

Keragaman Genetik Sapi Katingan dan Hubungan Kekerabatannya dengan beberapa Sapi Lokal Lain Menggunakan Analisis DNA Mikrosatelit

BAMBANG NGAJI UTOMO¹, R.R. NOOR², C. SUMANTRI², I. SUPRIATNA³ dan E.D. GURNADI²

¹Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Kalimantan Tengah, Palangka Raya

²Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan IPB, Bogor

³Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

(Diterima Dewan Redaksi 21 Februari 2011)

ABSTRACT

UTOMO, B.N., R.R. NOOR, C. SUMANTRI, I. SUPRIATNA and E. GURNARDI. 2011. Evaluation of genetic diversity of Katingan cattle and their genetic relationship with some other local cattle through DNA microsatellite analysis. *JITV* 16(2): 113-126.

Katingan cattle is one of Indonesian animal genetic resources located in Katingan District, Central Kalimantan. The Katingan cattle is predicted to be extinct, therefore it is necessary to conserve the cattle. Breed characterization is the primary step in any conservation program. Characterization was done using 10 microsatellite markers to evaluate the genetic diversity of Katingan Cattle in three subpopulations and their genetic relationship with some other local cattle. A total number of 72 random whole blood of Katingan samples consisted of Pendahara (20 samples), Buntut Bali (20 samples), and Tumbang Lahang (32 samples) were used. The samples of Bali, PO, and Limousine Cattle were 11, 6, and 3 respectively. The number of 136 aleles were found with the variation from 9 aleles (ILSTS089) to 18 aleles (ILSTS013) and the average of the alele was 13.6 aleles per locus. A number of alel from Tumbang Lahang was higher (10.8 aleles) than Pendahara (10.4 aleles) and Buntut Bali subpopulation (7.3 aleles). Some loci produced polymorphic diagnostic aleles which varied from 1-7 types of allele. HEL013 and BM1818 had four aleles, while ILSTS026 and ILSTS089 had five and six aleles respectively. ILSTS029 and ILSTS036 had seven aleles. The diagnostic aleles were also found in Tumbang Lahang subpopulastion, as well as in Pendahara, and Buntut Bali. Heterozigosit values of Pendahara, Buntut Bali, and Tumbang Lahang subpopulation were 0.454, 0.478, and 0.529 respectively. While the average of heterozigosit (\bar{H}) was 0.492. Subpopulation of Tumbang Lahang was closer genetically to Pendahara (0.169) than Buntut Bali (0.173) and also the subpopulation was closer genetically to PO cattle (0.259) when compared to Buntut Bali (0.311) and Pendahara (0.329). The population of Katingan cattle was within one kluster with PO Cattle.

Key Words: Katingan Cattle, Microsatellite, Genetic Diversity

ABSTRAK

UTOMO, B.N., R.R. NOOR, C. SUMANTRI, I. SUPRIATNA and E. GURNARDI. 2011. Keragaman genetik sapi Katingan dan hubungan kekerabatannya dengan beberapa sapi lokal lain menggunakan analisis DNA mikrosatelit. *JITV* 16(2): 113-126.

Sapi Katingan adalah salah satu plasma nutfah ternak yang ada di Kabupaten Katingan, Kalimantan Tengah. Keberadaannya yang dikhawatirkan akan punah, perlu dilakukan perlindungan/konservasi. Karakterisasi adalah tahapan utama dalam program konservasi. Karakterisasi dilakukan secara molekuler dengan menggunakan 10 lokus mikrosatelit dengan tujuan untuk mengevaluasi keragaman genetik molekuler sapi Katingan di tiga subpopulasi dan hubungan kekerabatannya dengan beberapa sapi lokal lainnya. Sebanyak 72 contoh acak yang terdiri atas Pendahara 20 contoh, Buntut Bali 20 contoh, dan Tumbang Lahang 32 contoh digunakan dalam penelitian ini. Sementara itu, contoh sapi lokal lainnya adalah sapi Bali 11 contoh, sapi PO 6 contoh dan sapi Limousin 3 contoh. Hasil skrining 10 set lokus mikrosatelit pada sapi Katingan didapatkan 136 alel dengan kisaran 9 (ILSTS089) sampai 18 alel (ILSTS013) dan dengan rata-rata 13,6 alel per lokus. Jumlah alel pada subpopulasi Tumbang Lahang lebih banyak (10,8 alel), dibandingkan dengan subpopulasi Pendahara (10,4 alel) dan subpopulasi Buntut Bali (7,3 alel). Beberapa lokus tertentu menghasilkan alel diagnostik yang bervariasi dari 1-7 macam alel, yaitu lokus HEL013 dan BM1818 (4 alel), ILSTS026 (5 alel), ILSTS089 (6 alel), lokus ILSTS029 dan ILSTS036 masing-masing 7 alel. Alel-alel diagnostik lebih banyak ditemukan pada subpopulasi Tumbang Lahang, diikuti Pendahara, dan kemudian Buntut Bali. Nilai heterozigosit untuk masing-masing subpopulasi, yaitu Pendahara 0,454, Buntut Bali 0,478, dan Tumbang Lahang 0,529. Sedangkan nilai rataan heterozigosit (\bar{H}) populasi yaitu 0,492. Secara genetik subpopulasi Tumbang Lahang lebih dekat hubungan genetiknya (0,169) dengan subpopulasi Pendahara, dibandingkan dengan subpopulasi Buntut Bali (0,173) dan juga lebih mempunyai kedekatan secara genetik dengan sapi PO (0,259) dibandingkan dengan sapi Katingan dari subpopulasi Buntut Bali (0,311) dan Pendahara (0,329). Secara keseluruhan populasi sapi Katingan berada dalam satu kluster dengan sapi PO.

Kata Kunci: Sapi Katingan, Mikrosatelit, Keragaman Genetik

PENDAHULUAN

Kalimantan Tengah memiliki plasma nutfah sapi lokal yang selama ini kurang mendapatkan perhatian. Sapi tersebut diduga hanya ada di Kabupaten Katingan (di sepanjang daerah aliran sungai Katingan) dan di Kabupaten Gunung Mas (di sepanjang daerah aliran sungai Kahayan). Sapi lokal yang ada di Kabupaten Gunung Mas saat ini sudah sulit di jumpai, bahkan dikhawatirkan sudah hampir punah. Sapi lokal yang ada di Kabupaten Katingan yang dikenal dengan nama sapi Katingan saat ini dipertimbangkan juga berisiko punah, populasi tidak banyak, sering dimanfaatkan sebagai hewan korban untuk berbagai kegiatan adat istiadat dan sering dikawinkan dengan sapi lokal lainnya (sapi Bali dan PO).

Sapi lokal Kalimantan Tengah sangat unik karena hanya dipelihara oleh masyarakat lokal (suku Dayak) secara ekstensif di sepanjang daerah aliran sungai dalam bentuk ranch-ranch atau bahkan dilepas di hutan. Keunggulan sapi ini adalah telah beradaptasi dengan lingkungan yang ekstrim, berdasarkan pengamatan dan informasi petugas belum pernah ditemukan adanya penyakit infeksius, angka fertilitas relatif tinggi dan lama produksi tinggi (mampu mencapai 11 kali beranak). Keberadaan sapi sudah ratusan tahun, dengan demikian merupakan sumberdaya genetik ternak (plasma nutfah) yang dapat dikembangkan untuk perbaikan mutu genetik sapi lokal Indonesia. Khusus untuk sapi yang ada di Kabupaten Katingan atau dikenal dengan nama sapi Katingan tingkat penyebarannya terbatas dan hanya beberapa lokasi yang populasinya agak besar. Perlindungan (konservasi) dan seleksi sapi Katingan adalah sangat penting untuk menghasilkan rumpun sapi yang bermutu dan adaptif dengan lingkungan. Tidak seperti halnya sapi lokal lainnya yang sudah banyak dilakukan penelitian (SARBAINI, 2004; ABDULLAH, 2008; WINAYA *et al.*, 2007; HARTATI *et al.*, 2010), informasi mengenai sapi Katingan dari berbagai aspek masih sangat terbatas bahkan ASTUTI *et al.* (2007) melaporkan tidak ada data. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian yang bersifat eksploratif.

Karakterisasi sapi Katingan adalah tahapan utama pada program konservasi. *Breeding* dan program konservasi dapat ditentukan melalui karakterisasi keragaman genetik ternak (RINCON *et al.*, 2007). Beberapa cara dilakukan untuk karakterisasi ternak, karakterisasi pada tingkat DNA akan memberikan hasil yang lebih akurat, namun kelemahannya membutuhkan fasilitas yang memadai dan dana yang besar (MANSJOER *et al.*, 2007). Banyak penelitian sudah dilakukan untuk karakterisasi berbagai rumpun sapi menggunakan alat molekuler dan yang paling sering digunakan adalah lokus mikrosatelit (PEREIRA *et al.*,

2003; IBEAGHA *et al.*, 2004; METTA *et al.*, 2004; LIRON *et al.*, 2006).

Pada saat ini mikrosatelit adalah pilihan terbaik dan penting untuk karakterisasi rumpun sapi atau populasi (METTA *et al.*, 2004; RINCON *et al.*, 2007). Marka genetik tersebut juga sering digunakan untuk menjawab pertanyaan terkait dengan keragaman genetik dan hubungan genetik diantara populasi sapi (RINCON *et al.*, 2007; SUN *et al.*, 2008; CHAUDHARI *et al.*, 2009). Lokus mikrosatelit disukai karena polimorfisme yang tinggi (banyak alel dalam populasi), kodominan (segregasi homozigot dan heterozigot), relatif melimpah dalam genom (RINCON *et al.*, 2007; KARTHICKEYAN *et al.*, 2008). Mikrosatelit disebut juga sebagai *short tandem repeats* (STRs) yang merupakan runutan DNA pendek berulang dengan panjang antara 1-5 bp serta memiliki panjang total sekitar 10-100 bp. Runutan DNA yang berulang meliputi DNA satelit, DNA mini satelit dan DNA mikrosatelit yang dalam genom memiliki jumlah total 15%. DNA mikrosatelit ditemukan pada prokariot dan eukariot termasuk pada mamalia (BENNET, 2000). Motif yang berulang pada mikrosatelit biasanya adalah di-nucleotide, misalnya ATATAT (KARTHICKEYAN *et al.*, 2008).

Informasi mengenai keragaman DNA mikrosatelit pada sapi-sapi lokal Indonesia telah dilaporkan sebelumnya (SATRIANI *et al.*, 2002; SARBAINI, 2004; WINAYA *et al.*, 2007; ABDULLAH, 2008), akan tetapi belum pernah dilaporkan pada sapi Katingan. Tujuan penelitian adalah mengevaluasi keragaman genetik molekuler pada tiga subpopulasi sapi Katingan dan hubungan kekerabatan dengan beberapa sapi lokal lainnya dengan menggunakan lokus mikrosatelit.

MATERI DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah contoh darah sapi Katingan, PO, Bali dan Limousin, pereaksi isolasi dan ekstraksi DNA, pereaksi PCR, 10 lokus atau primer mikrosatelit dan pereaksi pewarnaan perak.

Koleksi contoh sapi Katingan dilakukan di tiga kecamatan sebagai subpopulasi yang terletak di Kabupaten Katingan, yaitu di Kecamatan Tewah Sanggalang Garing dengan lokasi utama di Kelurahan Pendaharan, Kecamatan Pulau Malan dengan lokasi utama di Desa Buntut Bali dan Kecamatan Katingan Tengah dengan lokasi utama di Desa Tumbang Lahang. Pertimbangan dilaksanakan di ketiga lokasi tersebut karena populasi sapi paling banyak ditemukan. Lokasi penelitian terletak di sepanjang daerah aliran sungai (DAS) Katingan.

Sapi lokal Kalimantan Tengah dinamakan sapi Katingan berdasarkan lokasi tempat pemeliharannya. Ciri khas sapi Katingan lebih mudah dikenali pada sapi betinanya, yaitu sebagian besar pertumbuhan tanduknya

melengkung ke depan dan ada tonjolan diantara dua tanduknya (Gambar 1).

Pengambilan contoh darah sapi Katingan dilakukan secara acak dan diambil sebanyak-banyaknya sesuai kondisi di lapangan. Sebagai pembanding masing-masing diambil contoh darah dari sapi Bali, PO dan Limousin yang didatangkan ke wilayah Kalimantan Tengah. Darah diambil dari vena jugularis sebanyak 5 ml, dimasukkan ke dalam *tube test* 12 ml yang telah ditambahkan alkohol 96% sebanyak 5 ml dan diberi label. Distribusi contoh darah untuk pemeriksaan keragaman genetik disajikan pada Tabel 1.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Genetika

dan Pemuliaan Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor selama 7 (tujuh) bulan dari bulan Mei sampai November 2010.

Ekstraksi dan pemurnian DNA

Modifikasi metode SAMBROOK *et al.* (1989) digunakan untuk ekstraksi dan pemurnian (purifikasi) DNA, yaitu menggunakan buffer lisis sel (350 µl 1 x STE dan 40 µl 10% SDS) dan 10 µl proteinase-K. DNA dimurnikan dengan metode fenol-kloroform, yaitu dengan menambahkan 40 µl 5 M NaCl, 400 µl fenol dan 400 µl kloroform iso amil alkohol (CIAA: 24:1).



Gambar 1. Performan sapi Katingan jantan (kiri) dan betina (kanan) serta ciri khas berupa bentuk tanduk dominan melengkung ke depan dan tonjolan pada kepala sapi Katingan betina

Tabel 1. Distribusi sampel darah sapi untuk pemeriksaan keragaman genetik

Lokasi	Contoh darah sapi							
	Katingan		Bali		PO		Limousin	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Kabupaten Katingan								
Kecamatan Tewah Sanggalang Garing (Kelurahan Pendahara)	5	15	-	-	-	-	-	-
Kecamatan Pulau Malan (Desa Buntut Bali)	2	18	-	-	-	-	-	-
Kecamatan Katingan Tengah (Desa Tumbang Lahang)	8	24	-	1	-	6	-	-
Kalimantan Tengah	-	-	7	3	-	-	3	-
Jumlah sampel	15	57	7	4	0	6	3	0

DNA diendapkan dengan 40 µl 5 M NaCl dan 800 µl etanol absolut. Endapan dicuci dengan menambahkan 800 µl 70% etanol, disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit, etanol dibuang dan diuapkan, selanjutnya DNA dilarutkan dengan 100 µl 80% buffer TE.

Amplifikasi DNA mikrosatelit dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)

Reaksi PCR dilakukan menurut metode SAMBROOK *et al.* (1989) yang telah dimodifikasi dengan pencampuran merata 1 µl DNA, 1,25 µl 10 x PCR Dream taq buffer, 0,5 µl MgCl₂, 0,1 µl dNTP dan 0,1 µl masing-masing primer (10 primer). Larutan kemudian ditambahkan 0,05 µl enzim Taq polimerase (Taq Permentas) dan air steril sampai volume 12 µl. Tabung PCR ini diinkubasi pada mesin *thermocycler*, dengan program sebagai berikut: Tahap I dilakukan 1 x ulangan, meliputi proses denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, penempelan primer pada suhu optimasi selama 30 detik, pemanjangan fragmen DNA pada suhu 72°C selama 45 detik. Tahap II dilakukan 35 x ulangan, meliputi denaturasi pada suhu 95°C selama

20 detik, penempelan primer pada suhu optimasi selama 30 detik, pemanjangan fragmen DNA pada suhu 72°C selama 45 detik. Tahap III dilakukan pemanjangan akhir fragmen DNA pada suhu 72°C selama 5 menit.

Primer yang digunakan untuk memperoleh data sebaran dan jumlah alel mikrosatelit adalah primer sapi sebanyak 10 lokus dengan masing-masing suhu optimasinya berdasarkan beberapa kali pengamatan disajikan pada Tabel 2.

Analisis produk PCR dan deteksi alel DNA

Analisis produk DNA dan deteksi terhadap alel DNA mikrosatelit dilakukan dengan elektroforesis pada gel poliakrilamida 6% (*Polyacrilamide Gel Electrophoresis: PAGE*) (KARTHICKEYAN *et al.*, 2008; MISHRA *et al.*, 2009) dan pewarnaan dengan metode pewarnaan perak (TEGELSTROM, 1992).

Penentuan posisi pita DNA

Penentuan genotipe dilakukan dengan cara melihat banyaknya pita pada gel elektroforesis, heterozigot

Tabel 2. Karakteristik 10 lokus mikrosatelit

Lokus	Primer sekuening	Pustaka	Suhu optimasi*
ILSTS045	TTCTGGCAAATATTCCACC	KEMP <i>et al.</i> (1995)	57°C
	CATGAAAGACACAGATGACC		
HEL013	TAAGGACTTGAGATAAGGAG	ARMSTRONG <i>et al.</i> (2006)	55°C
	CCATCTACCTCCATCTAAC		
ILSTS017	GTCCCCTAAATCGAAATGCC	KEMP <i>et al.</i> (1995)	60°C
	GCATCTCTATAACCTGTTCC		
ILSTS089	AATTCCGTGGACTGAGGAGC	KEMP <i>et al.</i> (1995)	60°C
	AAGGAACTTCAACCTGAGG		
ILSTS029	TGTTTGATGGAACACAGCC	KEMP <i>et al.</i> (1995)	60°C
	TGGATTTAGACCAGGGTTGG		
ILSTS061	AAATTATAGGGGCCATACGG	KEMP <i>et al.</i> (1995)	60°C
	TGGCCTACCCCTACCATTCC		
CSSM066	ACACAAATCCTTCTGCCAGCTGA	BARENDESE <i>et al.</i> (1997)	60°C
	AATTAAATGCACTGAGGAGCTTGG		
BM1818	AGCTGGGAATATAACCAAAGG	BISHOP <i>et al.</i> (1994)	62°C
	AGTGCTTCAAGGTCCATGC		
ILSTS036	GAGTATTATGCTTGGGAGGC	KEMP <i>et al.</i> (1995)	61°C
	AGACAGGATGGAAAGTCACC		
ILSTS026	CTGAATTGGCTCAAAGGCC	KEMP <i>et al.</i> (1995)	55°C
	AAACAGAAGTCCAGGGCTGC		

*Hasil penelitian sendiri

ditunjukkan dengan dua pita, sedangkan homozigot satu pita. Skoring pita yang paling bawah diberi sandi A, B, C, dan seterusnya sampai pita paling atas. Pita yang memiliki laju sama merupakan alel yang homolog (SUMANTRI *et al.*, 2008). Frekuensi alel diperoleh dengan menghitung langsung jumlah satu alel terhadap total alel yang dihasilkan oleh satu lokus tertentu dalam satu subpopulasi/populasi. Frekuensi masing-masing alel setiap lokus mikrosatelit dihitung berdasarkan rumus NEI (1987):

$$X_i = (2n_{ii} + \sum n_{ij}) / (2N)$$

$$j \neq i$$

X_i = frekuensi alel ke-i

n_{ij} = jumlah individu untuk genotip A^iA^j

n_{ii} = jumlah individu untuk genotip A^iA^i

N = jumlah sampel

Derajat heterozigositas (\hat{h}) dihitung berdasarkan frekuensi alel pada tiap lokus DNA mikrosatelit dengan rumus NEI (1987) sebagai berikut:

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

x_i = frekuensi alel lokus ke-i

n = jumlah sampel

$$\hat{h} = \text{heterozigositas lokus}$$

Rataan heterozigositas (\hat{H}) dari semua lokus DNA mikrosatelit yang diuji (r) dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

\hat{h}_j = Derajat heterozigositas untuk lokus ke-j

r = Jumlah lokus yang diuji

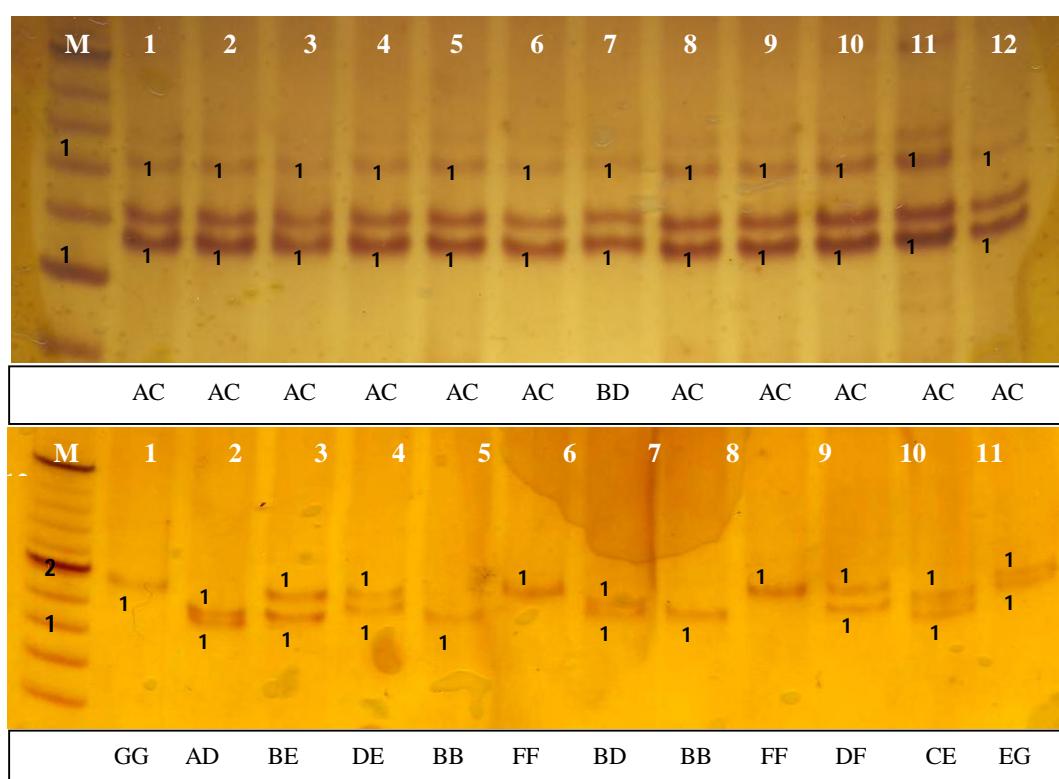
\hat{H} = Rataan heterozigositas

Perhitungan jumlah alel, frekuensi alel, heterozigositas dan jarak genetik (NEI, 1978) diestimasikan menggunakan software POPGENE (SODHI *et al.*, 2006; REHMAN dan KHAN, 2009), demikian juga untuk konstruksi pohon filogeniknya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman genetik

Hasil amplifikasi PCR terhadap lokus-lokus mikrosatelit pada sampel DNA genom sapi Katingan menghasilkan pita/alel sebagaimana ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pola pita 2 lokus mikrosatelit ILSTS017 (atas) dan ILSTS045 (bawah) hasil elektroforesis PAGE 6% pada genom sapi Katingan. M: marker DNA, Lajur 1-12: produk PCR

Keragaman genetik dari populasi dapat dievaluasi melalui jumlah alel per lokus, rata-rata jumlah alel untuk semua lokus, dan heterozigositas (SUN *et al.*, 2008). Hasil pengukuran keragaman genetik pada 72 contoh sapi Katingan dengan menggunakan 10 lokus mikrosatelit, menunjukkan bahwa semua lokus adalah polimorfik. Pada penelitian ini digunakan lokus-lokus yang unit ulangannya lebih dari sepuluh, dimana menurut WEBER (1990), polimorfisme makin tinggi apabila unit ulangannya tergandakan lebih dari 10 kali lipat. Rata-rata jumlah alel per lokus di tiga subpopulasi sapi Katingan adalah 13,6. FAO menyarankan bahwa 5 alel yang berbeda per lokus diperlukan untuk mengestimasi perbedaan genetik antar rumpun (METTA *et al.*, 2004), sedangkan menurut SUN *et al.* (2008) paling sedikitnya harus ada 4 alel untuk mengurangi *standar error*. Berdasarkan pertimbangan tersebut 10 lokus mikrosatelit yang digunakan pada penelitian ini layak untuk menganalisis keragaman genetik populasi.

Jumlah dan sebaran alel

Keseluruhan lokus mikrosatelit berhasil diamplifikasi, menghasilkan jumlah dan ukuran alel sebagaimana disajikan pada Tabel 3. Sebanyak 136 alel berhasil dideteksi dengan kisaran 9 (CSSM066) sampai 18 alel (ILSTS045) dan rata-rata tiap lokusnya adalah 13,6 alel. Jumlah alel yang dihasilkan pada subpopulasi Tumbang Lahang lebih banyak (10,8 alel), dibandingkan dengan subpopulasi Pendahara (10,4 alel) dan subpopulasi Buntut Bali (7,3 alel). Menurut

FATIMA (2007) jumlah alel yang dihasilkan banyak tergantung pada ukuran sampel (populasi), dimana jumlah observasi alel cenderung meningkat dengan meningkatnya ukuran populasi. Senada dengan yang disampaikan oleh SUN *et al.* (2008) bahwa pada populasi yang lebih besar dapat dideteksi jumlah alel yang lebih besar dengan frekuensi yang rendah. Perbedaan macam (ukuran) dan jumlah alel yang dihasilkan menunjukkan bahwa subpopulasi sapi Katingan memiliki tingkat keragaman genetik yang relatif tinggi, hasil ini didukung oleh pendapat KARTHICKEYAN *et al.* (2009), bahwa meningkatnya jumlah alel pada lokus yang berbeda akan meningkatkan rata-rata keragaman genetik dalam populasi.

Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian lain di Indonesia, rata-rata jumlah alel per lokus pada populasi sapi Katingan relatif lebih besar. SARBAINI (2004) melaporkan pada sapi Pesisir sebesar 11,7 alel, sedangkan pada sapi Aceh dilaporkan oleh ABDULLAH (2008) sebesar 9,25 alel. Namun SUN *et al.* (2008), melaporkan rata-rata jumlah alel pada sapi Cina (8 rumpun) jauh lebih besar, yaitu 29,33 alel. Sapi-sapi yang relatif murni dan telah berkembang lama di masyarakat berdasarkan hasil-hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah alel per lokus relatif lebih kecil, sebagai contoh pada sapi Bali (1,94 alel), sapi Madura (2,19 alel) (WINAYA *et al.*, 2007), sapi PO (2,63-4 alel) (WINAYA *et al.*, 2007; SATRIANI *et al.*, 2002), dan sapi Ongole India (3,88-4,5 alel) (METTA *et al.*, 2004; KARTHICKEYAN *et al.*, 2008).

Tabel 3. Jumlah alel yang dihasilkan setiap lokus DNA mikrosatelit pada sapi Katingan di tiga subpopulasi (Pendahara, Buntut Bali dan Tumbang Lahang)

Lokus	Total alel	Ukuran alel	Jumlah alel pada subpopulasi (%)		
			Pendahara	Buntut Bali	Tumbang Lahang
ILSTS045	18	144-198	14 (77,8)	10 (55,6)	17 (94,4)
HEL013	12	174-204	10 (83,3)	5 (41,7)	9 (75,0)
ILSTS017	10	105-125	10 (100,0)	6 (60,0)	7 (70,0)
ILSTS089	14	150-184	8 (57,1)	6 (42,9)	11 (78,6)
ILSTS029	16	148-180	12 (75,0)	7 (43,8)	12 (75,0)
ILSTS061	14	136-164	11 (78,6)	6 (42,9)	11 (78,6)
CSSM066	9	168-188	7 (77,8)	7 (77,8)	8 (88,9)
BM1818	13	256-286	9 (69,2)	8 (61,5)	11 (84,6)
ILSTS036	16	138-178	12 (75,0)	10 (62,5)	11 (68,8)
ILSTS026	14	140-168	11 (78,6)	8 (57,1)	11 (78,6)
Jumlah alel	136		104	73	108
Rata-rata alel	13,6		10,4	7,3	10,8

Berdasarkan pada macam alel yang dihasilkan pada setiap lokus dari 10 lokus mikrosatelit pada ketiga subpopulasi sapi Katingan diperoleh sebaran frekuensi alel sebagaimana terlihat pada Gambar 3. Frekuensi, jenis dan ukuran alel dari yang terendah sampai yang tertinggi disajikan pada Tabel 4.

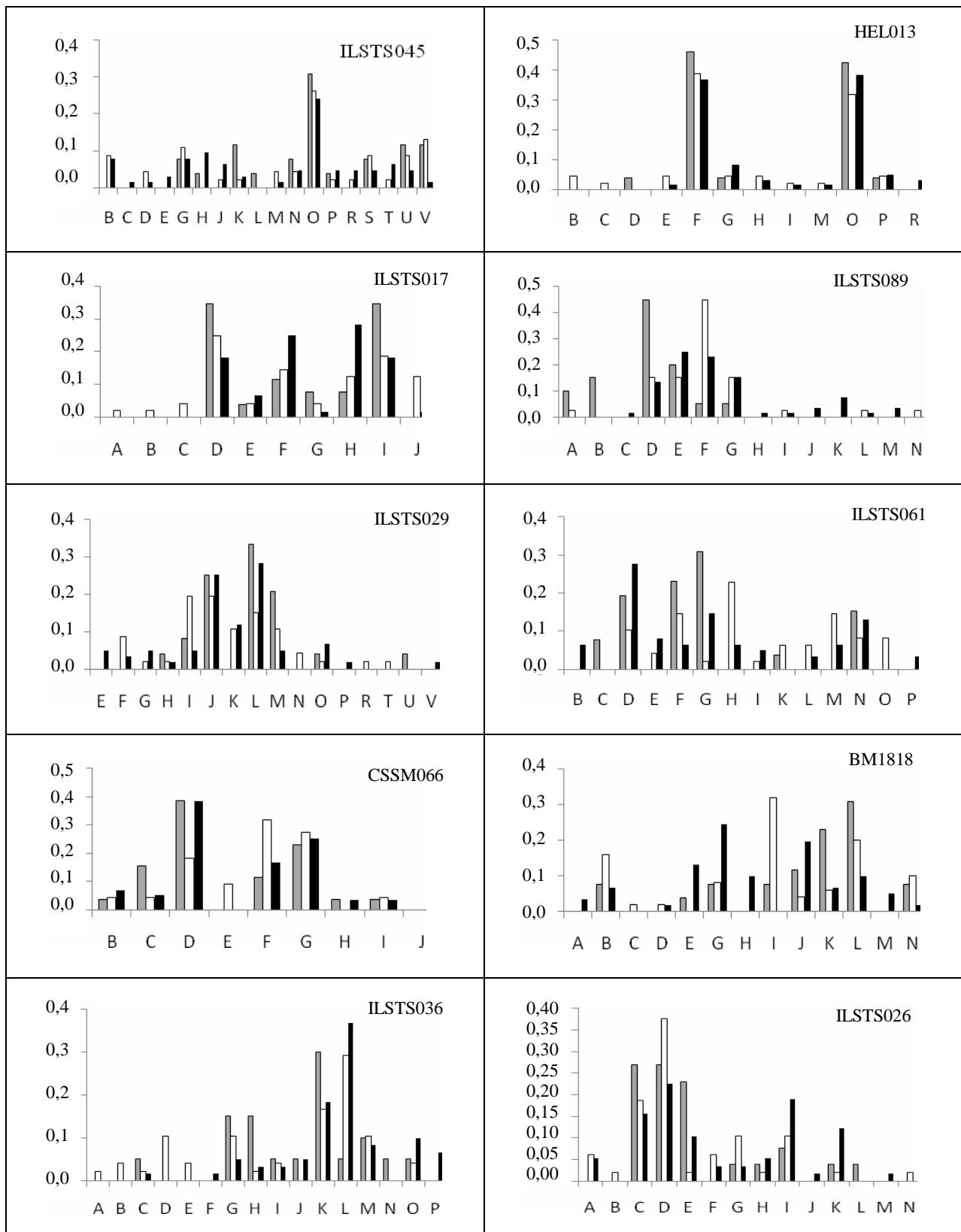
Beberapa alel dari beberapa lokus menunjukkan frekuensi yang tinggi pada ketiga subpopulasi sapi Katingan, namun dominasi atau frekuensi tertinggi alel-alel tersebut lebih banyak ditemukan pada sapi Katingan subpopulasi Buntut Bali (Gambar 3). Hal ini mengindikasikan bahwa Sapi Katingan di subpopulasi Buntut Bali relatif lebih seragam atau lebih murni dibandingkan dengan sapi Katingan yang ada di Pendahara dan Tumbang Lahang. Selain itu, menurut SUMANTRI *et al.* (2008) tingginya frekuensi alel

tersebut bisa menjadi indikasi adanya kekhususan marka penciri. Adapun frekuensi alel terendah banyak ditemukan pada subpopulasi Tumbang Lahang. Jumlah contoh pemeriksaan dari subpopulasi Tumbang Lahang lebih banyak dibandingkan dari subpopulasi Pendahara dan Buntut Bali dan ini memungkinkan lebih banyak munculnya alel namun dengan frekuensi rendah (SUN *et al.*, 2008).

Frekuensi alel pada setiap lokus dan subpopulasi sangat bervariasi. Beberapa lokus menghasilkan beberapa alel yang hanya ditemukan pada subpopulasi tertentu yang menurut SARBAINI (2004) disebut alel diagnostik yang dapat digunakan untuk membedakan antara ketiga subpopulasi, sebagaimana terlihat pada Gambar 3 dan secara ringkas ukuran alelnya disajikan pada Tabel 5.

Tabel 4. Sebaran frekuensi alel tertinggi dan terendah pada populasi sapi Katingan yang diskripting dengan 10 lokus DNA mikrosatelit

Lokus	Sebaran alel					
	Tertinggi			Terendah		
	Frekuensi alel (%)	Ukuran (bp)	Lokasi	Frekuensi alel (%)	Ukuran (bp)	Lokasi
ILSTS045	O (0,31)	180	Buntut Bali	C (0,02)	148	Tumbang Lahang
				D (0,02)	154	Tumbang Lahang
				M (0,02)	176	Tumbang Lahang
				V (0,02)	198	Tumbang Lahang
HEL013	F (0,46)	182	Buntut Bali	E (0,02)	180	Tumbang Lahang
				I (0,02)	188	Tumbang Lahang
				M (0,02)	196	Tumbang Lahang
ILSTS017	D (0,35)	113	Buntut Bali	G (0,02)	119	Tumbang Lahang
				I (0,02)	125	Tumbang Lahang
ILSTS089	D (0,45)	158	Buntut Bali	C (0,02)	156	Tumbang Lahang
				H (0,02)	166	Tumbang Lahang
ILSTS029	F (0,45)	162	Pendahara	I (0,02)	168	Tumbang Lahang
				L (0,02)	178	Tumbang Lahang
				H (0,02)	154	Tumbang Lahang
				P (0,02)	170	Tumbang Lahang
ILSTS061	L (0,33)	162	Buntut Bali	V (0,02)	180	Tumbang Lahang
				G (0,02)	146	Pendahara
				I (0,02)	150	Pendahara
CSSM066	D (0,38)	172	Buntut Bali	J (0,02)	188	Tumbang Lahang
BM1818	I (0,32)	276	Pendahara	D (0,02)	264	Tumbang Lahang
				N (0,02)	286	Tumbang Lahang
ILSTS036	L (0,37)	160	T. Lahang	C (0,02)	142	Tumbang Lahang
				F (0,02)	148	Tumbang Lahang
ILSTS026	D (0,38)	148	Pendahara	J (0,02)	160	Tumbang Lahang
				M (0,02)	166	Tumbang Lahang



Gambar 3. Frekuensi alel pada 10 lokus

Tabel 5. Alel-alel pada sepuluh lokus mikrosatelit yang hanya ditemukan pada sapi Katingan subpopulasi Buntut Bali, Pendahara dan Tumbang Lahang

Lokus	Alel diagnostik	Ukuran alel (bp)	Lokasi alel
ILSTS045	C	148	Tumbang Lahang
HEL013	B, C	174, 176	Pendahara
	D	178	Buntut Bali
	R	204	Tumbang Lahang
ILSTS017	A, B, C	105, 109, 111	Pendahara
ILSTS089	C, H, J, K, M	156, 166, 170, 174, 180	Tumbang Lahang
	N	184	Pendahara
ILSTS029	E, P, V	148, 170, 180	Tumbang Lahang
	N, R, T	166, 172, 176	Pendahara
	U	178	Buntut Bali
ILSTS061	B, P	136, 164	Tumbang Lahang
	C	138	Buntut Bali
	O	162	Pendahara
CSSM066	E	176	Pendahara
	J	188	Tumbang Lahang
BM1818	A, H, M	256, 274, 284	Tumbang Lahang
	C	262	Pendahara
ILSTS036	A, B, D, E	138, 140, 144, 146	Pendahara
	F, P	148, 178	Tumbang Lahang
	N	164	Buntut Bali
ILSTS026	B, N	144, 168	Pendahara
	J, M	160, 166	Tumbang Lahang
	L	164	Buntut Bali

Alel diagnostik yang dihasilkan bervariasi dari 1-7 macam alel. Beberapa lokus tertentu menghasilkan alel diagnostik yang cukup banyak, yaitu lokus HEL013 dan BM1818 (4 alel), ILSTS026 (5 alel), ILSTS089 (6 alel), lokus ILSTS029 dan ILSTS036 masing-masing 7 alel. Alel-alel diagnostik lebih banyak ditemukan pada sapi Katingan subpopulasi Tumbang Lahang, diikuti Pendahara dan kemudian Buntut Bali.

Jumlah dan sebaran genotipe

Berdasarkan pada macam dan jumlah alel yang dihasilkan oleh setiap lokus mikrosatelit pada masing-masing contoh untuk setiap subpopulasi, diperoleh jumlah sebaran genotipe sebagaimana disajikan pada Tabel 6.

Keseluruhan lokus mampu menghasilkan genotipe-genotipe khas untuk masing-masing subpopulasi sapi

Katingan (Pendahara, Buntut Bali dan Tumbang Lahang). Genotipe khas tertinggi (33,33%) dihasilkan oleh lokus ILSTS089 pada subpopulasi Tumbang Lahang dan terendah (3,13%) dihasilkan oleh lokus BM1818 pada subpopulasi Buntut Bali. Adanya kepemilikan genotipe khas pada masing-masing subpopulasi menurut SARBAINI (2004) dapat menjadi indikasi bahwa ketiga subpopulasi sapi Katingan ini berbeda secara genetik. Semakin tinggi proporsi genotipe khas yang dimiliki oleh suatu kelompok atau individu semakin tinggi pula derajat perbedaan genetik mereka. Sebaliknya, semakin besar jumlah genotipe yang dimiliki bersama antar individu atau kelompok ternak semakin tinggi pula tingkat kesamaan genetik mereka. Lebih lanjut dikatakan SARBAINI (2004) bahwa semakin banyak satu lokus menghasilkan genotipe-genotipe khas pada individu atau kelompok ternak, semakin besar pula kemungkinan lokus mikrosatelit tersebut dapat

Tabel 6. Sebaran genotipe untuk masing-masing lokus mikrosatelit pada tiga subpopulasi sapi Katingan

Lokus	Jumlah genotipe	Jumlah genotipe pada subpopulasi (%)			\sum genotipe campuran di subpopulasi
		Pendahara	Buntut Bali	Tumbang Lahang	
ILSTS045	47	4 (8,51)	2 (4,26)	11 (23,40)	30 (63,83)
HEL013	17	5 (29,41)	1 (5,88)	3 (17,65)	8 (47,06)
ILSTS017	21	3 (14,29)	1 (4,76)	2 (9,52)	15 (71,43)
ILSTS089	30	3 (10,00)	3 (10,00)	10 (33,33)	14 (46,67)
ILSTS029	39	6 (15,38)	4 (10,26)	8 (20,51)	21 (53,85)
ILSTS061	34	7 (20,59)	2 (5,88)	6 (17,65)	19 (55,88)
CSSM066	25	2 (8,00)	3 (12,00)	4 (16,00)	16 (64,00)
BM1818	32	3 (9,38)	1 (3,13)	8 (25,00)	20 (62,50)
ILSTS036	38	6 (15,79)	6 (15,79)	9 (23,68)	17 (44,74)
ILSTS026	38	6 (15,79)	3 (7,89)	10 (26,32)	19 (50,00)

digunakan sebagai lokus penanda (lokus diagnostik) atau pembeda genetik baik antar individu maupun antar subpopulasi ternak.

Nilai heterozigositas alel

Nilai heterozigositas (\hat{h}) merupakan cara yang paling akurat untuk mengukur variasi genetik (SUMANTRI, 2008). Nilai heterozigositas dan rataan heterozigositas (\hat{H}) ke sepuluh lokus mikrosatelit pada tiga subpopulasi sapi Katingan disajikan pada Tabel 7.

Nilai heterozigositas (\hat{h}) terendah (0,000) ditemukan pada subpopulasi Pendahara yaitu pada lokus CSSM066 dan tertinggi ditemukan pada subpopulasi Buntut Bali dan Tumbang Lahang yaitu pada lokus ILSTS017 dan HEL013 (1,000). Rataan heterozigositas (\hat{H}) untuk masing-masing subpopulasi, yaitu 0,454 (Pendahara), 0,478 (Buntut Bali) dan 0,529 (Tumbang Lahang). TAKEZAKI dan NEI (1996) menekankan untuk mengukur keragaman genetik, rataan heterozigositas dari lokus-lokus mikrosatelit antara 0,3 dan 0,8 dalam populasi. Lokus heterozigositas pada tiga subpopulasi dari penelitian ini berkisar antara 0,454 sampai 0,529, dengan demikian sesuai kategori tersebut. Heterozigositas sapi Katingan asal subpopulasi Tumbang Lahang mempunyai nilai lebih tinggi dibandingkan dengan yang berasal dari Pendahara dan Buntut Bali. Menurut NEI (1987), tingkat heterozigositas dapat dipengaruhi oleh ukuran atau jumlah populasi. Heterozigositas yang tinggi pada subpopulasi/populasi menurut ABDULLAH (2008) menunjukkan bahwa sapi-sapi tersebut mengandung alel-alel sapi lain. Hal ini dimungkinkan karena di lokasi Tumbang Lahang telah dikembangkan sapi jenis

Zebu, PO, Bali bahkan juga FH melalui berbagai program, baik dari Pemerintah maupun dari misionaris. Misionaris bekerja di Tumbang Lahang diantaranya pada saat itu untuk membina masyarakat lokal (Suku Dayak) guna melakukan kegiatan pertanian menetap. Dalam rangka mendukung kegiatan pertanian tersebut dikembangkan pula sapi-sapi (sapi Zebu) yang dapat membantu untuk mengolah lahan. Sapi-sapi introduksi tersebut ada yang dikawin silangkan dengan sapi lokal setempat. Adanya kawin silang menimbulkan segregasi gen-gen sapi-sapi tersebut yang beragam dan meluas pada populasi sapi Katingan yang ada di Tumbang Lahang, dan membentuk performan sapi Katingan subpopulasi Tumbang Lahang seperti sekarang ini. Tidak adanya kegiatan seleksi sebagaimana yang ada di lapangan, menurut KARTHICKEYAN *et al.* (2009) memunculkan tingginya alel observasi menggambarkan keragaman genetiknya yang tinggi. Hal yang sama terjadi dengan sapi-sapi Katingan yang ada di Pendahara, dimana di lokasi tersebut sudah berkembang pula sapi lokal lain. Hal ini berbeda dengan subpopulasi sapi Katingan yang ada di Buntut Bali, dimana tidak ditemukan sapi lokal lainnya sejauh ini.

Nilai rataan heterozigositas populasi (\hat{H}) sapi Katingan sebagaimana disajikan pada Tabel 7 relatif tinggi, yaitu 0,492. WINAYA *et al.* (2007) melaporkan rataan heterozigositas pada populasi Sapi Bali, Madura, PO dan Brangus yang diskriptif dengan 16 lokus mikrosatelit berturut-turut adalah 0,33, 0,31, 0,46 dan 0,40. SATRIANI *et al.* (2002) melaporkan keragaman genetik pada 4 subpopulasi sapi PO dengan kisaran nilai \hat{H} lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian ini, yaitu 0,505 sampai 0,606. Demikian juga dengan yang dilaporkan oleh ABDULLAH (2008), nilai rataan heterozigositas lebih tinggi, yaitu pada sapi Aceh 0,622,

sapi Bali 0,491, sapi Madura 0,900, sapi PO 0,733 dan sapi Pesisir 0,667.

Jarak genetik dan kekerabatan sapi Katingan dengan beberapa sapi lokal lainnya

Matrik jarak genetik NEI, menunjukkan bahwa sapi Katingan subpopulasi Tumbang Lahang mempunyai jarak genetik yang lebih dekat (0,169) dengan sapi Katingan subpopulasi Pendahara, dibandingkan dengan subpopulasi Buntut Bali (0,173) (Tabel 8). Hasil ini sinkron dengan hasil pohon filogenik yang dibangun berdasarkan morfometrik (UTOMO *et al.*, 2010). Secara geografis lokasi Buntut Bali terletak diantara Pendahara dan Tumbang Lahang, sehingga diduga letak geografis tidak mempengaruhi adanya perbedaan genetik. Kondisi

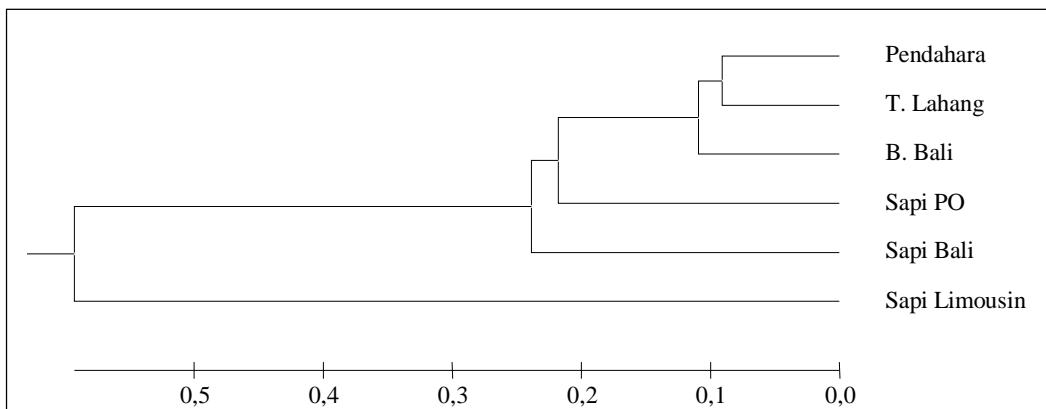
di lapangan menunjukkan bahwa mobilitas ternak antar subpopulasi relatif jarang sehingga kemungkinan terjadinya perkawinan antar subpopulasi juga kecil. Kondisi ini bisa dipahami mengingat sarana transportasi (kendaraan pengangkut) yang menghubungkan di ketiga lokasi sangat minim, terlebih kalau hujan jalan banjir dan sulit dilalui oleh kendaraan. Perbedaan genetik antar subpopulasi diduga karena manajemen perkawinan, di Tumbang Lahang banyak dilakukan kawin silang dengan sapi lokal lainnya, demikian juga kecenderungan yang terjadi di Pendahara. Dengan demikian adanya persilangan diduga menyebabkan sapi-sapi Katingan yang ada di Tumbang Lahang dan Pendahara mempunyai jarak genetik yang lebih dekat dibandingkan dengan sapi-sapi Katingan yang ada di Buntut Bali.

Tabel 7. Nilai heterozigositas dan rataan heterozigositas ke-10 lokus mikrosatelit pada tiga subpopulasi dan populasi sapi Katingan

Lokus	Heterozigositas (\hat{h})			Populasi
	Pendahara	Buntut Bali	Tumbang Lahang	
ILSTS045	0,609	0,539	0,355	0,478
HEL013	0,955	1,000	1,000	0,985
ILSTS017	1,000	1,000	0,967	0,985
ILSTS089	0,250	0,300	0,539	0,393
ILSTS029	0,565	0,750	0,733	0,677
ILSTS061	0,292	0,077	0,258	0,235
CSSM066	0,000	0,308	0,200	0,154
BM1818	0,160	0,077	0,355	0,232
ILSTS036	0,208	0,500	0,300	0,297
ILSTS026	0,500	0,231	0,586	0,485
Rataan Heterozigositas (\bar{h}) subpopulasi	0,454	0,478	0,529	
Rataan Heterozigositas (\bar{h}) populasi				0,492

Tabel 8. Matrik jarak genetik di tiga subpopulasi sapi Katingan (Pendahara, Buntut Bali dan Tumbang Lahang), sapi PO, sapi Bali dan sapi Limousin

Populasi	1	2	3	4	5	6
Sapi Katingan (Subpopulasi Buntut Bali)	0,000					
Sapi Katingan (Subpopulasi Pendahara)	0,236	0,000				
Sapi Katingan (Subpopulasi Tumbang Lahang)	0,173	0,169	0,000			
Sapi Bali	0,409	0,538	0,413	0,000		
Sapi PO	0,311	0,329	0,259	0,324	0,000	
Sapi Limousin	1,275	1,234	1,479	0,803	1,078	0,000



Gambar 4. Pohon filogenetik pada tiga subpopulasi sapi Katingan dan dengan beberapa sapi lokal lain

Sapi Katingan subpopulasi Tumbang Lahang lebih mempunyai kedekatan genetik dengan sapi PO (0,259) dibandingkan dengan sapi Katingan subpopulasi dari Buntut Bali (0,311) dan Pendahara (0,329). Hasil perhitungan tersebut diperkuat dengan dendogram jarak genetik hasil analisis DNA mikrosatelit sebagaimana disajikan pada Gambar 4.

Hasil ini sangat realistik karena di Tumbang Lahang telah lama dikembangkan sapi dari kelompok *Bos indicus* dan sekarang berkembang dengan baik. Secara keseluruhan menunjukkan bahwa populasi sapi Katingan berada dalam satu kluster dengan sapi PO. ABDULLAH (2008) melaporkan bahwa sapi Aceh juga mempunyai kedekatan secara genetik dengan sapi PO. Sapi Bali mempunyai kluster yang terpisah dengan sapi Katingan dan sapi PO. Senada dengan yang dilaporkan oleh WINAYA *et al.* (2007) dimana sapi Bali jarak genetiknya juga relatif jauh dengan sapi PO, Madura dan Brangus. Adapun kluster sapi dari *Bos taurus* lebih jauh terpisah dengan sapi Katingan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sapi Katingan mempunyai materi genetik dari *Bos indicus*. KUSDIANTORO *et al.* (2007) melaporkan bahwa distribusi alel sapi Indonesia cocok dengan sapi *Bos indicus* (sapi India) dan data distribusi/frekuensi alel menurut TAKEZAKI dan NEI (1996) adalah sangat berguna untuk studi kekerabatan populasi. Walaupun sapi dari *Bos taurus* juga dikembangkan di Tumbang Lahang melalui program pemerintah dan *misionaris*, namun nampaknya tidak banyak memberikan kontribusi genetik pada populasi sapi Katingan di subpopulasi Tumbang Lahang.

KESIMPULAN

Populasi sapi Katingan menunjukkan tingkat keragaman genetik yang tinggi hal ini ditandai dengan tipe alel (9-18 alel), rata-rata alel (13,6 alel), jumlah genotipe (17-47 genotipe) dan nilai rataan heterozigositas subpopulasi (0,454-0,529) dan populasi (0,492).

Tingkat keragaman genetik sapi Katingan subpopulasi Tumbang Lahang lebih tinggi dibandingkan dengan subpopulasi Pendahara dan Buntut Bali dan sapi Katingan subpopulasi Buntut Bali relatif lebih seragam dibandingkan dengan Pendahara dan Tumbang Lahang.

Dihasilkan alel dan genotipe khas pada lokus-lokus tertentu yang dapat digunakan sebagai pembeda genetik antar subpopulasi.

Secara genetik subpopulasi Tumbang Lahang lebih dekat (0,169) dengan subpopulasi Pendahara, dibandingkan dengan subpopulasi Buntut Bali (0,173) dan juga lebih mempunyai kedekatan secara genetik dengan sapi PO (0,259) dibandingkan dengan sapi Katingan dari subpopulasi Buntut Bali (0,311) dan Pendahara (0,329). Secara keseluruhan sapi Katingan berada dalam satu kluster dengan sapi PO, yang menentukan adanya materi genetik *Bos indicus* pada sapi Katingan.

Diperlukan penelitian yang berbasis sekuisensi untuk mengkonfirmasi variasi alel pada populasi sapi Katingan dan jumlah contoh lebih besar dan diusulkan untuk penetapan rumpun baru sapi Katingan sebagai sapi lokal Kalimantan Tengah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Badan Litbang Pertanian melalui kerjasama dengan Institut Pertanian Bogor dan Ford Foundation melalui program ISDA yang dikelola oleh IIEF yang telah memberikan dukungan pendanaan pada kegiatan penelitian ini. Kepada Kepala Dinas Pertanian dan staf serta petugas lapangan Kelurahan Pendahara, Desa Buntut Bali dan Desa Tumbang Lahang diucapkan terimakasih dan penghargaan setinggi tingginya. Ucapan terimakasih disampaikan pula kepada penanggung jawab dan staf Laboratorium Genetika dan Pemuliaan Ternak Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor atas bantuan dan

dukungannya sehingga pemeriksaan contoh bisa berjalan dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- ABDULLAH, M.A.N. 2008. Karakterisasi genetik sapi Aceh menggunakan analisis keragaman fenotipik, daerah D-Loop DNA mitokondria dan DNA mikrosatelit. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- ARMSTRONG, E., A. POSTIGLIONI, A. MARTINEZ, G. RINCON and J.L. VEGA-PLA. 2006. Microsatellite analysis of a sample of Uruguayan Creole bulls (*Bos taurus*). *Genet. Mol. Biol.* 29: 267-272.
- ASTUTI, M., A. AGUS, S.B.S. GEDE, B. ARYADI, L.M. YUSIATI, dan M. ANGGRIANI. 2007. Peta Potensi Plasma Nutfah Ternak Nasional. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Ardana Media dan Rumah Produksi Informatika, Yogyakarta.
- BARENDESE, W., D. VAIMAN, S.J. KEMP, Y. SUGIMOTO, S.M. ARMITAGE, J.L. WILLIAMS, H.S. SUN, A. EGGEN, M. AGABA, S.A. ALEYASIN, M. BAND, M.D. BISHOP, J. BUITKAMP, K. BYRNE, F. COLLINS, L. COOPER, W. COPPETTIERS, B. DENYS, R.D. DRINKWATER, K. EASTERDAY, C. ELDUQUE, S. ENNIS and G. ERHARDT. 1997. A medium-density genetic linkage map of the bovine genome. *Mamm. Genome* 8: 21-28.
- BENNET, P. 2000. Microsatellites. *J. Clin. Pathol. Mol. Pathol.* 53: 177-183.
- BHERMANA, A. 2010. Peta lokasi pengambilan sampel sapi Katingan. BPTP Kalteng, Palangka Raya.
- BISHOP, M.D., S.M. KAPPES, J.W. KEELE, R.T. STONE, S.L.F. SUNDEN, G.A. HAWKINSS, S.S. TOLDO, R. FRIES, M.D. GROSZ, J. YOO and C.W. BEATTLE. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics* 136: 619-639.
- CHAUDHARI, M.V., S.N.S. PARMAR, C.G. JOSHI, C.D. BHONG, S. FATIMA, M.S. THAKUR and S.S. THAKUR. 2009. Molecular characterization of Kenkatha and Gaolao (*Bos indicus*) cattle breeds using microsatellite markers. *Anim. Biodiv. Conserv.* 32: 71-78.
- FATIMA, S. 2007. Study of Genetic Variability within Zalawadi, Gohilwadi and Surti breeds of Goat Using Microsatellite Markers. *M.V.Sc. Thesis*. Anand Agriculture University.
- HARTATI, SUMADI, SUBANDRIYO dan T. HARTATIK. 2010. Keragaman morfologi dan diferensiasi genetic sapi Peranakan Ongole di peternakan rakyat. *JITV* 15: 72-80.
- IBEAGHA, E.M., O.C. JANN, C. WEIMANN. and G. ERHARDT. 2004. Genetic diversity, introgression and relationship among West/Central African cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.* 36: 673-690.
- KARTHICKKEYAN, S.M.K., P. KUMARASAMY, S.N. SIVASELVAM, R. SELVAM and P. THANGERAJU. 2008. Analysis of microsatellite markers in Ongole breed of cattle. *Ind. J. Biotechnol.* 7: 113-116.
- KARTHICKKEYAN, S.M.K., S.N. SIVASELVAM, R. SELVAM and P. THANGERAJU. 2009. Microsatellite analysis of Kangayam cattle (*Bos indicus*). *Ind. J. Sci. Technol.* 2: 38-40.
- KEMP, S.J., O. HISHIDA, J. WAMBUGU, A. RINK, A.J. TEALE, M.L. LONGERI, R. Z. MA, Y. DA, H.A. LEWIN, W. BARENDESE and A.J. TEALE. 1995. A panel of polymorphic bovine, ovine and caprine microsatellite markers. *Anim. Genet.* 26: 299-306.
- KUSDANTORO, M., M. OLSSON, G. ANDERSSON, B. PURWANTARA, H.T.A. TOL, S. MIKKO, H.R. MARTINEZ, B. COLENBRANDER and J.A. LENSTRA. 2007. Genetic diversity and conservation of South-East Asian cattle: From Indian Zebu to Indonesian banteng, and then to the Cambodian Kouprey? EU-Asia Link Project Symposium "Managing the Health and Reproduction of Elephant Population in Asia" 8-10 October 2007. Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. pp. 120-124.
- LIRON, J.P., P.P. GARCIA and G. GIOVAMBATTISTA. 2006. Genetic characterization of Argentine and Bolivian Creole cattle breeds assessed through microsatellite. *J. Hered.* 97: 331-339.
- MANSJOER, S.S., T. KERTANUGRAHA dan C. SUMANTRI. 2007. Estimasi jarak genetik antara domba Garut tipe tangkas dengan tipe pedaging. *Media Petern.* 30: 129-138.
- METTA, M., KANGINAKUDRU, S., GUDISEWA, S. and J. NAGARAJU. 2004. Genetic characterization of the Indian cattle breeds, Ongole and Deoni (*Bos indicus*), using microsatellite markers-a preliminary study. *BMC Genetics* 5: 1-5.
- MISHRA, B.P., K.P. SINGH, D.B. CHAVAN, D.K. SADANA, R.S. KATARIA, P. KATHIRAVAN and S.P.S. AHLAWAT. 2009. Characterization of Banni buffalo of western India. *Anim. Genet. Res. Inform.* 44: 77-86.
- NEI, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York.
- PEREIRA, A.B., P. ALEXANDRINO, I. BESSA, Y. CARRETERO, S. DUNNER, N. FERRANDE, J. JORDANA, D. LALOE, K.M. GOUDARZI, A. SANCHEZ and J. CANON. 2003. Genetic characterization of shouthwestern European bovine breeds: A historical and biogeographical reassessment with a set of 16 microsatellite. *J. Hered.* 94: 243-250.
- REHMAN, M.S. and M.S. KHAN. 2009. Genetic diversity of Hariana and Hissa cattle from Pakistan using microsatellite analysis. *Pak. Vet. J.* 29: 67-71.
- RINCON, A.M.S., H.P. MONTIEL and G.M.P. BRACAMONTE. 2007. Assessment of genetic structure in Mexican charolais herds using microsatellite markers. *Mol. Biol. Genet.* 10: 1-7.

- SAMBROOK, J., F.F. FRITSCH and T. MANIASTIS. 1989. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SARBAINI. 2004. Kajian keragaman karakteristik eksternal dan DNA mikrosatelite sapi pesisir Sumatra Barat. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- SATRIANI, N., A. FARAJALLAH dan MULADNO. 2002. Keragaman genetic sapi Peranakan Ongole (PO) berdasarkan uji DNA mikrosatelite. *Media. Petern.* 25: 84-91.
- SODHI, M., M. MUKESH, B. PRAKASH, S.P.S. AHLAWAT and R.C. SOBTI. 2006 Microsatellite DNA typing for assessment of genetic variability in Tharparkar breed of Indian zebu (*Bos indicus*) cattle, a major breed of Rajasthan. *J. Genet.* 85: 165-170.
- SUMANTRI, C., A. FARAJALLAH, U. FAUZI dan J.F. SALAMENA. 2008. Keragaman genetik DNA mikrosatelite dan hubungannya dengan performa bobot badan domba lokal. *Media Petern.* 31: 1-13.
- SUN, W., H. CHEN, C. LEI, X. LEI and Y. ZHANG. 2008. Genetic variation in eight Chinese cattle breeds based on the analysis of microsatellite markers. *Genet. Sel. Evol.* 40: 681-692.
- TAKEZAKI, N. and M. NEI. 1996. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic tree from microsatellite DNA. *Genetics* 144: 389-399.
- TEGELSTROM, H. 1992. Mitochondrial DNA in natural population: An improved routine for screening of genetic variation based on sensitive silver staining. *Electrophoresis* 7: 226-229.
- UTOMO, B.N., R.R. NOOR, C. SUMANTRI, I. SUPRIATNA and E. GURNARDI. 2010. Morphometric performances of Katingan cattle in Central Kalimantan. *JITV* 15: 220-230.
- WEBER, J.L. 1990. Informativeness of human (dC-dA)_n(dG-dT)_n polymorphism. *Genomics* 7: 524-530.
- WINAYA, A., MULADNO dan B. TAPPA. 2007. Panel 16 lokus mikrosatelite untuk deteksi polimorfisme dan hubungan filogenetik pada genom sapi. *Media Petern.* 24: 81-88.