KERAGAMAN GENETIK SAPI PERANAKAN ONGOLE (PO) BERDASARKAN UJI DNA MIKROSATELIT

Satriani, N.[1], A. Farajallah[1] & Muladno[2]
[1]*Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB*
[2]*Jurusan Ilmu Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, IPB*
(Diterima 03-06-2002; disetujui 07-10-2002)

ABSTRACT

Recently, microsatellite DNA is often used as a marker for studying the genetic variability. DNA microsatellite is a tandemly repeated sequence abundantly present in the present eukariotic genome. In the present study, six microsatellite loci were used to asses the level of genetic variability among populations of PO cattle. Heterozigosity value (É), average heterozigosity (Ç) and population genetic variation of four different subpopulation were calculated and compared. The genetic distances and the differences between subpopulation were calculated to understand the degree of gene differentiation among subpopulation. In addition, the fixation indices were estimated to understand the breeding structure of population or the pattern of selection associated with polymorphic alleles.

The result showed that PO cattle population exhibited the high genotype variation and high heterozygosity. The average heterozigosity of four subpopulation were 0,505-0,606. DNA microsatellite of PO cattle is found polymorphic. Among population, there was found any genetic differentiation (GST = 37,1%) because they were not *cross breeding* between subpopulation (FST = 0,3841) and genetic distances were 0,242-0,767.
Keyword: microsatellite.

PENDAHULUAN

Sapi Peranakan Ongole (PO) mempunyai ciri-ciri morfologi tubuh besar dan panjang dengan punuk yang besar; warna kulit putih daerah sekitar kepala, leher, lutut dan ekor berwarna abu-abu gelap atau hitam pada jantan; gelambir terdapat mulai dari bawah leher mamanjang sampai perut. Selain mempunyai keunggulan mudah beradaptasi dengan lingkungan yang berbeda, sapi PO juga berbadan kuat dan bertenaga besar (Sumadi, 1985). Sapi PO merupakan hasil persilangan antara sapi Ongole dengan sapi lokal Jawa, sedangkan sapi Ongole merupakan sapi domestikasi golongan sapi Zebu (berpunuk) yaitu golongan *Bos indicus* (Payne, 1970).

Sebagai sapi pedaging, sapi PO mempunyai daging yang tebal dan tidak banyak mengandung lemak sehingga lebih disukai oleh masyarakat. Untuk mempertahankan dan meningkatkan sapi PO perlu dilakukan berbagai kegiatan, misalnya inseminasi buatan, kawin silang antar bibit unggul, pengaturan ransum dan rekayasa genetika. Semua kegiatan di atas pada umumnya harus didahului dengan tersedianya informasi dasar berupa keragaman sifat, penyebaran dan berbagai database karakter produksi lainnya.

Pada saat ini DNA mikrosatelit banyak digunakan sebagai penanda molekuler untuk mendukung efektivitas pemuliaan ternak, meliputi kegiatan dalam identifikasi ternak, penetapan asal-usul keturunan, penggalian sumber-sumber genetik (Ciampolini *et al.* 1995; Muladno, 2000) dan menjadi penanda molekuler penting dalam analisis genetik pada beberapa sapi (Moore *et al.*, 1992; Ciampolini *et al.*, 1995). Selain itu DNA mikrosatelit juga populer dalam pengenalan spesies antar golongan mamalia, sidik jari DNA dan usaha konservasi.

DNA mikrosatelit merupakan rangkaian molekul DNA pendek yang susunan basanya berulang (Jeffreys *et al.*, 1991). Panjang DNA mikrosatelit dapat berubah karena adanya proses yang dikenal dengan *slipped strand mispairing* yang disebabkan adanya nukleotida berulang (Valdes *et al.*, 1993).

Laju evolusi yang cepat dari DNA mikrosatelit lebih disebabkan oleh perubahan jumlah basa berulang yang mengalami penambahan atau pengurangan dibandingkan dengan perubahan pada urutan basa, yang bisa mencapai 10^{-2} setiap generasi (Jeffreys *et al.*, 1991). Lebih lanjut disebutkan bahwa DNA mikrosatelit memiliki keraman yang tinggi dengan heterozigositas yang tinggi pula, seperti pada kuda (Ellegren *et al.*, 1992), domba (Moore *et al.*, 1992), sapi di Italia (Ciampolini *et al.*, 1995) dan babi (Muladno, 2000).

Motif nukleotida berulang pada DNA mikrosatelit memiliki tipe mono-, di-, tri-, dan tetranukleotida dalam bentuk tandem atau kopi berdampingan (Ellegren *et al.*, 1992). DNA mikrosatelit juga dikenal dengan *simple sequence repeats* (SSR) (Valdes *et al.*, 1993), *simple sequence length polymorphism* (SSLPs) (Schlotterer *et al.*, 1991 *dalam* Avise, 1994) dan *short tandem repeats* (STRs) (Avise, 1994).

Analisis DNA mikrosatelit biasa dilakukan dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dalam reaksi PCR terjadi perbanyakan secara *in vitro* daerah nukleotida berulang menggunakan pemancing sepasang oligonukleotida spesifik yang disebut primer (Saiki *et al.*, 1988 dalam Ellegren *et al.*, 1992). Primer ini biasanya dibuat untuk bisa menempel pada susunan yang mengapit bagian basa berulang sehingga proses PCR bisa berjalan dengan relatif mudah (O'brien *et al.*, 1999). Produk PCR DNA mikrosatelit menggunakan sepasang primer diasumsikan sebagai satu lokus dan penetapan alelnya berdasarkan jumlah ulangan yang terdapat di dalamnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya keragaman genetik populasi ternak sapi PO menggunakan penanda molekuler DNA mikrosatelit.

MATERI DAN METODE

Asal Sampel Daging Sapi PO

Sampel daging sapi PO diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) Kodya Bogor. Sapi potong berasal dari empat lokasi, yaitu Madiun (7), Kudus (15), Pekalongan (17) dan Lampung (5). Jenis kelamin semua sampel adalah jantan.

Kondisi PCR

DNA diekstraksi dari daging mengikuti standar Sambrook *et al.* (1989) dengan sedikit modifikasi. Daging seberat 50 mg dimasukkan ke dalam larutan sarkosil-EDTA (SE) 10% sebanyak 300µl, kemudian digunting halus di dalam tabung 1,5 ml. Setelah itu ke dalam tabung dimasukkan 10µl NaCl 5 M dan 40µl proteinase-K 10 mg/ml, lalu dikocok pelan pada suhu 55°C selama dua jam.

Ekstraksi DNA dilanjutkan dengan metode Fenol (Sambrook *et al.*, 1989) yaitu dengan menambahkan 1/10x volume NaCl 5 M, 1x volume Fenol dan 1x volume CIAA (kloroform : isoamilalkohol=24:1). Fase DNA dipisahkan dari fase fenol dengan cara sentrifugasi 3500 rpm selama 5 menit. DNA kemudian dimurnikan dengan menambah 1/10x volume NaCl 5 M dan 2x volume etanol absolut. Setelah diinkubasi minimal dua jam, DNA diendapkan dengan sentrifugasi 8000 rpm selama 5 menit. Endapan DNA dicuci dengan etanol 70% kemudian disuspensikan dengan larutan TE (Tris-EDTA pH 8,0) dan disimpan dalam lemari es.

Kualitas DNA kemudian diuji dengan teknik elektroforesis gel agarosa 0,5% yang dilanjutkan dengan pewarnaan EtBr (Sambrook *et al.*, 1989).

Kondisi PCR dan Analisis Keragaman Genetik

DNA mikrosatelit diperbanyak secara *in vitro* dengan mesin PCR menggunakan enam pasang primer, yaitu HEL 1, INRA 032, INRA 037, ETH 3, ETH 10 dan ETH 225. Mesin PCR yang digunakan adalah *TaKaRa PCR Thermal Cycler MP4*. Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 12,5µl yang terdiri dari 2µl DNA cetakan (50-100 ng), 1,25µl 10x bufer polimerase, 1µl $MgCl_2$ 25 mM, 1µl campuran dNTP 2mM, 0,5µl sepasang primer masing-masing 200 ng/µl, 0,25µl *ampi Tag Gold* 5 unit/µl dan 6,5µl air steril. Kondisi PCR didesain untuk semua primer, yaitu diatur sebagai berikut: denaturasi 94°C - 5 menit; (denaturasi 94°C - 30 detik, penempelan primer 55°C - 30 detik, pemanjangan 72°C - 60 detik) x 33 siklus, pemanjangan akhir 72°C - 10 menit dan penyimpanan 4°C sampai mesin dimatikan.

Pendeteksian alel DNA mikrosatelit produk PCR dilakukan dengan teknik elektroforesis gel poliakrilamida 6%. Dilanjutkan dengan teknik pewarnaan perak (Tegelstrom, 1987). Pita-pita DNA yang muncul di atas gel poliakrilamida kemudian diskoring sebagai alel.

Pita DNA yang bermigrasi paling cepat pada suatu lokus disebut alel a, kemudian berturut-turut adalah alel b, c dan seterusnya.

Analisis Data Polimorfisme

Frekuensi alel tiap lokus dalam satu subpopulasi dihitung sebagai:

$$x_i = (2n_{ii} + \Sigma nii)/(2N)$$

x_i = frekuensi alel ke-I
n = jumlah alel
N = Jumlah sampel

Dengan asumsi bahwa semua genotipe lokus-lokus mikosatelit bersifat kodominan.

Nilai heterozigositas merupakan ukuran keragaman genetik. Dugaan nilai heterozigositas dihitung mengikuti Nei (1987) sebagai berikut:

$$\hat{h} = 2n(1-\Sigma x_i^2)/(2n-1)$$

$\hat{h}$ = heterozigositas
n = jumlah sampel

Ragam nilai heterozigositas dinyatakan sebagai:

$V_{s1}(\hat{h}) = A\{BC + D\}$
A $= 2/2n(2n-1)$
B $= 2(2n-2)$
C $= \Sigma x_i^3 - (\Sigma x_i^2)^2$
D $= \Sigma x_i^2 - (\Sigma x_i^2)^2$

Rataan heterozigositas dari semua lokus yang diuji pada tiap subpopulasi dihitung dengan:

$\hat{H} = \Sigma \hat{h}_j / r$

$\hat{h}_j$ = heterozigositas lokus ke-j
r = jumlah lokus yang diuji

Struktur populasi sapi PO digambarkan melalui keragaman genetik keseluruhan populasi (H_T), keragaman genetik dalam subpopulasi (H_S) dan keragaman genetik antar subpopulasi (D_{ST}). Nilai-nilai di atas kemudian digunakan untuk menentukan koefesien diferensiasi genetik (G_{ST}).

$H_S = 1 - J_S$
$H_T = 1 - J_T$

Dengan J_S dan J_T adalah:

$J_S = \Sigma J_{k/S} = \Sigma x_i^2$; $J_T = \Sigma x_i^2$
$J_k = \Sigma x_{ki}^2$
$D_{ST} = H_T - H_S$
$G_{ST} = D_{ST}/H_T$

x_{ki} = frekuensi alel semua populasi
x_i = rata-rata frekuensi alel

Selain itu, diferensiasi populasi juga dinyatakan sebagai jarak genetik baku Nei (Nei, 1987), yaitu:

$D = I_n [J_{XY}/(J_X J_Y)^{1/2}]$

J_X, J_Y = rataan frekuensi alel kuadrat pada populasi X dan Y berdasarkan jumlah lokus
J_{XY} = Rataan frekuensi x dan y berdasarkan jumlah lokus yang diuji

Struktur kawin dari populasi yang diuji dapat diketahui dengan indeks fiksasi atau dikenal juga dengan uji F-statistik. Indeks fiksasi tersebut terdiri dari tiga parameter yaitu F_{IS}, F_{IT} dan F_{ST}, ketiganya diperoleh dari persamaan sebagai berikut:

$F_{IS} = X_{ii} - x_i^2/x_i - x_i^2$
$F_{IT} = X_{ii} - x_i^2/x_i - x_i^2$
$F_{ST} = x_i^2 - x_i^2/x_i - x_i^2$
X_{ii} = frekuensi genotipe homozigot
X = rataan frekuensi genotipe homozigot
x_i = rataan frekuensi alel yang sama pada empat subpopulasi
x_i^2 = rataan frekuensi alel yang telah dikuadratkan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi PCR

Kondisi PCR untuk semua primer yang digunakan dalam penelitian ini berhasil memperbanyak secara *in vitro* DNA mikrosatelit pada sapi PO. Kondisi PCR terhadap lokus HEL 1 dan INRA 037 berhasil untuk semua sampel, tetapi untuk lokus INRA 032, ETH 3, ETH 10 dan ETH 225, tidak semua sampel terdeteksi dengan baik. Hal ini dapat disebabkan penempelan primer pengapit mikrosatelit yang tidak berpasangan secara tepat, sehingga perbanyakan secara *in vitro* tidak terjadi. Selain itu juga dapat disebabkan kondisi PCR yang digunakan tidak sesuai untuk individu tersebut, sehingga perbanyakan secara *in vitro* tidak berjalan.

Keragaman Genetik Subpopulasi

Keenam lokus mikrosatelit yang berhasil diperbanyak secara *in vitro* bersifat polimorfik. Hal tersebut berbeda dengan yang dihasilkan oleh Winaya (2001), dari 16 lokus sapi PO yang dideteksi terdapat satu lokus yang monomorfik yaitu lokus INRA 037.

Setiap lokus mempunyai genotipe dari satu sampai enam dengan rata-rata genotipe adalah empat macam. Lokus yang mempunyai enam macam genotipe adalah lokus ETH 3 dan ETH 225, sedangkan lokus yang hanya mempunyai satu macam genotipe adalah lokus ETH 10. Dilihat dari macam genotipe yang dihasilkan, setiap lokus mempunyai jumlah alel bervariasi antara dua sampai lima. Rata-rata jumlah alel per lokus adalah empat macam. Jumlah alel sebanyak lima macam ditemukan pada lokus INRA 037, ETH 3 dan ETH 225. Jumlah alel terendah terdapat pada lokus ETH 10 yaitu dua alel.

Sebaran genotipe pada empat subpopulasi yaitu Madiun, Kudus, Pekalongan dan Lampung beragam. Dari empat subpopulasi tersebut, Pekalongan mempunyai macam genotipe yang paling beragam, sedangkan genotipe yang dimiliki Lampung dan Madiun kurang beragam.

Dari beberapa macam genotipe yang terdapat pada tiap lokus, genotipe tertentu hanya ditemukan dalam satu populasi. Macam genotipe AC lokus HEL 1 tidak ditemukan pada Pekalongan, macam genotipe AA lokus INRA 032 hanya di subpopulasi Pekalongan tetapi AC tidak ditemukan di Lampung. Sedangkan macam genotipe CE lokus ETH 225 hanya ditemukan pada subpopulasi Kudus. Distribusi genotipe dan alel tiap lokus pada empat subpopulasi disajikan pada **Tabel 1** dan **Tabel 2**.

Tabel 1. Distribusi genotipe dan alel tiap lokus

Lokus	N	Genotipe	Jumlah Genotipe	Alel	Jumlah Alel
HEL 1	44	AC, BB, CC	3	a, b, c	3
INRA 032	29	AA, AC, BB, BD	4	a, b, c, d	4
INRA 037	44	AA, AD, BB, CC, CE	5	a, b, c, d, e	5
ETH 3	43	AA, AB, BB, BD, CC, CE	6	a, b, c, d, e	5
ETH 10	27	AB	1	a, b	2
ETH 225	42	AD, BB, BD, CC, CD, CE	6	a, b, c, d, e	5

Tabel 2. Distribusi genotipe tiap lokus pada empat subpopulasi

Lokus	Madiun		Kudus		Pekalongan		Lampung	
	Genotipe	Jumlah Alel	Genotipe	Jumlah Alel	Genotipe	Jumlah Alel	Genotipe	Jumlah Alel
HEL 1	AC, BB	3	AC, BB, CC	3	BB, CC	2	AC, CC	2
INRA 032	AC	2	AC, BD	4	AA, AC, BB, BD	4	BD	2
INRA 037	CE	2	AD, CC, CE	4	AA, AB, CC, CE	4	AA, CC	2
ETH 3	BB, BD, CE	4	BB, BD, CC	3	AA, AB, BB, BD	3	BB, BD	2
ETH 10	AB	2	AB	2	AB	2	AB	2
ETH 225	BD, CD	3	BD, CC, CE	4	AD, BD, CD	3	BB, BD	2

Terjadi keragaman DNA mikrosatelit diduga disebabkan oleh rekombinasi tidak seimbang saat replikasi DNA yang berakibat pada penambahan dan pengurangan jumlah unit ulangan nukleotida (Levinson & Gutman, 1987; Moxon & Wills, 1999). Mutasi yang disebabkan oleh *slipped strand mispairing* juga merupakan penyebab yang paling sesuai untuk menerangkan keragaman DNA mikrosatelit yang tinggi (Levinson & Gutman, 1987; Takezaki & Nei, 1996). Takezaki & Nei (1996) menyatakan bahwa mutasi dapat menghasilkan pola nukleotida berulang yang jumlahnya berbeda. Scribner *et al.* (1994) menyatakan bahwa DNA mikrosatelit mempunyai laju mutasi yang tinggi yaitu berkisar antara 10^{-2} sampai 10^{-7}. Selain disebabkan oleh laju mutasi yang tinggi, keragaman DNA mikrosatelit juga banyak dipengaruhi oleh adanya aliran gen (Ciofi & Bruford, 1999)

Heterozigositas dan Diferensiasi Genetik

Frekuensi alel tiap lokus pada empat subpopulasi cukup bervariasi, yaitu antara 0 sampai 0,8571. Tiap subpopulasi mempunyai nilai frekuensi tinggi pada dua lokus yang berbeda. Frekuensi tertinggi Madiun terdapat pada lokus HEL 1 sebesar 0,8571, Kudus pada Lokus ETH 3 sebesar 0,6667, Pekalongan pada lokus HEL 1 sebesar 0,7647 dan Lampung pada lokus ETH 3 sebesar 0,8000 (**Tabel 3**). Ciofi & Bruford (1999) menyatakan bahwa perbedaan pada distribusi dan frekuensi alel menunjukkan bahwa faktor-faktor seperti penyimpangan genetik dan mutasi memiliki efek yang berbeda dalam penetapan struktur gen pada individu.

Tabel 3. Frekuensi alel tiap lokus pada empat subpopulasi

Lokus	Alel	Madiun		Kudus		Pekalongan		Lampung	
		N	x	N	x	N	x	N	x
HEL 1	a	7	0,0174	15	0,1000	17	0	5	0,3000
	b		0,8571		0,3333		0,7647		0
	c		0,0714		0,5667		0,2353		0,7000
INRA 032	a	5	0,5000	11	0,1364	9	0,2778	4	0
	b		0		0,3636		0,3889		0,5000
	c		0,5000		0,1364		0,1667		0
	d		0		0,3636		0,1667		0,5000
INRA 037	a	7	0	15	0,1000	17	0,0588	5	0,6000
	b		0		0		0,1176		0
	c		0,5000		0,4667		0,5294		0,4000
	d		0		0,1000		0		0
	e		0,5000		0,3333		0,2941		0
ETH 3	a	6	0	15	0	17	0,1176	5	0
	b		0,5000		0,6667		0,5000		0,8000
	c		0,0833		0,2000		0		0
	d		0,3333		0,1333		0,3824		0,2000
	e		0,0833		0		0		0
ETH 10	a	3	0,5000	13	0,5000	7	0,5000	4	0,5000
	b		0,5000		0,5000		0,5000		0,5000
ETH 225	a	6	0	15	0	16	0,0625	5	0
	b		0,0833		0,2000		0,2188		0,6000
	c		0,4167		0,5667		0,2188		0
	d		0,5000		0,2000		0,5000		0,4000
	e		0		0,1333		0		0

Dalam penelitian ini digunakan juga ukuran keragaman genetik heterozigositas ($\hat{h}$) dan heterozigositas rataan ($\hat{H}$) berdasarkan frekuensi alel tiap lokus.

Nilai $\hat{h}$ tiap subpopulasi pada lokus yang berbeda dan $\hat{H}$ tiap subpopulasi disajikan dalam **Tabel 4**. Madiun pada lokus HEL 1 mempunyai $\hat{h}$ terkecil yaitu 0,275, sedangkan $\hat{h}$ terbesar terdapat di Pekalongan lokus INRA 032 yaitu 0,758. Berdasarkan nilai galat baku yang dihasilkan, perbedaan nilai $\hat{h}$ tidak nyata (**Tabel 4**). Nilai $\hat{H}$ subpopulasi berkisar antara 0,505 sampai 0,606. Keempat nilai $\hat{H}$ yang dihasilkan tidak bisa dibedakan (Uji $t_{(5)}$ = 2,571, P>0,05).

Tabel 4. Nilai heterozigositas dan galat baku tiap lokus pada empat subpopulasi

Lokus	Madiun	Kudus	Pekalongan	Lampung
HEL 1	0,275 ± 0,046	0,577 ± 0,024	0,371 ± 0,020	0,467 ± 0,074
INRA 032	0,550 ± 0,075	0,732 ± 0,030	0,758 ± 0,036	0,571 ± 0,094
INRA 037	0,538 ± 0,052	0,674 ± 0,023	0,635 ± 0,021	0,533 ± 0,075
ETH 3	0,682 ± 0,060	0,515 ± 0,024	0,538 ± 0,052	0,356 ± 0,070
ETH 10	0,600 ± 0,129	0,520 ± 0,028	0,671 ± 0,021	0,571 ± 0,094
ETH 225	0,621 ± 0,061	0,618 ± 0,024		0,533 ± 0,075
Rataan	0,545 ± 0,070	0,606 ± 0,025	0,597 ± 0,029	0,505 ± 0,080

Dari empat subpopulasi yang dideteksi, Kudus mempunyai $\hat{H}$ terbesar yaitu 0,606. Dibandingkan dengan Pekalongan, macam alel yang ditemukan tidak berbeda. Nei (1987) menjelaskan bahwa tingkat heterozigositas dapat dipengaruhi oleh ukuran atau jumlah populasi.

Jumlah macam alel, frekuensi alel dan heterozigositas yang cukup tinggi pada populasi sapi PO tidak jauh berbeda dengan yang ditemukan oleh Moore *et al.* (1992) pada persilangan antara *B. indicus* dengan *B. taurus* X *B. indicus*, yaitu jumlah alel antara 2-14 macam dengan derajat heterozigositas antara 15,8-100%.

Diferensiasi genetik antar subpopulasi diperoleh dengan menghitung keragaman rata-rata di antara subpopulasi (H_S), keragaman genetik total (H_T) dan keragaman genetik antara subpopulasi (D_{ST})

Dari pengamatan diperoleh koefesien diferensiasi genetik (G_{ST}) sebesar 37,1%. Nei (1987) menyatakan besarnya nilai memberikan kontribusi yang menyebabkan terjadinya diferensiasi genetik subpopulasi.

Nilai G_{ST} yang sangat besar (37,1%) pada populasi sapi PO menunjukkan bahwa keempat subpopulasi tersebut mengalami diferensiasi genetik. Keempat subpopulasi menjadi terpisah, tidak terjadi perkawinan silang antar subpopulasi sehingga terjadi diferensiasi secara genetik dan tidak terjadi aliran gen.

Nilai tersebut jauh lebih besar dari nilai G_{ST} pada populasi liar seperti pada monyet ekor panjang sebesar 12,66% (Wandia, 2001), labi-labi sebesar 10,38% (Kasmiruddin, 1998) dan katak sawah sebesar 15, 3% (Nasaruddin, 1998).

Untuk mengetahui pola perkawinan populasi dan pola seleksinya dihubungkan dengan alel-alel polimorfik digunakan indeks fiksasi seperti nilai F_{IS}, F_{IT} dan F_{ST} yang kadang disebut juga sebagai uji F-statistik. Nilai-nilai tersebut diperoleh dari frekuensi gen dan frekuensi genotipe tiap lokus. Wright's (1969) dalam Nei (1987) menyatakan bahwa nilai F disebut juga sebagai koefisien *breeding*. F_{ST} merupakan korelasi antara dua gamet yang diambil secara acak dari tiap subpopulasi dan ukuran derajat diferensiasi genetik subpopulasi, sedangkan F_{IS} dan F_{ST} merupakan korelasi antara dua unit gamet relatif untuk subpopulasi dan relatif total populasi.

Dari pengamatan diperoleh nilai F_{IS} sebesar 0,1374, F_{IT} sebesar 0,2474 dan F_{ST} sebesar 0,3841. Dari nilai tersebut diketahui bahwa pada masing-masing subpopulasi terjadi kawin silang (F_{IS} = 0,1374), pada semua populasi juga terjadi kawin silang (F_{IT} = 0,2474), sedangkan antar subpopulasi tidak terjadi kawin silang (F_{ST} = 0,3841).

Besarnya nilai F_{ST} berbanding lurus dengan diferensiasi genetik (G_{ST}) yang diperoleh, karena F_{ST} merupakan ukuran derajat diferensiasi genetik subpopulasi (Wright's 1969 *dalam* Nei 1987).

Adanya usaha *grading up* (antara sapi Ongole dengan sapi lokal Jawa) secara masal yang dilakukan sejak awal abad ke-20 menghasilkan keturunan yang sifat-sifat genetiknya hampir sama dengan yang murni dan dapat lestari selama menghasilkan keturunan (Sudono, 1999). Usaha tersebut bertujuan untuk meningkatkan produktivitas sapi potong yang berpengaruh pada pola perkawinan dan pola seleksi sapi PO. Dalam perkembangannya diduga tiap subpopulasi dikembangkan di lokasi masing-masing tanpa mengambil bibit dari lokasi lain. Hal tersebut diduga karena tiap subpopulasi memiliki jumlah populasi yang cukup besar, sehingga peningkatan kualitas sapi potong tetap diupayakan dengan menggunakan bibit unggul hasil *grading up* untuk pemuliaan ternak. Lokasi asal subpopulasi merupakan pemasok tetap sapi PO ke RPH Kodya Bogor.

Terjadinya diferensiasi genetik yang disebabkan tidak terjadinya kawin silang antar subpopulasi berakibat pada besarnya nilai jarak genetik yang diperoleh, yaitu berkisar antara 0,242-0,767. Ada korelasi antara nilai G_{ST}, F_{ST} dan jarak genetik bakunya (I).

Dari keempat subpopulasi, jarak genetik antara Madiun dengan Lampung merupakan yang paling kecil (Tabel 5). Hal tersebut diduga karena Lampung meng-ambil pedet sapi asal Jawa yaitu dari Madiun untuk kebutuhan lokal, kemudian berkembang sehingga Lampung juga dapat memasok sapinya ke Jawa, salah satunya ke RPH Kodya Bogor. Diduga di lampung tidak diadakan proses *grading up*.

Tabel 5. Jarak genetik keempat subpopulasi

	Madiun	Kudus	Pekalongan	Lampung
Madiun		0,767	0,557	0,242
Kudus			0,597	0,437
Pekalongan				0,454
Lampung				

Asumsi-asumsi di atas lebih disebabkan karena sapi PO merupakan sapi domestikasi dan salah satu ternak sapi potong yang diunggulkan dan didasarkan pada usaha pemerintah dalam peningkatan ternak sapi pedaging di Indonesia.

KESIMPULAN

Populasi sapi PO berdasarkan analisis DNA mikrosatelit menggunakan PCR mempunyai keragaman yang tinggi hal ini dapat dilihat dari macam dan jumlah genotipe, macam dan jumlah alel, kisaran frekuensi, nilai heterozigositas rataan yang diperoleh. Enam lokus mikrosatelit bersifat polimorfik.

Walaupun mempunyai heterozigositas yang tinggi, dalam populasi tersebut terjadi diferensiasi genetik antar subpopulasi (G_{ST} = 37,1%) karena tidak terjadi kawin silang antar subpopulasi (F_{ST} = 0,3841), sehingga jarak genetik antar subpopulasi cukup besar yaitu berkisar antara 0,242-0,767.

Terjadinya hal di atas diduga disebabkan oleh campur tangan manusia terkait dengan sapi PO sebagai salah satu ternak pedaging unggulan.

DAFTAR PUSTAKA

Avise, J.C. 1994. *Moleculart Markers, Natural History & Evolution*. Chapman & Hall, Inc., New York.

Ciampolini, R., K. Moazami-Goudarzi, D. Vaiman, C. Dilmann, E. Mazanti, Jean Louis Foulley, H. Leveziel & D. Cianci. 1995. Individual multilocos genotypes using microsatellite polymorphism to permit the analysis of the genetic variability within and between Italian beef cattle breeds. *Journal Animal Science* 73:3259-3268.

Ciofi, C., & M.W. Bruford. 1999. Genetic structure and gene flow among Komodo dragon population inferred by microsatellite loci analysis. *Molecular Ecology* 8:S17-S30.

Ellegren, H., M. Johansson, K. Sandberg & L. Anderson. 1992. Cloning of highly polymorphic microsatellite in the horse. *Animal Genetics* 23:133-142.

Jeffreys, A.J., A. Macleod, K. Tamaki, D.L. Neil & D.G. Moncton. 1991. Minisatellite repeat coding as a digital approach to DNA typing. *Nature* 354:204-209

Kasmiruddin. 1998. morfologi dan keragaman genetik labi-labi *Amyda cartilaginea* (Testudines: trionychidae) dari Bengkulu dan Palembang. *Thesis*. Program Pasca Sarjana, IPB. Bogor.

Levinson, G. & G.A. Gutman. 1987. High frequencies of short frameshift in poly CA/TG tandem repeats borne by bacteriophage M13 in *Escherichia coli* K-12. *Nucleic Acid Restriction*. 15:5323-5338.

Moore, S.S., W. Bareds, K.T. Berger, S.M. Armitage & D.J.S. Hetzel. 1992. Bolivine and ovine DNA microsatellites from the EMBL and Gene Bank databases. *Animal Genetics* 23:463-467.

Moxon, E.R. & C. Wills. 1999. DNA microsatellites: agents of evolution. *Scientific American*. 280:72-77.

Muladno. 2000. Polimorfisme dan analisis keterpautan mikrosatelit pada genom babi. *Hayati*. 7:11-15.

Nasaruddin. 1998. Morfologi dan variasi genetik katak swah *Rana cancrivora* Gravenhoust dari beberapa wilayah di Jawa Tengah. *Tesis*. Program Pasca Sarjana, IPB. Bogor.

Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.

O'brien, S.J., M. Menotti-raymond, W.J. Murphy, W.G. Nash, J. Wienberg, R. Syanyon, N.G. Copeland, N.A. Jenkins, J.E. Womack & J.A.M. graves. 1999. the promise of comparative genomics in mammals. *Science* 286:458-481.

Payne, W.J.A. 1970. *Cattle Production in The Tropics, General Introduction Breed and Breeding*. Volume 1. Longman Group Limited, London.

Sambrook, J., E.F. Fritsch & T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York.

Scribner, K.T., J.W. Arntzen & T. Burke. 1994. Comparative analysisof intra- and inter-population genetic diversity in *Bufo bufo*, using allozyme, single-locus microsatellite, mini-satellite and multilocus minisatellite data. *Molecular Biology Evolution* 11:737-748.

Sudono, A. 1999. *Ilmu Produksi Ternak Perah*. Jurusan Ilmu Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, IPB. Bogor.

Sumadi. 1985. Beberapa sifat produksi dan reproduksi dari berbagai bangsa sapi daging di ladang ternak. *Tesis*. Fakultas Pasca Sarjana, IPB. Bogor.

Takezaki, N., & M. Nei. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetic* 144:389-399.

Tegelstrom, H. 1987. Mitochondrial DNA in natural population: animproved routine for the screening of genetic variation based on sensitive silver staining. *Electroforesis* 7:226-229.

Valdes, A.M., M. Slatkin & N.B. Freimer. 1993. Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation models revisited. *Genetic* 133:747-749.

Wandia, I.N. 2001. variasi genetik monyet ekor panjang, *Macaca fascicularis,* di beberapa lokasi di Bali. *Tesis.* Program Studi Primatologi, Program Pasca Sarjana, IPB. Bogor.

Winaya. A. 2001. Penggunaan penanda molekuler mikrosatelit untuk deteksi polimorfisme dan analisis filogenetik genom sapi. *Tesis.* Program Studi Bioteknologi, Program Pasca Sarjana, IPB. Bogor.

screening of genetic variation based on sensitive silver staining. *Electroforesis* 7:226-229.

Valdes, A.M., M. Slatkin & N.B. Freimer. 1993. Allele frequencies at microsatellite loci: the stepwise mutation models revisited. *Genetic* 133:747-749.

Wandia, I.N. 2001. variasi genetik monyet ekor panjang, *Macaca fascicularis,* di beberapa lokasi di Bali. *Tesis.* Program Studi Primatologi, Program Pasca Sarjana, IPB. Bogor.

Winaya. A. 2001. Penggunaan penanda molekuler mikrosatelit untuk deteksi polimorfisme dan analisis filogenetik genom sapi. *Tesis.* Program Studi Bioteknologi, Program Pasca Sarjana, IPB. Bogor.