

## KERAGAMAN GENETIK DNA Y-KROMOSOM PADA ENAM RUMPUT KAMBING LOKAL INDONESIA

(Genetic Diversity of Y-Chromosome DNA from Six Indonesian Goats)

Batubara A<sup>1,2</sup>, Noor RR<sup>1</sup>, Farajallah A<sup>3</sup>, Tiesnamurti B<sup>4</sup>

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

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

<sup>3</sup>Departemen Biologi, Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

<sup>4</sup>Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Bogor 16151.

### ABSTRACT

The Y chromosome in the segment SRY sequences were used to study the genetic diversity and relationships of six breeds of Indonesian local goats, namely, Kacang, Marica, Samosir, Jawarandu, Muara and Benggala goats. About 18 samples were selected from 77 blood samples of Indonesian local bucks PCR products each group 3 samples were continued for sequence analyses. A total of 13 nucleotide sites with contained of 499 nucleotides were used for DNA analysis. Four haplotypes were identified from the 6 polymorphic sites of the SRY nucleotides. The value of Y chromosome genetic diversity was  $0.004 \pm 0.002$ . The paternal origin of six Indonesian local goats were divided into four haplotypes. Kacang and Jawarandu were the first groups, Marica and Samosir the second groups, Muara the third groups and Benggala the fourth groups.

**Key Words:** Genetic Diversity, Y-Chromosome, SRY, Haplotypes, Local Goats

### ABSTRAK

Kromosom Y pada bagian sekuen SRY telah diteliti hubungan dan keragaman genetik enam rumpun kambing lokal Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi keragaman koromosom Y. Sebanyak 18 sampel dipilih dari 77 sampel darah kambing jantan yang dikoleksi yang terdiri masing-masing 3 sampel per kelompok 6 sub populasi kambing (rumpun). Sebanyak 14 sampel dipilih dari 36 sampel darah yang dikoleksi yang terdiri masing-masing 3 sampel per kelompok kambing yaitu kambing rumpun Kacang dari Kabupaten Deli Serdang, kambing rumpun Muara dari Kabupaten Tapanuli Utara, kambing rumpun Samosir dari Kabupaten Samosir di Propinsi Sumatera Utara; kambing rumpun Marica dari Kabupaten Maros, Kota Makassar, Kabupaten Jeneponto di Propinsi Sulawesi Selatan; kambing rumpun Jawarandu dari Kabupaten Blora di Propinsi Jawa Tengah; dan kambing rumpun Benggala dari Kabupaten Kupang, Kota Kupang, Kabupaten Sikka, Kabupaten Ende di Propinsi Nusa Tenggara Barat. Sebanyak 13 situs nukleotida yang terdiri dari 499 bp nukleotida yang dianalisis. Dijumpai 4 situs haplotip dari 6 situs yang plimorfis dari SRY nukleotida. Nilai keragaman Y-kromosom adalah  $0.004 \pm 0.002$ . Asal usul keturunan menurut garis bapak (pejantan) 6 rumpun kambing lokal Indonesia dapat dikelompokkan menjadi 4 kelompok yaitu: kekerabatan kambing Kacang lebih dekat dengan Kambing Jawarandu, Kambing Marica lebih dekat dengan Kambing Samosir, kambing Benggala lebih dekat dengan Kambing Muara

**Kata Kunci:** Keragaman Genetik, Y-Kromosom, SRY, Haplotype, Kambing Lokal

### PENDAHULUAN

Identifikasi keragaman genetik ternak sangat penting untuk upaya pelestarian sumberdaya genetik dan pengembangan bibit yang lebih produktif. Gen SRY yang terletak di komosom Y bertanggung jawab untuk

menentukan jenis kelamin pada mammalia (Sinclair et al. 1990, Chen A-qin et al. 2007) dan mengkodekan protein sebanyak 204 asam amino. Gen SRY terpusat di daerah *High Mobility Groups* (HMG) yang mempunyai variasi tinggi sehingga ideal digunakan untuk menguji garis keturunan paternal berdasarkan

DNA (Prashant et al. 2008, Pindancier et al 2006). Penelitian tentang Y kromosom pada kambing dilakukan pada kambing Sardinian dan Maltese (Sechi et al. 2009), Sangamneri (Prashant et al. 2009), Capra (Pidancier et al. 2006).

Beberapa jenis kambing masuk ke Indonesia pada zaman pemerintahan Hindia Belanda, Portugis dan sesudah Indonesia merdeka. Namun demikian, jika diamati karakteristik kambing lokal diberbagai daerah wilayah Nusantara sudah ada yang menunjukkan keragaman penotipik yang berbeda-beda. 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, bangsa atau genotipe kambing lokal baru.

Balai Penelitian Ternak telah memulai mengkarakterisasi kambing Kacang, Peranakan Ettawah, Kosta (tahun 1995) dan Gembongan pada tahun 1997 (Setiadi et al. 1995; 1997). Diperkirakan masih banyak lagi bangsa kambing lokal Indonesia yang belum dikarakterisasi dan sebagian mungkin sudah langka atau jumlah populasinya sudah terbatas. Sementara belum sempat dieksplorasi karakteristik, potensi dan keragaman genetiknya untuk dimanfaatkan sebagai sumber peningkatan mutu genetik kambing di Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari keragaman genetik Y kromosom bagian SRY pada 6 sub-populasi kambing lokal Indonesia untuk mengetahui asal usul menurut garis keturunan maternal (Wallen et al. 2006).

Penanda molekuler DNA Y-kromosom dapat menggambarkan keragaman DNA inti yang bertujuan untuk melihat keragaman yang menunjukkan karakteristik penurunan sifat pewarisan garis kromosome Y, seperti pewarisan keturunan garis pejantan (paternal) (Verkaar et al. 2003; Sureka et al. 2013).

Dalam memanfaatkan sumberdaya alam yang tak ternilai harganya tersebut secara berkelanjutan (*sustainable*), langkah awal yang harus dilakukan adalah mengkarakterisasi atau mengidentifikasi potensi plasma nutfah yang dimiliki. Setelah itu mengkoordinasikan pengelolaan database plasma nutfah, dan membangun komunitas jaringan kerja data

base, kemudian dilanjutkan dengan pemakaian sumberdaya genetik tersebut dalam program pemuliaan dan pembentukan bibit unggul berbasis agro-ekosistem local dan sekaligus menjaga agar sumberdaya genetik tersebut perpelihara serta terhindar dari kepunahan (FAO 2007; Ruane 2000; Santos et al. 2013).

Salah satu komoditas kekayaan plasma nutfah nasional di sub sektor peternakan adalah ternak kambing. Meskipun kambing telah mengabdi kepada manusia untuk menyediakan kebutuhan konsumsi daging sejak dahulu kala, dan terdapat dalam jumlah besar tersebar luas di berbagai daerah tropis, kambing sedikit sekali mendapat perhatian ilmiah. Kambing bertahan hidup dan berbiak silang dalam isolasi genetik, dan produktivitas potensial dari banyak jenis kambing masih perlu digali.

Kambing seperti jenis ternak lainnya, merupakan bagian penting dari keragaman sumberdaya genetik di dunia yang mempunyai peranan penting untuk mendukung kesinambungan pertanian dimasa di masa yang akan dimasa yang akan datang. Kambing menyebar di berbagai daerah dengan iklim yang berbeda dan terpisah antara satu sama lain dengan jangka selang waktu yang lama. Oleh karena faktor lingkungan dan perlakuan seleksi yang sangat bervariasi mengakibatkan laju perubahan genetik yang sangat beragam (Rout et al. 2008).

Sumberdaya ternak kambing di Indonesia saat ini terdiri dari tiga kelompok, yakni:

1. Ternak asli
2. Ternak impor
3. Ternak yang telah beradaptasi dalam jangka waktu lama sehingga membentuk karakteristik tersendiri (ternak lokal).

Pentingnya nilai konservasi pada kelompok hewan ternak ini, beberapa rumpun ternak ini perlu dijadikan target konservasi sekaligus pemanfaatannya (Utoyo 2002). Rumpun ternak kambing di Indonesia dan rumpun kambing lainnya adalah merupakan hasil domestikasi sekitar 10.000 tahun yang lampau. Kambing eksotis masuk ke Indonesia melalui daratan India terus melalui Khyber Pass, kemudian menyebar melalui pulau Sumatra, Kalimantan, Sulawesi, Jawa sampai Indonesia bagian Timur.

Kambing Kacang merupakan rumpun kambing asli Indonesia, bentuk badannya kecil dengan tinggi pundak sekitar 50-60 cm serta prolifik. Introduksi rumpun kambing impor Benggala dari India dimulai oleh orang-orang Arab dan kambing-kambing tersebut didatangkan melalui pelabuhan pantai utara Pulau Jawa. Mulai pada tahun 1911-1931 didatangkan rumpun-rumpun Kambing Kashmir, Angora (Montgomery), Benggala dan Etawah untuk stasiun ternak kambing atau stasiun peternakan di Keresidenan Kedu, Solo, Yogyakarta, Banyumas, Pekalongan, Pangalengan, Padang Mangatas, Wlingi (Blitar), Sumba, dan Sumbawa. Disamping dari India pada tahun 1928 pernah pula diimpor dari Negeri Belanda yaitu "Hollandse Edelgeiten" (Kambing Belanda Murni). Rumpun kambing dari India selanjutnya disilangkan dengan rumpun kambing lokal Indonesia dengan cara digaduhkan atau menempatkan pejantan Etawah murni atau persilangan dengan proporsi darah Etawah yang cukup tinggi di desa-desa yang akan dikembangkan peternakan kambingnya. Hasil persilangan tersebut dikenal dengan nama Peranakan Etawah, yang proporsi darah Etawahnya sangat beragam.

Selain itu juga terdapat rumpun kambing lain yang berkembang di daerah tertentu yang merupakan kambing lokal tradisional diantaranya Kambing Gembongan (di Bali), Kambing Kosta (di Banten), Kambing Bligon, Kambing Jawarandu (di Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta) dan beberapa jenis kambing lokal lainnya yang belum diidentifikasi secara ilmiah. Setelah zaman kemerdekaan diimpor atau diintroduksikan beberapa rumpun kambing, baik dalam bentuk hidup atau mani beku. Rumpun kambing yang pernah diintroduksikan antara lain Kambing Saanen dan Kambing Anglo Nubian. Bahkan akhir-akhir ini telah diintroduksikan pula Kambing Boer dari Australia yang dipersilangkan dengan Kambing Kacang atau Peranakan Etawah dalam bentuk pejantan hidup atau mani beku (Subandriyo 2004).

Terjadinya persilangan antara kambing impor dengan kambing asli Indonesia (Kacang) serta adanya aklitimasi dan isolasi selama puluhan bahkan ratusan tahun di suatu lokasi tertentu dapat menyebabkan terbentuknya kelompok kambing lokal atau sub populasi

dengan komposisi genetik yang unik pula. Terbentuknya galur/kelompok kambing bisa juga disebabkan terisolasi suatu lokasi, sehingga menyebabkan terjadinya perbedaan genetik akibat adanya penghanyutan genetik (*random genetic drift*) seperti dilaporkan Freeland (2005).

Kambing Muara dijumpai di daerah Kecamatan Muara, Kabupaten Tapanuli Utara. Dari segi penampilannya kambing ini nampak gagah, tubuh kompak dan sebaran warna bervariasi antar warna bulu coklat kemerah, putih dan ada juga yang berwarna bulu hitam. Bobot Kambing Muara ini lebih besar dari pada Kambing Kacang dan diduga mempunyai potensi sebagai ternak prolifik. Kambing Benggala menurut cerita dari peternak diduga merupakan hasil persilangan Kambing Black Bengal dengan kambing lokal yang diduga dibawa pendatang/pedagang dari India, Bangladesh dan Arab ke daerah sekitar Pulau Timor dan Pulau Flores di Propinsi Nusa Tenggara Timur sebelum zaman penjajahan Hindia Belanda. Dengan selang waktu yang sudah ratusan tahun persilangan kambing tersebut mengalami proses adaptasi dengan lingkungan setempat (Batubara et al. 2007). Kambing Benggala secara umum lebih besar dari Kambing Kacang, umumnya didominasi warna hitam dan sedikit berwarna kecoklatan.

Menurut FAO (2000) rumpun adalah bagian kelompok tertentu (subspecific group) dari ternak domestik dengan karakteristik eksternal yang dikenal dengan penilaian visual atau kelompok yang dipisahkan oleh geografi dan budaya secara fenotipik. Rumpun berkembang menurut perbedaan geografi dan budaya untuk memenuhi kebutuhan yang serupa dan telah diterima sebagai identitas yang terpisah.

Berdasarkan adaptasi terhadap kondisi lokal rumpun dibedakan atas rumpun lokal dan rumpun introduksi. Rumpun lokal dapat dibedakan lagi atas rumpun asli (indigenous breed, native breed) adalah ternak yang berdasarkan sejarah terbukti berasal dari negara tersebut dan rumpun tradisional (rumpun lokal) adalah ternak yang sejarahnya tidak terbukti berasal dari negara tersebut tetapi selama 30-50 tahun telah diternakkan di negara tersebut, terbukti mempunyai catatan silsilah selama lima generasi. Rumpun introduksi (rumpun asing, exotic, allochthonous) yang tidak

berasal dari suatu negara atau tidak secara kontinu diterangkan di suatu negara lebih dari 50 tahun (sapi, kuda) dan 30 tahun untuk ternak lainnya (FAO 2007; Dimeo et al. 2005).

Penetapan dan pengakuan rumpun/galur ternak di Indonesia dilakukan oleh Pemerintah melalui Kementerian Pertanian. Pemerintah menyusun tatacara mengenai pengujian, penilaian, penetapan dan pengakuan, pemberian nama dan pelepasan rumpun/galur ternak. Istilah “penetapan” adalah sebagai bentuk pengakuan dari negara terhadap rumpun ternak yang telah ada dan dibudidayakan secara turun temurun oleh peternak dan menjadi milik masyarakat (rumpun lokal atau rumpun asli). Istilah “pengakuan” adalah suatu bentuk pengakuan negara terhadap rumpun dan/atau galur ternak hasil pemuliaan/ introduksi/rekayasa genetik (Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan 2007).

## MATERI DAN METODE

### Sampel darah kambing penelitian

Sebanyak 18 sampel dipilih dari 77 sampel darah kambing jantan yang dikoleksi yang terdiri masing-masing 3 sampel per kelompok 6 sub populasi kambing (rumpun). Sebanyak 14 sampel dipilih dari 36 sampel darah yang dikoleksi yang terdiri masing-masing 3 sampel per kelompok kambing yaitu kambing rumpun Kacang dari Kabupaten Deli Serdang, kambing rumpun Muara dari Kabupaten Tapanuli Utara, kambing rumpun Samosir dari Kabupaten Samosir di Propinsi Sumatera Utara; kambing rumpun Marica dari Kabupaten Maros, Kota Makassar, Kabupaten Jeneponto di Propinsi Sulawesi Selatan; kambing rumpun Jawarandu dari Kabupaten Blora di Propinsi Jawa Tengah; dan kambing rumpun Benggala dari Kabupaten Kupang, Kota Kupang, Kabupaten Sikka, Kabupaten Ende di 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 sedikit modifikasi 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 alcohol (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. Produk PCR yang terpotong langsung dilanjutkan dengan analisis sekvensing.

### Amplifikasi DNA Y-kromosome

Amplifikasi genom DNA Y-kromosome menggunakan primer AF126 (*forward*) 5'CAA AGGCACGCTTTATCTCA-3' dan AF127 (*reverse*) 5'TGCAATT ACAGAAG AGGT GGAA-3'. Primer AF126 menempel pada basa ke 4199 bp dan AF127 menempel pada basa ke 4696 dari RUNUTAN dna Y kromosome sekuen lengkap *Capra hircus* (no akses GenBank EU581862). Komposisi reaksi PCR dalam volume 25µl adalah sampel DNA 2µl (10-100ng), RBC Bioscience taq polymerase 1,25 unit beserta sistem 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 62°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. Visualiasi produk PCR dilakukan menggunakan teknik lektroforesis gel poliakrilamid (PAGE) 6% dalam buffer 1xTBE (Tris-HCl 10 Mm, sam-

borat 1 M, EDTA 0,1 mM). Elektroforesis dijalankan pada kondisi 200 mV selama 50 menit. Proses dilanjutkan dengan pewarnaan sensitive perak (Tegelstrom 1986) dengan sedikit modifikasi.

### Perunutan DNA

Produk amplifikasi yang menunjukkan pita tunggal kemudian 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 Gen Bank (<http://ncbi.nlm.nih.gov>). Data yang diambil sebagai pembanding yaitu *Capra hircus* dengan no. akses EU581862. Proses pensejajaran menggunakan ClustalW versi 8.1 yang tertanam masuk 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 subsitusi, jarak genetik berdasarkan ruas DNA Y kromosom pada segmen SRY 3'UTR. Proses analisis dilakukan dengan menggunakan program MEGA versi 4 (Tamura et al. 2007). Perhitungan nilai jarak genetik dilakukan berdasarkan model subsitusi Kimura 2 parameter (K2P). Rekonstruksi pohon filogeni dilakukan berdasarkan ruas daerah SRY 3' UTR untuk semua nukleotida yang bersifat parsimony. Rekonstruksi pohon filogeni keduanya dilakukan menggunakan metode Neighbour Joining (NJ) dengan bootstrap 1000 kali. Untuk mengetahui

jumlah haplotipe dan penyebaran mutasi nukleotida digunakan analisis Median-Joining Network versi 4.6 (*Fluxus Technology Ltd.*, 2005).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Polimorfisme DNA Y kromosom bagian segmen SRY

Amplifikasi DNA Y kromosom pada segmen daerah SRY dilakukan menggunakan pasangan primer AF126 dan AF127 pada nukleotida sepanjang 499 bp (posisi antara 4.199-4.697 bp). Setelah saling disejajarkan ditemukan 5 situs polimorfik (*variable site*) yang terdiri dari 1 *singleton variable site* dan 4 *parsimony informative sites* (Gambar 1).

Terdapat 4 haplotipe berdasarkan 5 situs nukleotida yang bersifat polimorfik, dimana situs polimorfisme kambing Kacang sama dengan kambing Jawarandu, situs polimorfisme kambing Marica sama dengan kambing Samosir, sedangkan kambing Muara dan Benggala berbeda satu sama lain dengan 5 kambing lokal yang diamati.

Runutan basa-basa nukleotida yang polimorfik terletak pada situs ke 56-480 berupa subsitusi dan insersi. Berdasarkan runutan nukleotida yang disejajarkan ditemukan substitusi nukleotida khas yang bisa digunakan sebagai penciri 6 kambing lokal jika dibandingkan dengan *Capra hircus* (EU581862) yaitu situs ke 124 (G-A).

Perubahan susunan (mutasi) nukleotida berupa subsitusi ditemukan pada situs nukleotida kambing Kacang dan Jawarandu di situs ke 124 (G-A), Marica dan Samosir di situs ke 56 (A-T), 124 (G-A), 427 (T-C), Muara di situs 56 (A-T), 124(G-A), 427(T-C), 444(A-G), 480(C-T) dan Benggala di situs 56 (A-T), 124(G-A), 427(T-C), 444(A-G), 480 (C-T). Mutasi insersi nukleotida T hanya ditemukan di situs ke-95 pada kambing Benggala.

### Keragaman runutan nukleotida

Urutan frekuensi nukleotida paling tinggi terdapat pada nukleotida T (33,7), kemudian A (32,2%), C (18,1%) dan G (13,1%) secara berurutan. Perbandingan rataan frekuensi A

	1	1111111111	4444444444	4444444444	4444444444			
*[	5555555556	9999999990	2222222223	2222222223	4444444445	7777777778]		
*[	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890]		
*C.hircus	TTTAACTAA	TTTG-GACTT	GTGATCAGT	CCTACCTTCT	CTGATAACAAG	AGCTACTTTTC		
*Y12-K1	.....	.....	A.....	.....	.....	.....		
*ChaY6-K2	.....	.....	A.....	.....	.....	.....		
*Y03_S1	.....	T.....	.....	A.....	.....	C.....		
*Y07_M1	.....	T.....	.....	A.....	.....	C.....		
*Y09_M2	.....	T.....	.....	A.....	.....	C.....		
*Y04_J1	.....	.....	.....	A.....	.....	.....		
*Y05_J2	.....	.....	.....	A.....	.....	.....		
*Y06_J3	.....	.....	.....	A.....	.....	.....		
*Y10_R1	.....	T.....	.....	A.....	.....	C.....	G.....	T
*Y11-R2	.....	T.....	.....	A.....	.....	C.....	G.....	T
*ChaY1-B1	.....	T.....	T.....	A.....	.....	C.....	.....	T
*Y01-B2	.....	T.....	T.....	A.....	.....	C.....	.....	T
*Y02-B3	.....	T.....	T.....	A.....	.....	C.....	.....	T

**Gambar 1.** Analisis polimorfisme nukleotida pada D-loop DNA mitokondria 6 kambing lokal (tiga baris pertama dibaca secara vertikal merupakan posisi nukleotida)

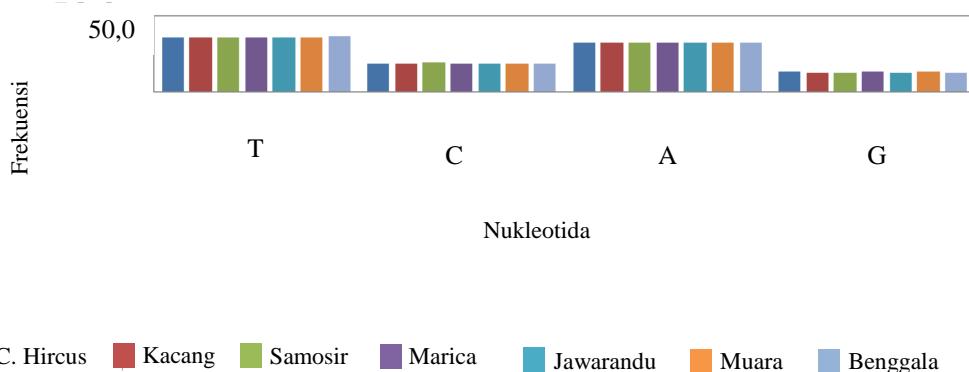
**Tabel 1.** Rataan frekuensi nukleotida DNA Y kromosom segemen SRY parsial kambing lokal Indonesia disajikan dengan *Capra hircus* Gen Bank EU (ukuran 499 bp)

Genotipe	n	T	C	A	G	A+T	C+G
<i>C. hircus</i>	1	35,7	18,9	32,1	13,3	67,9	32,1
Kacang	2	35,7	18,9	32,3	13,1	68,1	31,9
Samosir	1	35,7	19,1	32,1	13,1	67,9	32,1
Marica	2	35,7	19,1	32,1	13,1	67,9	32,1
Jawarandu	3	35,7	18,9	32,3	13,1	68,1	31,9
Muara	2	35,9	18,9	31,9	13,3	67,9	32,1
Benggala	3	36,1	18,8	32,1	13	68,1	31,9
Rataan		35,8	18,9	32,2	13,1	68	32

( ) perbedaan komposisi nukleotida dengan *C. hircus* dalam persen

dan T (68,0%) lebih tinggi dibandingkan dengan C dan G (32,0%). 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%) (Gambar 3). Frekuensi tertinggi pada nukleotida A dan paling rendah nukleotida G (Gambar 2).



**Gambar 2.** Frekuensi nukleotida DNA Y-kromosom parsial berukuran 499 nt pada kambing Kacang, Benggala, Jawarandu, Muara, Samosir, Marica dan *Capra hircus* (EU581862) dari Gen Bank

### Jarak genetik kambing Lokal Indonesia dengan kambing Pembanding lainnya

Rataan keragaman genetik berdasarkan susunan nukleotida secara keseluruhan adalah  $0,004 \pm 0,002$ . Tidak ada perbedaan susunan nukleotida antar individu dalam kelompok kambing penelitian. 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. 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).

Hasil analisis nilai jarak genetik antar kelompok kambing lokal berkisar 0,002-0,008 dan rataan jarak genetik keseluruhan adalah  $0,004 \pm 0,002$ . Jarak genetik tertinggi antara kambing lokal dengan pembanding *Capra hircus* (EU581862) ditemukan pada kambing Muara (0,044). Nilai jarak genetik antar kelompok kambing lokal terkecil antara kambing Marica dengan Jawarandu dan antara Kacang dengan Marica (0,000). Jarak genetik tertinggi antara Muara dengan Marica dan antara Muara dan Benggala, masing-masing mempunyai nilai 0,008 sedangkan tertinggi

merupakan jarak genetik antara kambing Kacang dan Marica.

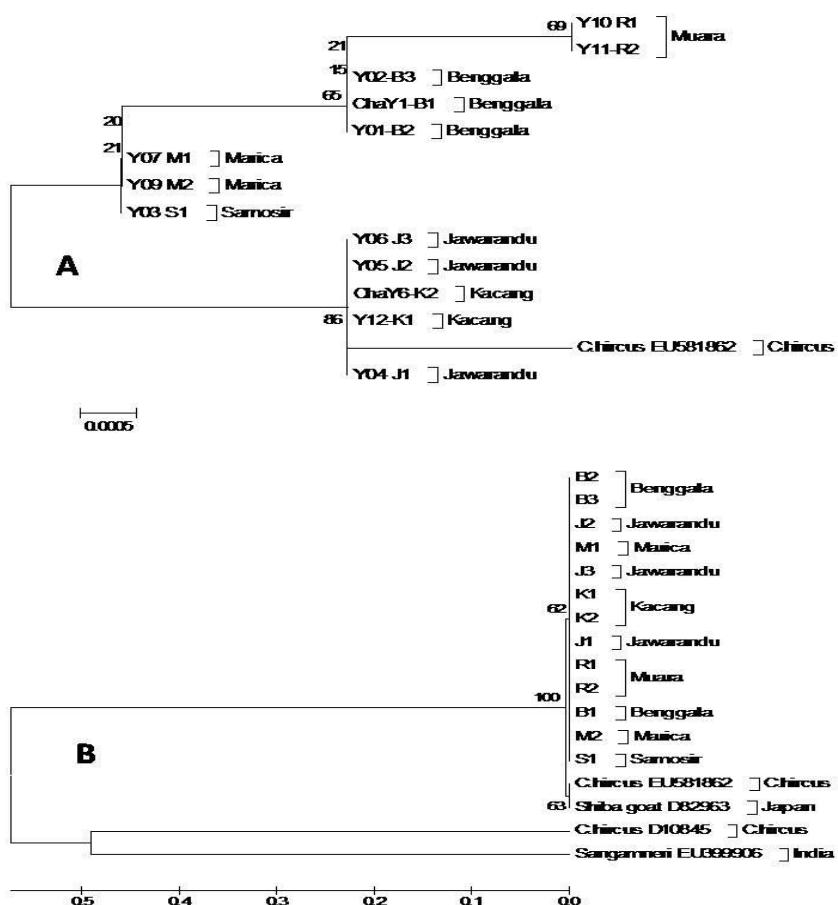
Hasil analisis filogenik runutan nukleotida DNA Y kromoson berdasarkan lokal Indonesia menunjukkan kambing Kacang masih satu kelompok dengan kambing Jawarandu dengan nilai bootstrap 89% dan kambing Marica masih satu kelompok dengan Samosir (21%), sedangkan kambing Benggala (65%) dan Muara (69%) membentuk kelompok terpisah satu sama lain (Gambar 3A).

Hasil perbandingan runutan nukleotida kambing lokal dengan 4 situs nukleotida Y kromosom kambing dari GenBank (Gambar 3B) menunjukkan ke-6 kelompok kambing lokal membentuk satu kelompok dengan nilai uji bootstrap 62%, *Capra hircus* (EU581862) dan kambing Shiba (Jepang) dari GenBank membentuk satu kelompok dengan nilai bootstrap (63%), dan kambing Sangamneri (India) dan *Capra hircus* (D10845) membentuk kelompok tersendiri dengan nilai bootstrap 100% (Gambar 3B).

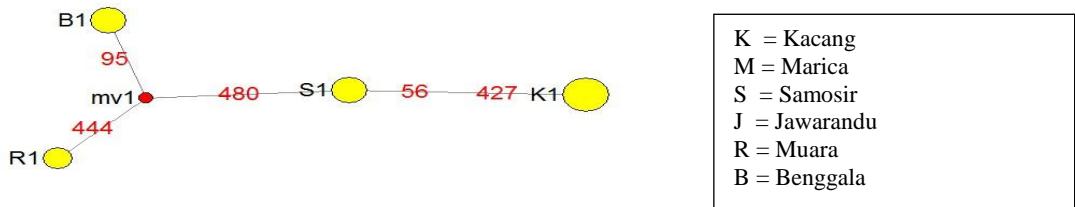
Berdasarkan analisis Media-joining network dari 13 sekuen nukleotida daerah Dloop kambing yang diamati terdapat 62 situs yang bersifat polimorfik, terdapat sebanyak 19 haplotipe runutan DNA yang unik. Kambing Kacang mempunyai 4 haplotipe yang berbeda, kambing Marica dan Samosir 1 haplotipe, kambing Kacang dan Jawarandu 1 haplotipe, kambing Muara 1 haplotipe dan kambing Benggala 1 haplotipe (Gambar 4).

**Tabel 2.** Jarak genetik berdasarkan susunan nukleotida DNA Y kromosom kambing Kacang, Benggala, Jawarandu, Muara, Samosir, Marica dan *Capra hircus* (EU581862) dari Gen Bank

Genotype	<i>Capra hircus</i>	Marica	Kacang	Samosir	Benggala	Jawarandu	Muara
<i>Capra hircus</i>	0	0,002	0,003	0,003	0,002	0,004	0,004
Kacang	0,002	0	0,003	0,003	0,000	0,004	0,004
Samosir	0,006	0,004	0	0,000	0,003	0,003	0,002
Marica	0,006	0,004	0,000	0	0,003	0,003	0,002
Jawarandu	0,002	0,000	0,004	0,004	0	0,004	0,004
Muara	0,010	0,008	0,004	0,004	0,008	0	0,002
Benggala	0,008	0,006	0,002	0,002	0,006	0,002	0



**Gambar 3.** Dendrogram Neighbour Joining kambing lokal (A) dengan 4 situs SRY dari Gen Bank (B) berdasarkan metode 2 parameter Kimura (1000 ulangan)



**Gambar 4.** Median-joining network dari 4 haplotipe DNA Y-kromosom  $0,004 \pm 0,002$  dari 6 rumpun kambing lokal Indonesia

Diduga kambing Marica dan kambing Samosir berasal dari kambing Kacang yang telah mengalami proses adaptasi terhadap lingkungan dan campur tangan perlakuan peternak yang diarahkan untuk tujuan produksi tertentu. Hal ini bisa dilihat dari perubahan (mutasi) susunan nukleotida dalam bentuk subsitusi pada situs-situs tertentu (Tabel 2). Sedangkan pada kambing Jawarandu, Benggala dan Muara ditemukan mutasi subsitusi dan insersi nukleotida diduga akibat proses adaptasi lingkungan dan merupakan hasil persilangan (proses hibridisasi) dengan bangsa kambing diluar kambing lokal yang terdapat di daerah setempat.

## KESIMPULAN

Karakterisasi molekuler enam genotipe kambing lokal Indonesia (Kacang, Marica, Samosir, Jawarandu, Muara dan Benggala) berdasarkan sekuen DNA Y kromosom telah berhasil dilakukan untuk melihat keragaman genetik dan hubungan antar sub populasi kambing penelitian. Rataan jarak genetik 6 kambing lokal Indonesia yang diamati adalah  $0,004 \pm 0,002$  dan ditemukan 6 situs susunan nukleotida yang polimorfik dan terdiri dari 4 haplotipe yang unik, yaitu pada kambing Kacang dan Jawarandu 1 haplotipe, Marica dan Samosir 1 haplotipe, Muara 1 haplotipe dan Benggala 1 haplotipe. Keenam sub populasi kambing yang diamati dikelompokkan menjadi 4 haplotipe kambing yang berbeda, dimana terdapat perbedaan susunan nukleotida yang khas sebagai penciri DNA antara satu genotipe dengan genotipe yang lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Beja-pereira A, England PR, Ferrand N, Jordan S, Bkhiet AO, Abdalla MA, Makhour M, Jordana J, Taberlet P, Luikart G. 2004. African origin of the domestic donkey. *Science*. 304:1781.
- Chen A-qin, Zi-rong Xu, Song-dong Yu, 2007. Sexing goat embryos by PCR amplification of X and Y chromosome specific sequence of the amelogenin Gene. *Asian-Aust J Sci*. 11:1689-1693.
- Dimeo GP, Perucatti A, Floriot S, Incarnato D, Rullo R, Jambrenghi AC, Fretti L, Vonghia G, Cribiu E, Eggen A. 2005. Chromosome evolution and improved cytogenetic maps of Y chromosome in Cattle, Zebu, River Buffalo, Sheep and Goats. *Chromosome Res*. 4:349-355.
- Giuffra E, Kijas JMH, Amarger V, Carlberg O, Jeon JT, Anderson L. 2000. The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. *Genetics*. 154:1785-1791.
- Hiendleder S, Kaupe B, Wassmuth, Janke A. 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 MB, Rout PK, Mandal AK, Tyler-Smith C, Singh L, Thangaraj K. 2004. Phylogeography and origin of Indian domestic goats. *Mol Biol Evol*. 21:454-462.
- MacHugh DE, Bradley DG. 2001. Livestock genetic origins: goat buck the trend. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:5382-5384.

- Niemi M., Blamer A, Tourn TI, Nystrom V, Harjala J, Taatvitsainem JP, Stora J, Uden K, J.Kantamen. 2013. Mitochondrial DNA and Y-Chromosomal diversity in ancient population of domestic sheep (*ovis aries*) in Finland: comparison with contemporary sheep breeds. *Genetic Selection Evolution* 45:2.
- Pidancier N, Jordan S, Luikart G, Taberlet P. 2006. Evolutionary history geneus *Capra* Discordance between DNA and Y-chromosome phylogenies. *Mol Phylogeny Evol.* 40:739-749.
- Prashant, Gour DS, Dubey PP, Jain A, Nanda DK, Joshi BK, Kumar D. 2009. Complete nucleotide sequencing, SNP identification and characterization of SRY gene in Indian Sangamneri goat. *Afr J Biotechnol.* 8:2939-2942.
- Sambrook J, Russell DW. 2001. Molecular cloning, a laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. Molecular cloning, a laboratory Manual 3rd ed. Cold Spring Harbor, Laboratory Press, NY.
- Santos R.P., Affonso PRA, Dimi D, Medrado AS, Silva KM, Carneiro PLS. 2013. Identification of naturalized goat breeds under conservation from North Eastern Brazil using Chromosomal marker. *Gen Mol Res.* 12:3193-3200.
- Savolainen P, Zhang YP, Luo J, Lunderberg J, Leitner T, Leitner T. 2002. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science.* 298:1610-1613.
- Sechi T, Miari S, Piras D, Crasta L, Mulas G, Carta A. 2009. Genetic variation of goat Y chromosome in the Sardinian population. *Italian J Anim Sci.* 8:159-161.
- Setiadi B, Prianto D, Martawidjaja M. 1997. Komparatif morfologik kambing. Laporan Hasil Penelitian APBN 1996/1997. Balai Penelitian Ternak, Bogor.
- Setiadi B, Prianto D, Martawidjaja M. 1995. Penelitian karakterisasi kambing Kosta di pedesaan. Kumpulan Hasil-Hasil Penelitian APBN tahun anggaran 1994/1995. Ternak Ruminansia Kecil. Balai Penelitian Ternak, Bogor.
- Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ, Foster JW, Frischau AM, Lovell-Badgeand R, Goodfellow PN. 1990. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nat.* 346:244.
- Subandryo. 2004. Strategi Pemanfaatan Plasma Nuftah Kambing Lokal dan Peningkatan Mutu Genetik Kambing di Indonesia. Prosiding Lokakarya Nasional Kambing Potong, Bogor 6 Agustus 2004. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan.
- Sureka P, Nilami K, Esuramohan T, Subramiam K, 2013. Sex Pre-selection by Quantification of Y-chromosome Bearing spermatozoa in Goat species. Research Publication. 1:3.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. Molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA) Software version 4. *Mol Biol Evol.* 24:1596-1599.
- Troy CS, MacHugh DE, Bailey JF, Magee DA, Loftus RT, Cunningham P, Chamberlain AT, Sykes BC, Bradley DG. 2001. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European Cattle. *Nature.* 410:1088-1091.
- Wallen VNM. 2006. Genetics, genomics and molecular biology sex determination in small animals. *Theriogenology.* 66:1655-1658.
- Vila C, Leonard JA, Gothenstrom A, Marklund S, Sandberg K, Liden K, Wayne RK, Ellergren H. 2001. Widespread origin of domestic horse lineages. *Science.* 291:474-477.
- Zeder M.A, Hesse B, 2000. The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros Mountain 10,000 years ago. *Science.* 287:2254-2257.