

VARIASI SEKUEN DNA MITOKONDRIA PADA (*Equus caballus*)¹⁾Romi Zamhir Islami, ²⁾Muladno dan ²⁾Cece Sumantri¹⁾Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran²⁾Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor**Abstrak**

Kebijakan genetik untuk meningkatkan kuda lokal Indonesia dengan kuda Thoroughbred telah dilakukan lebih dari 30 tahun yang lalu dan sekarang saatnya kita membutuhkan ulasan atas kebijakan tersebut. Penelitian ini didesain untuk mengevaluasi database mengenai genetik kuda pacu. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa berdasarkan analisis DNA diketahui bahwa kuda lokal Indonesia tidak memiliki sekuens spesifik pada gen 12 S RNA atau memiliki situs yang konservatif. Kuda lokal Indonesia memiliki kekerabatan yang sangat dekat dengan kuda lokal jeju dari Korea. Sedangkan keturunan kuda G4 secara genetik sangat erat dengan kuda Thoroughbred dibuktikan dengan keberadaannya yang memiliki satu kluster.

Kata kunci : dna mitokondria, 12 s RNA, kuda

Abstract

The genetic policy to up grade the Indonesian native horse with Thoroughbred horse has been done 30 years ago until now and it was needed to review that policy. The research was designed to evaluate the database about genetic. The result of this research showed that Indonesian horse didn't have any specific sequens on 12 S RNA gens. Indonesia lokal horse have relationship with Korean horse. The G4 (generation 4) horse in genetic very similar with Thoroughbred horse.

Key words : mitchondria dna, 12 s RNA, horse

Pendahuluan

Sistem Persilangan yang dilakukan untuk membentuk kuda pacu Indonesia (KPI) adalah dengan melakukan upgrading kuda local dengan kuda Thoroughbred. Persilangan ini diakhiri setelah terbentuknya keturunan ke-3 dan keturunan ke-4. Dari keturunan yang dihasilkan tersebut lalu dilakukan perkawinan antar sesamanya (interse mating) dan terus dilakukan program seleksi sampai terbentuknya KPI saat ini. KPI yang terbentuk ini di buat standarisasinya dengan diterbitkannya SNI 01-4226-1996. Dinamisme dunia perkudaan di Indonesia menuntut segala perbaikan disemua lini, salah satunya adalah permasalahan genetik terutama menyangkut pemuliabikan KPI kedepannya. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari potensi dan mengidentifikasi genetic KPI yang dikembangkan di Indonesia terutama dengan pendekatan molekuler

Tabel 1. Informasi primer DNA mitokondria

No	Primer	Sekuens primer (5'-3')
1	L1091 (12 S forward)	5' AAAAGCTTCAACTGGGATTAGATAC 3'
2	H1478 (12 S revers)	5' TGA CTGCAGAGGGTGACGGGCGGTGT 3'

Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Genetika Hewan Puslitbang Biologi LIPI dan Laboratorium Teknologi Gen Puspitek Serpong. Kegiatan ini dilaksanakan dari bulan Juli 2005 sampai Juni 2006. Materi yang digunakan merupakan 4 sampel kuda yang terdiri dari satu kuda lokal, kuda keturunan ke 4 (G4), Kuda Pacu Indonesia (KPI) dan kuda Thoroughbred. Proses yang dilakukan adalah proses isolasi DNA, proses PCR (polimerase chain Reaction), elektroforesis serta sekuensing

menggunakan bantuan mesin sekuensing ABI 3130 Genetic analyser. Informasi primer pengapit dna mitokondria untuk sekuensing disampaikan pada Tabel 1.

Analisis yang dilakukan dengan terlebih dahulu mengidentifikasi nama dan symbol gen yaitu 12 s RNA dan Cty B ke situs Genbank www.ncbi.nlm.nih.gov (national center of biotechnology) setelah itu dilakukan aplikasi blastn untuk mengidentifikasi kesamaan gen dengan data genbank. Output tersebut menghasilkan jumlah kecocokan dan juga detail pensejajaran. Tanda | menunjukkan kecocokan, tanda (-) menunjukkan gap dan tanda () atau kosong menunjukkan ketidakcocokan. Selanjutnya database yang didapat dibuat pohon kekerabatan genetic dengan bantuan aplikasi *tree view*.

Nilai homologi gen dihitung dengan persamaan dibawah ini

$$P = nd/n, \text{ (Nei dan Kumar 2000)}$$

Keterangan :

P = proporsi basa nukleutida yang berbeda

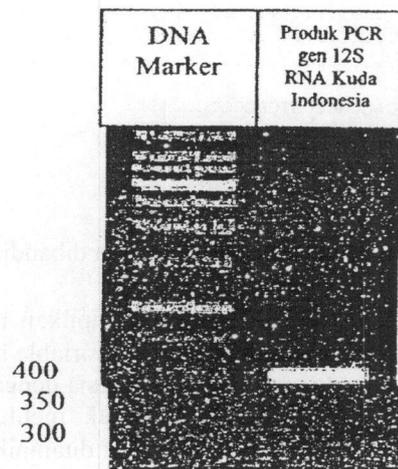
nd = jumlah basa yang berbeda

n = total jumlah basa

Analisis pembentukan pohon kekerabatan untuk pensejajaran antar gen hasil sekuensing menggunakan program Mega 3.1 dengan system UPGMA (unweight pair group method average) dengan model kimura 2 pairware dan partial deletion pada menu phlogeny.

Hasil dan Pembahasan

Segmen dari DNA mitokondria kuda lokal Indonesia pada penelitian ini coba di amplifikasi yaitu bagian 12 S RNA dengan primer 12S. Hasil PCR dengan primer 12 S telah dielektroforesis dan hasilnya ditampilkan pada gambar dibawah ini.



Gambar 1. Hasil Elektroforesis hasil PCR gen 12 S RNA pada kuda local Indonesia

Berdasarkan hasil elektroforeisis pada gambar diatas diketahui bahwa DNA yang teramplifikasi menggunakan primer 12S dengan jumlah basa pada range marker 400 bp. Hasil PCR tersebut kemudian disekuensing dan hasilnya menunjukkan bahwa ternyata hasil PCR tersebut tersekuen sebanyak 419 bp dengan , komposisi basa nukleutida T = 20,4%, C = 26%, A= 34,4% dan G = 19,1%.

Hasil dari sekuens dari 12 S RNA kemudian di alignment dengan program blast dengan menggunakan pembandingan sekuens 12 S RNA dari kuda lokal korea, kuda Australia, serta kuda dari luar negeri (LN 1) dengan kode genbank AY012147, serta kuda luar negeri ke-2 (LN 2) dengan kode genbank U02581. Hasil blast tersebut disampaikan pada Gambar 2.

Kuda Ind	27	AAAGCTATTCGCCAGAGTACTACTAGCAACAGCCTAAAACCTCAAAGGACTTGCGGGTGC	85
Kuda Korea	550	608
Kuda Aus	550	608
AY012147(LN1)	478	536
U02581(LN2)	34	92
Kuda Ind	86	TTTACATCCCTCTAGAGGAGCCTGTTCCATAATCGATAAACCCCGATAAACCCACCATC	145
Kuda Korea	609	668
Kuda Aus	609	668
AY012147(LN1)	537	596
U02581(LN2)	93	152
Kuda Ind	146	CCTTGCTAATTCAGCCTATATACCGCCATCTTCAGCAAACCTAAACAAGGTACCGAAGT	205
Kuda Korea	669	728
Kuda Aus	669	728
AY012147(LN1)	597	656
U02581(LN2)	153	212
Kuda Ind	206	AAGCACAAATATCCAACATAAAAAACGTTAGGTCAAGGTGTAGCCCATGGGATGGAGA	262
Kuda Korea	729	785
Kuda Aus	729	785
AY012147(LN1)	657	713
U02581(LN2)	213C.....	269
Kuda Ind	263	GAAATGGGCTACATTTTCTACCCTAAGAACAAGAAGTTTAAACCCGGACGAAAGTCTCCAT	322
Kuda Korea	786	845
Kuda Aus	786	845
AY012147(LN1)	714	773
U02581(LN2)	270	329
Kuda Ind	323	GAAACTGGGAGACTAAAGGAGGATTTAGCAGTAAATTAAGAATAGAGAGCTTAAATTGAA	380
Kuda Korea	846	903
Kuda Aus	846	903
AY012147(LN1)	774	831
U02581(LN2)	330G.....	387
Kuda ind	381	TCAGGCCATGAAGCGCGCACACCCGCCGTCACCCCTC	418
Kuda Korea	904	941
Kuda Aus	904	941
AY012147(LN1)	832	869
U02581(LN2)	388	405

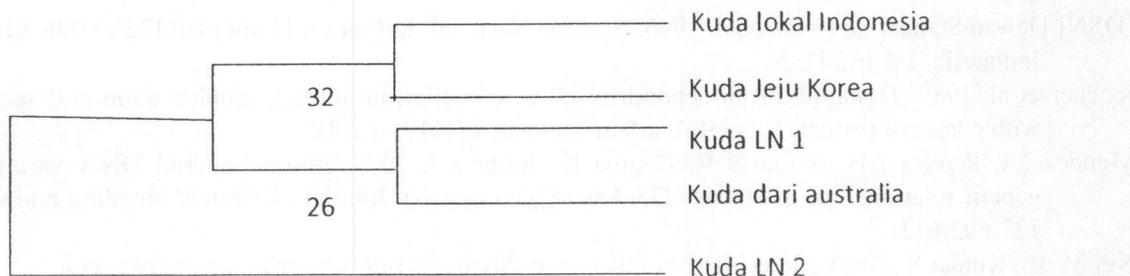
Gambar 2. Hasil blast sekuens 12 S RNA kuda Indonesia dibandingkan kuda lain.

Berdasarkan hasil blast terhadap kuda local Indonesia yang ditampilkan pada gambar 2 menunjukkan bahwa situs atau motif konservatif ditemui disemua sekuens. Situs variable hanya ditemui pada kuda LN 2. Berdasarkan situs konservatif dan situs variable pada kuda Indonesia dengan menggunakan 12 S RNA, ternyata tidak dapat dijadikan penanda genetik yang baik untuk melihat kespesifikan kuda lokal Indonesia. Hasil perhitungan jarak genetic dari ke lima kuda tersebut ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 1. Nilai jarak genetic kuda Indonesia menggunakan 12 S RNA dengan data genbank

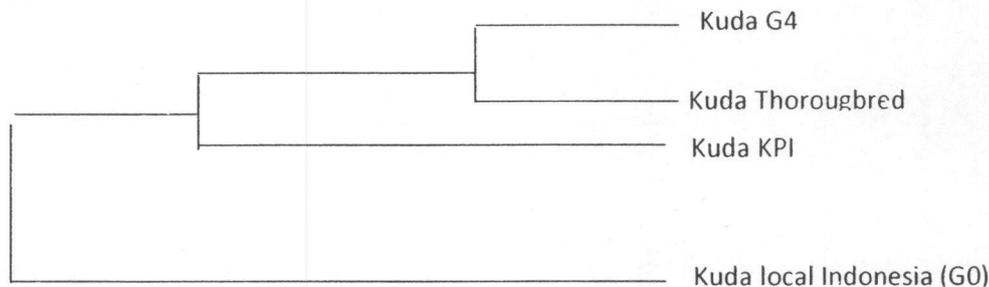
Kode kuda	Kuda Indonesia (1)	Kuda Jeju Korea (2)	Kuda LN 1 (3)	Kuda Australia (4)	Kuda LN 2 (5)
1	-	-	-	-	-
2	0,00000	-	-	-	-
3	0,00000	0,00000	-	-	-
4	0,00000	0,00000	0,00000	-	-
5	0,00541	0,00541	0,00541	0,00541	-

Berdasarkan Table 1 diketahui bahwa kuda Indonesia dibandingkan dengan kuda Korea, Kuda LN 1 dan kuda dari Australia memiliki jarak genetik yang sangat dekat. Jarak genetik yang cukup jauh terdapat pada kuda LN 2. Berdasarkan jarak genetik tersebut kemudian dibuat sebuah pohon filogenetik yang disampaikan pada gambar 3.



Gambar 3. Pohon filogenetik kuda Indonesia dengan data genbank

Berdasarkan pohon filogenetik di atas diketahui bahwa kuda Indonesia mempunyai cluster yang sama dengan kuda Jeju Korea, serta memiliki kekerabatan yang erat dengan kuda Australia dan LN 1 1, tetapi dengan kuda LN 2 mempunyai cluster yang berbeda. Kuda lokal Indonesia tersebut kemudian *di-alignment* dan dibuat sebuah pohon filigenetik yang dibandingkan dengan kuda Thoroughbred, Kuda keturunan ke-4 kuda persilangan kuda Indonesia dengan kuda Thoroughbred (G4) serta dibandingkan dengan kud pacu Indonesia (KPI). Pohon filogenetik perbandingan tersebut ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 4 Filogenetik kuda local (G0) dengan KPI, Kuda Thoroughbred, Kuda G4

Berdasarkan pohon filogenetik pada gambar 4 diketahui kuda G0 memiliki kekerabatan yang dekat dengan KPI dan mempunyai kekerabatan yang cukup jauh dengan kuda Thoroughbred dan kuda G\$

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa berdasarkan analisis DNA diketahui bahwa kuda lokal Indonesia tidak memiliki sekuen spesifik pada gen 12 S RNA atau memiliki situs yang konservatif. Kuga lokal Indonesia memiliki kekerabatan yang sangat dekat dengan kuda lokal jeju dari Korea, sedangkan keturunan kuda G4 secara genetic sangan erat dengan kuda Thoroughbred dibuktikan dengan keberadaannya yang memiliki satu kluster.

Daftar Pustaka

Anderson, et.al. 1981. Sequence and the organization mitochondrial genom. Nature. 290:457-465.

- Aripin AY. 2004. Analisa homologi gen penyandi kode genetic sifat-sifat produksi pada ternak sa[I, domba dan kambing (tesis). Bogor : Sekolah pascasarjana. Institut Pertanian bogor.
- Bowling AT, Ruvinski A. 2000. Genetic aspect of domestication breed and the origine. Didalam : Bowling AT, Ruvinsky A. editor. The Genetic of horse. New York : Cabi Publishing. Hlm 171-242.
- [DSN] Dewan Standarisasi Nasional. 1996. Standar Nasional Indonesia Nomor 01/4226/1996 Kuda Pacu Indonesia. Jakarta DSN.
- Kocher et al. 1989. Dynamic of mitochondrial DNA evolution in animal: amplification and sequencing with conserve primer. Natural Academy science 86:6196-6200.
- Mendez JA, Pereira AB, Avelanet R, Dzama K, Jordana J. 2004. mitonchondrial DNA variation and genetic relationships in Spanish Donkey (*Equss asinus*). Journal of Animal breeding and Genetics 121:602-611.
- Nei M dan Kumar S. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press.
- Soeharjono O. 1990. Kuda. Jakarta: Yayasan Pamulang Equestrian Center.