR purification kit (QIAGEN H, Germany). Tahapan purifikasi ini sangat penting untuk menghilangkan kontaminasi-substansi seperti primer, nukleotida dan garam yang dapat mengganggu hasil sekuen. Amplifikasi daerah kontrol dengan PCR (Polymerase Chain Reaction) menggunakan Primer DNA 15388F untuk forward primer: 5'gcc cca cta caa ccc aaa gc 3' dan CD-774R untuk reverse primer: 5' aat ggg cga ttt tag atg tgg c 3'. Primer ini dirancang pada program IAEA ternak kambing di Indonesia oleh Muladno dkk. (Komunikasi pribadi). Adapun tahapan dalam proses PCR adalah sebagai berikut:

1. Semua larutan produk PCR dipindahkan ke tabung eppendorf 1.5 ml kemudian ditambahkan 5 volume buffer (5 x 25µl), kemudian di sentrifugasi sebentar ( $\pm 20$  detik) pada kecepatan 3000 rpm.
2. Transfer 150 µl campuran tersebut ke tabung *spin column* dan di sentrifugasi pada kecepatan 13 000 rpm selama 1 menit. Kemudian buang cairan yang terdapat didalam tabung koleksi (*collection tube*) dan dipasang kembali column.
3. Tambahkan 750 µl buffer PE 750 µl ke dalam column, kemudian sentrifugasi pada kecepatan 13 000 rpm selama 1 menit. Buang cairan yang terdapat di dalam tabung koleksi dan pasang kembali ke column. Letakkan kembali di dalam mesin sentrifugasi, dan sentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 14 000 rpm. Terakhir buang cairan sisa-sisa buffer PE.
4. Buang tabung koleksi dan ganti dengan tabung eppendorf 1.5 ml. Kemudian pasang column kembali ke tabung 1.5 ml eppendorf yang baru dipasang. Tambahkan 35 µl buffer EB, dengan cara langsung di tambahkan ke center membrane/column) Kemudian, sentrifugasi pada kecepatan 13 000 rpm, selama 1 menit. Setelah selesai, buang columnnya dan tutup 1.5 ml tabung eppendorf.
5. Produk PCR telah selesai dipurifikasi. Selanjutnya produk PCR tersebut diukur konsentrasinya dengan spektrofotometer dan di elektrofotesis.

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang memurnikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



## Sekuens fragmen D-loop

Produk PCR yang telah dipurifikasi, disekuens dengan menggunakan mesin sekuenser untuk mengetahui runutan sekuens nukleotida dengan tepat. *Direct sequencing* terhadap segmen *Hypervariabel 1 (HV1)* daerah D-loop dilakukan dengan menggunakan primer *15388Forward*. Kit *Cycle sekuensing* yang digunakan adalah *BigDye\* Terminator version 3.1* (Macrogen, Korea) dengan volume 20  $\mu$ l yang mengandung 20 ng produk PCR yang telah dipurifikasi sebagai template DNA dan 3.2 pmol primer. Pada setiap tabung reaksi PCR berisi *Big Dye terminator ready reaction mix* (campuran dNTP, ddNTP, buffer,  $\text{CaCl}_2$  dan  $\text{MgCl}_2$ ), 8  $\mu$ l air, 2  $\mu$ l forward atau reverse primer dan 2  $\mu$ l template dari sekuens fragmen D-loop.

Karakterisasi fenotip kualitatif dengan mengamati karakter fenotip sampel kambing terpilih, meliputi:

- 1) **Garis Muka:** dilihat dari samping dan diklasifikasikan ke dalam dua kelompok yaitu lurus dan cembung.
- 2) **Mata :** diklasifikasikan kedalam dua kelompok yaitu cembung (menonjol keluar) dan normal
- 3) **Ada tidaknya tanduk,** baik jantan maupun betina diklasifikasikan dalam dua kelompok yaitu tidak bertanduk dan bertanduk
- 4) **Garis punggung:** dilihat dari samping pada posisi berdiri normal, diklasifikasikan dalam tiga kelompok yaitu cembung, lurus dan cekung.
- 5) **Warna dasar dominan:** diklasifikasikan ke dalam kelompok yaitu putih, hitam, coklat, abu-abu dan kombinasi diantara warna.
- 6) **Kombinasi warna** diklasifikasikan ke dalam tiga kelompok yaitu satu warna, dua warna dan tiga warna
- 7) **Pola warna** diklasifikasikan ke dalam warna polos, bintik-bintik (speckle), bercak (belang) kecil, bercak (belang) besar, strip sempit dan strip besar.



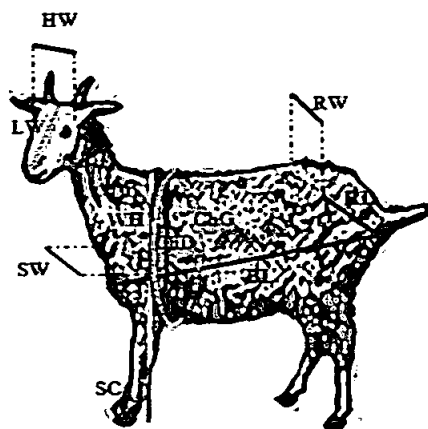
Karakterisasi fenotip kuantitatif dilakukan berdasarkan petunjuk Herrera *et al.* (1996) yaitu seperti pada Gambar 10 sebagai berikut:

- (1) *Withers height (HL)* atau Tinggi pundak : diukur dari titik tertinggi pundak sampai sampai tanah dengan menggunakan tongkat ukur dalam satuan cm
- (2) *Body Length (BL)* atau Panjang Badan : diukur dari tepi tulang processus spinococus sampai dengan benjolan tulang tapis/tulang duduk (*os ischium*), dengan menggunakan tongkat ukur dalam satuan cm.
- (3) *Shoulder point width (SW)* atau Lebar dada : diukur dari penonjolan sendi bahu (*os scapula*) kiri dan kanan, dengan menggunakan kaliper dalam satuan cm.
- (4) *Chest girth (ChG)* atau Lingkar dada: diukur melingkar rongga dada di belakang sendi bahu (*os scapula*) menggunakan pita ukur dalam satuan cm.
- (5) *Chest depth (ChD)* atau Dalam dada : diukur dari bagian tertinggi pundak sampai dengan dasar dada dalam satuan cm.
- (6) *Rump Length* atau (*RL*) Panjang Pinggul
- (7) *Rump width (RW)* atau Lebar Pinggul : diukur jarak antara pinggul kiri dan pinggul kanan dalam satuan cm.
- (8) *Head Length (HL)* atau Panjang Tengkorak: diukur jarak antara titik tertinggi sampai titik terdepan tengkorak dalam satuan cm.
- (9) *Head Widht (HW)* atau Lebar Tengkorak: diukur jarak antara titik penonjolan tengkorak kiri dan kanan menggunakan kaliper dalam satuan cm.
- (10) Bobot Badan (BB) : ditimbang pada pagi hari sebelum kambing diberi makan, dalam satuan kg.
- (11) *Shin circumference (SC)* atau Lingkar kanon/lingkar pipa : diukur melingkar ditengah-tengah tulang pipa kaki depan sebelah kanan, diukur dengan pita ukur dalam satuan cm.





- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Gambar 10 Cara pengukuran karakter fenotip kuantitatif.

Keterangan:

*Zometrical Variabels* (Herrera et al. 1996): *Withers height* (WH), *Chest depth* (ChD), *Body Length* (BL), *Shoulder point width* (SW), *Rump Length* (RL), *Rump width* (RW), *Head Length* (HL), *Head Width* (HW), *ChG* (*Chest girth*), *Shin circumference* (SC)

Mengetahui sifat pertumbuhan ternak kambing dilakukan seleksi kambing-kambing untuk dijadikan tetua dan dikelompokan berdasarkan umur dan jenis kelamin. Tetua yang berumur 1-1.5 tahun diberi kode I-2, kode I-4, I-6 dan I-8 masing-masing digunakan untuk tetua yang berumur 2-2.5, 3-3.5 tahun dan lebih dari 4 tahun. Dengan demikian ada 8 kelompok yaitu : J-2, J-4, J-6, J-8 dan B-2, B-4, B-6 dan B-8 (J = jantan, B = betina dan angka = kode umur). Hasil penimbangan ditabulasikan berdasarkan kedelapan kelompok dihitung rata-rata serta simpangan bakunya.

Hasil perhitungan nilai rata-rata dan simpangan baku (SB) dari bobot badan, maka setiap kelompok dibagi lagi atas dua anak kelompok berdasarkan seleksi individu yang dilakukan dalam kelompok umur dan jenis kelamin yaitu anak kelompok A untuk kelompok dengan berat badan diatas rata-rata dan B untuk kelompok dibawah rata-rata berat badan. Dengan demikian struktur dari pengelompokan ini adalah sebagai berikut:

Sub-Kelompok Jantan : J-2-A, J-4-A, J-6-A, J-8-A dan J-2-B, J-4-B, J-6-B, J-8-B

Sub-Kelompok Betina : B-2-A, B-4-A, B-6-A, B-8-A dan B-2-B, B-4-B, B-6-B, B-8-B



Diadakan penyilangan (perkawinan) yang tergabung dalam perkawinan setara antara sub-sub kelompok jantan dan betina dengan metode sebagai berikut:

- |                  |                  |
|------------------|------------------|
| 1. J-2-A x B-2-A | 2. J-2-B x B-2-B |
| 3. J-4-A x B-4-A | 4. J-4-B x B-4-B |
| 5. J-6-A x B-6-A | 6. J-6-B x B-6-B |
| 7. J-8-A x B-8-A | 8. J-8-B x B-8-B |

Memastikan bahwa anak yang dikandung benar-benar berasal dari jantan yang terpilih maka baik jantan dan betina ditempatkan dalam satu kandang yang sama selama tiga bulan setelah terlebih dahulu induk disterilkan dari jantan yang lain.

Seluruh turunan kambing diikuti pertumbuhan hariannya dengan cara menimbang mulai dari lahir sampai berumur 90 hari. Penimbangan dilakukan setiap bulan (30 hari) pada pagi hari sebelum diberi makan. Seluruh kambing yang diteliti diberi identitas berupa kalung leher yang diberi nomor. Sebagai kontrol juga diamati kambing-kambing yang melakukan perkawinan secara acak tanpa seleksi dengan memperhatikan rataan bobot badan dalam populasinya.

Menentukan pola pemuliaan dilakukan melalui diskusi terfokus untuk menentukan faktor-faktor yang berpengaruh terhadap kegiatan pemuliaan dengan memilih responden ahli. Kemudian faktor-faktor ini dilakukan bobot dengan menyebarkan kuesioner kepada responden terpilih dalam merumuskan pola pemuliaan ternak kambing yang paling cocok diantara pola yang ada dengan menggunakan proses analisis hirarki (*Analytical Hierarchy Process*) menurut Saaty (1983).

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumpulkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



## isis Data

ata karakteristik usaha peternakan kambing kacang maupun parameter-parameter untuk dinamika populasinya (struktur populasi, seks rasio, distribusi kelas umur, angka mortalitas, angka natalitas) ditabulasi silang dengan analisis tataan kemudian disajikan dalam bentuk deskriptif.

struktur populasi ternak kambing kacang dianalisis dengan menduga umur ternak melalui pengamatan terhadap pertumbuhan gigi serinya dengan merpedoman pada Tabel 16 di bawah ini:

Tabel 16 Pergantian gigi seri kambing

Umur	Gigi Seri yang berganti
Umur kurang dari 1 tahun	Gigi seri belum ada yang berganti
Umur 1 – 1.5 tahun	Gigi seri dalam (I1) berganti
Umur 1.5 – 2 tahun	Gigi seri tengah dalam (I2) berganti
Umur 2.5 – 3 tahun	Gigi seri tengah luar (I3) berganti
Umur 3 – 4 tahun	Gigi seri luar (I4) berganti atau semua (8) gigi seri telah berganti
Lebih dari 4 tahun	Gigi tetap aus dan mulai lepas

Sumber: Ensminger (2002).

## arakterisasi Kambing Kacang

Hasil pengamatan dari seluruh karakter fenotip kualitatif dihitung persentasinya, sehingga diperoleh karakter fenotip kualitatif yang dominan dari populasi kambing yang diamati. Untuk mendapatkan karakter fenotip kualitatif, nilai dari setiap karakter yang diperoleh dari hasil pengukuran dirata-rata dan standar deviasinya. Untuk menentukan jarak genetik digunakan fungsi diskriminan sederhana seperti yang dijelaskan oleh Herrera *et al.* (1996). Fungsi diskriminan yang digunakan melalui pendekatan sidik jari *alanobis* seperti yang dijelaskan oleh Nei (1987), dimana matrik ragam antar populasi dari masing-masing populasi kambing yang diamati digabung menjadi satu matrik.

Menghitung jarak kuadrat genetik digunakan rumus sesuai petunjuk Nei (1987) sebagai berikut :



$$D^2(i/j) = (X_i - X_j) \text{Cov}^{-1} (X_i - X_j)$$

rangan:

- ) = Nilai statistik *Mahalanobis* sebagai ukuran jarak kuadrat genetik antar dua populasi (populasi i terhadap populasi j).
- = Kebalikan matrik gabungan ragam peragam antar peubah.
- = Vektor nilai rata-rata pengamatan dari populasi kambing kacang i pada masing-masing peubah.
- = Vektor nilai rata-rata pengamatan dari populasi kambing j pada masing-masing peubah.

Membantu analisis statistik *Mahalanobis* digunakan paket program statistik SAS *release 6.03* dengan menggunakan *PROC.DISCIM*. Hasil perhitungan jarak kuadrat tersebut kemudian dianalisis lebih lanjut dengan program software MEGA (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) seperti yang diungkapkan oleh Kumar *et al.* (1993) untuk mendapatkan pohon fenogram. Teknik pembuatan pohon fenogram dilakukan dengan metode UPGMA (*Unweighted Pairwise Method with Arithmetic*).

Analisis *canonical* (Herrera *et al.* 1996) dilakukan untuk menentukan peta sebaran ternak kambing dan nilai kesamaan dan campuran di dalam dan antara populasi kambing. Analisis ini juga digunakan untuk menentukan pengaruh peubah dari ukuran fenotipik yang memiliki pengaruh kuat terhadap penyebab terjadinya pengelompokan populasi kambing. Prosedur analisis dengan menggunakan PROC CANDISC.

Data sekuens fragmen D-loop mitokondria DNA kambing dianalisis dengan menggunakan berbagai program software genetik seperti:

- a) *Chromas* digunakan untuk *viewing* dan *editing* hasil sekuens.
- b) *Multiple alignment* sekuens digunakan program *ClustalX* ver.1.83 (Thompson *et al.* 1997; yang diperoleh dari <ftp://ftp-igbmc.u-strasbg.fr/pub/CulstalX>)
- c) Untuk penentuan *polymorphic sites* digunakan program *MacClade 4.0* yang tersedia pada <http://ag.arizopna.edu/macclade/macclade.html>).



- d) *Distance* dan *Phylogenetic* digunakan program *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA) *version* 3.1 (Kumar *et al.* 2004, tersedia pada <http://www.megasoftware.net/>)
- e) Untuk diversitas haplotype diilustrasikan dengan menggunakan analisis Network yaitu program NETWORK 4.1.0.8 (Bandelt *et al.* 1999).

© **Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)** **1** aju Reproduksi Induk (LRI) dihitung dengan menggunakan rumus:

$$LRI = \text{rata - rata jumlah anak sekelahiran (ekor)} \frac{365 \text{ hari}}{\text{selang beranak (hari)}}$$

2. Mendapatkan gambaran pola pertumbuhan kambing dianalisis secara statistik sebagai berikut:

- 1.1. Pertumbuhan dari masing-masing kelompok anak didekati dengan tiga jenis fungsi yaitu:

$$\text{Fungsi linier : } \hat{Y} = a + bX$$

$$\text{Fungsi eksponensial: } \hat{Y} = ab^X$$

$$\text{Fungsi kuadratik : } \hat{Y} = a + bX + cX^2$$

dimana peubah bebasnya adalah umur sedangkan peubah tak bebasnya adalah bobot badan. Pendekatan ini dilakukan berdasarkan pengamatan kurva pertumbuhannya, kemudian ditentukan jenis fungsi yang paling tepat untuk mengkaji pola pertumbuhannya.

2. Mengetahui efek pengelempokan atas sub-kelompok, atau dengan kata lain efek dari perkawinan tetua yang telah mengalami seleksi massa, maka diadakan pengujian dengan sidik ragam dan diteruskan dengan pengujian terhadap pasangan rataan seperti A-2 dengan Kontrol, B-2 dengan Kontrol dan seterusnya, baik pada anak jantan maupun betina. Pengujian ini dilakukan pada bobot badan dari umur 0 hari 30, 60, 90 dan 120 hari. Setelah itu dilakukan uji lanjut dengan prosedur *Duncan* (Steel and Torrie 1980) dengan tahapan sebagai berikut:

Tahapan 1 : Menentukan nilai BNT (Beda Nyata Terkecil)

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang memurnikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.





$$BNT\alpha = t_{\alpha(v)}.S_d^-$$

Tahapan 2 : Menentukan nilai jarak terdekat Duncan (JNTD)

$$JNTD\alpha = R_{\alpha(p.v)} \frac{BNT\alpha}{\sqrt{2}} = R_{(p.v)}(t.S_y^-)$$

di mana :  $R_{\alpha(p.v)}$  = nilai baku faktor R (range) pada taraf uji  $\alpha$  jarak P (=part) dan derajat bebas galat v

3. Dilakukan analisis terhadap penambahan bobot harian dari setiap kelompok anak yang berasal dari semua kelompok persilangan dengan rumus (Devendra 1966) :

$$PBBH = \frac{BB_{akhir} - BB_{awal}}{\text{Interval waktu penimbangan}}$$

Dimana : PBBH = Pertambahan Bobot Badan Harian

$BB_{akhir}$  = Bobot Badan Akhir

$BB_{awal}$  = Bobot Badan Awal

Merumuskan pola pemuliaan ternak kambing di Maluku Utara dilakukan dengan Proses Hierarki Analitik (PHA). Langkah-langkah yang ditempuh dalam analisis ini adalah : 1) Penilaian kriteria dan alternatif, yaitu dilakukan melalui perbandingan berpasangan dari masing-masing kriteria dan alternatif dengan menggunakan skala 1 sampai 9 untuk mengekspresikan pendapat. Kriteria berdasarkan diskusi terfokus yang berkontribusi terhadap program pemuliaan meliputi (1) sumberdaya manusia, (2) sumberdaya ternak, (3) tujuan pemuliaan, (4) seleksi dan breeding, (5) infrastruktur, (6) sosial budaya, (7) pasar, dan (8) parameter genetik. Nilai dan defenisi pendapat kualitatif dari skala perbandingan Saaty (1983) dapat dilihat pada Tabel 17.



Tabel 17 Skala perbandingan Saaty

Nilai	Keterangan
1	Kriteria/Alternatif A sama penting dengan Kriteria/Alternatif B
3	A Sedikit lebih penting dari B
5	A Jelas lebih penting dari B
7	A sangat jelas lebih penting dari B
9	Mutlak lebih penting dari B
2,4,6,8	Apabila ragu-ragu antara dua nilai yang berdekatan

Penentuan prioritas, untuk setiap kriteria dan alternatif perlu dilakukan perbandingan berpasangan (*pairwise comparisons*). Nilai-nilai perbandingan tersebut kemudian diolah untuk menentukan peringkat relatif dari seluruh alternatif. Baik kriteria kualitatif, maupun kuantitatif dapat dibandingkan sesuai dengan pertimbangan-pertimbangan yang telah ditentukan untuk menghasilkan bobot dan prioritas. Bobot dan prioritas ini dihitung dengan manipulasi matriks melalui penyelesaian persamaan matematik dengan langkah sebagai berikut:

Langkah 1:

$$W_j = a_{ij} \quad (ij = 1, 2, \dots, n)$$

mana :  $W_i$  = bobot input dalam baris

$W_j$  = bobot input dalam lajur

Langkah 2:

$$W_i = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n a_{ij} W_j \quad (i = 1, 2, \dots, n)$$

mana :  $W_i$  = rata-rata dari  $a_{i1}W_1, \dots, a_{in}W_n$

Langkah 3:

perkiraan  $a_{ij}$  baik akan cenderung untuk dekat dengan nisbah  $W_i/W_j$ . Jika  $n$  berubah maka  $n$  diubah menjadi  $\lambda_{maks}$  sehingga diperoleh:

$$W_i = \frac{1}{\lambda_{maks}} \sum_{j=1}^n a_{ij} W_j \quad (i = 1, 2, \dots, n)$$