

**PERTANIAN**

**LAPORAN**  
**HIBAH PENELITIAN STRATEGIES NASIONAL**  
**TAHUN ANGGARAN 2009**



**MAPPING DNA BANTENG DI TAMAN NASIONAL BALURAN**  
**DAN ANALISIS KEKERABATANNYA**

**KETUA PENELITIAN :**

**Prof. Dr. Ismudiono, drh., MS.**  
**Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si.**

**Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2009**  
**sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga Tentang**  
**Kegiatan Penelitian Strategies Nasional**  
**Nomor : 276/H3/KR/2009 Tanggal 16 Februari 2009**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**2009**

**PERTANIAN**

**LAPORAN**  
**HIBAH PENELITIAN STRATEGIES NASIONAL**  
**TAHUN ANGGARAN 2009**



**MAPPING DNA BANTENG DI TAMAN NASIONAL BALURAN**  
**DAN ANALISIS KEKERABATANNYA**

**KETUA PENELITI :**

**Prof. Dr. Ismudiono, drh., MS.**  
**Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si.**

**Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2009**  
**sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga Tentang**  
**Kegiatan Penelitian Strategies Nasional**  
**Nomor : 276/H3/KR/2009 Tanggal 16 Februari 2009**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**2009**

## **PENGANTAR**

Syukur Alhamdulillah kami panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan karunia dan kekuatan sehingga penelitian Hibah Strategies Nasional ini dapat kami laksanakan dengan baik. Adapun judul penelitian ini adalah “Mapping DNA Banteng di Taman Nasional Baluran dan Analisis kekerabatannya”

Pada kesempatan ini kami sampaikan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan Hibah Penelitian Strategies Nasional melalui Dana DIPA Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2009
2. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat atas diterimanya proposal penelitian kami
3. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah merekomendasikan proposal penelitian kami hingga dapat diterima dan di danai
4. Kepala Laboratorium Animal BSL3 dan staf yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian di laboratoriumnya

Hasil penelitian ini masih jauh dari sempurna, untuk itu kami sangat mengharapkan masukan dan saran untuk perbaikan penelitian ini.

Desember 2009

Penulis

## RINGKASAN

Penduduk Indonesia sekitar 220 juta jiwa masih akan terus bertambah, memberi gambaran nyata bahwa kebutuhan pangan nasional sangat besar dan terus meningkat. Pertumbuhan ekonomi, peningkatan pendidikan, urbanisasi dan arus globalisasi dapat dipastikan akan memberi pengaruh dan perubahan pada pola konsumsi masyarakat, yang pada gilirannya akan mendorong peningkatan permintaan pangan yang lebih berkualitas.

Keadaan ini dimungkinkan akan timbul kesenjangan dan defisit ketersediaan berbagai jenis komoditas bahan pangan yang cukup besar seperti bijian, gula, daging dan susu. Oleh karena itu, peningkatan produksi pangan nasional perlu dilakukan agar dapat mencukupi kebutuhan pangan, sehingga Indonesia tidak selalu bergantung pada impor. Di samping itu, perlu dilakukan peningkatan produktifitas dan efisiensi dalam produksi pangan untuk peningkatan daya saing serta peningkatan nilai tambah produk pangan.

Sementara itu, kemampuan Indonesia untuk memenuhi kebutuhan pangan bagi penduduknya tampak semakin menurun, terutama sejak terjadinya krisis pada pertengahan tahun 1997. Mengingat kekayaan alam Indonesia memiliki sumber keragaman plasma nutfah (*agrobiodiversity*), maka perlu diambil langkah konkrit guna pementapan strategi kebijakan baru.

Sapi Madura dan Sapi Bali merupakan salah satu diantara sekian banyak sumber protein hewani asli Indonesia. Kemampuan produksi kedua jenis sapi ini dapat diharapkan untuk mengatasi persoalan kekurangan pangan tersebut. Tetapi pengkajian secara menyeluruh terhadap ke dua jenis sapi ini belum dilakukan secara maksimal. Demikian juga profil genetik yang dimiliki oleh kedua belum dilakukan secara menyeluruh dan maksimal yang memungkinkan pihak luar dapat menggunakan kekurangan yang belum dilakukan ini menjadi keuntungan mereka dan sebaliknya merugikan Bangsa Indonesia sebagai pemilik ke dua jenis sapi ini.

Pemetaan genetik dapat dilakukan terhadap kedua jenis sapi ini dengan tujuan memperoleh informasi genetik secara menyeluruh, sehingga dapat dijadikan bahan untuk mengajukan Paten terhadap ke dua jenis ini sebagai milik Bangsa Indonesia. Tujuan lain adalah hasil yang diperoleh dalam penelitian ini dapat dijadikan landasan untuk melakukan kepentingan pengkajian performans lainnya, seperti rekayasa genetik dan lain-lainnya (Hawken *et al.*, 2006).

Penelitian untuk pemetaan genetik ini digunakan metode *Whole-Genome Amplification* sehingga akan diperoleh informasi genetik lebih maksimal dibanding metode lainnya (Hawken *et al.*, 2006; Holbrook *et al.*, 2005)

Hasil analisis phylogenetik DNA mitokondria Banteng di TSI II dan KBS tidak terdapat perbedaan nyata tetapi berbedanya bila dibandingkan dengan DNA mitokondria sapi Bali.

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PENGANTAR .....	iii
RINGKASAN.....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
BAB 2. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	5
BAB 3. STUDI PUSTAKA .....	6
BAB 4. METODE PENELITIAN .....	9
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN PENELITIAN .....	13
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN .....	21
DAFTAR PUSTAKA .....	22
LAMPIRAN .....	24

## DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 5.1. Banteng yang digunakan dalam pengambilan sampel penelitian di TSI II dan Kebun Binatang Surabaya.....	14
Gambar 5.2. Akar rambut banteng yang digunakan untuk analisis DNA.....	15
Gambar 5.3. Hasil PCR dengan pita DNA yang spesifik .....	16
Gambar 5.4. Urutan nukleotida DNA Mitokondria Banteng dibandingkan dengan Sapi Bali.....	18



**DAFTAR LAMPIRAN**

	<b>halaman</b>
Lampiran 1. Hasil Sequensing DNA Mitokondria Banteng .....	24

## BAB 1

### PENDAHULUAN

Penduduk Indonesia sekitar 220 juta jiwa masih akan terus bertambah, memberi gambaran nyata bahwa kebutuhan pangan nasional sangat besar dan terus meningkat. Pertumbuhan ekonomi, peningkatan pendidikan, urbanisasi dan arus globalisasi dapat dipastikan akan memberi pengaruh dan perubahan pada pola konsumsi masyarakat, yang pada gilirannya akan mendorong peningkatan permintaan pangan yang lebih berkualitas.

Keadaan ini dimungkinkan akan timbul kesenjangan dan defisit ketersediaan berbagai jenis komoditas bahan pangan yang cukup besar seperti bijian, gula, daging dan susu. Oleh karena itu, peningkatan produksi pangan nasional perlu dilakukan agar dapat mencukupi kebutuhan pangan, sehingga Indonesia tidak selalu bergantung pada impor. Di samping itu, perlu dilakukan peningkatan produktifitas dan efisiensi dalam produksi pangan untuk peningkatan daya saing serta peningkatan nilai tambah produk pangan.

Sementara itu, kemampuan Indonesia untuk memenuhi kebutuhan pangan bagi penduduknya tampak semakin menurun, terutama sejak terjadinya krisis pada pertengahan tahun 1997. Mengingat kekayaan alam Indonesia memiliki sumber keragaman plasma nutfah (*agrobiodiversity*), maka perlu diambil langkah konkrit guna pemantapan strategi kebijakan baru.

Sapi Madura dan Sapi Bali merupakan salah satu diantara sekian banyak sumber protein hewani asli Indonesia. Seperti hewan ternak lainnya ke dua sapi ini telah mengalami domestikasi sejak 100 abad yang lalu. Kemampuan produksi kedua jenis sapi ini dapat diharapkan untuk mengatasi persoalan kekurangan pangan tersebut.



Tetapi pengkajian secara menyeluruh terhadap ke dua jenis sapi ini belum dilakukan secara maksimal. Demikian juga profil genetik yang dimiliki oleh kedua spesies tersebut belum dilakukan secara menyeluruh dan maksimal yang memungkinkan pihak luar dapat menggunakan kekurangan yang belum dilakukan ini menjadi keuntungan mereka dan sebaliknya merugikan Bangsa Indonesia sebagai pemilik ke dua jenis sapi ini.

Penelitian genoma hewan ternak agak sedikit berbeda dengan penelitian pada manusia atau organisma lainnya, karena banyaknya faktor yang dikehendaki dari seekor ternak yang berbeda satu sama lain. Sekelompok masyarakat menghendaki dari aspek produksi susu, kulit, daging, reproduksi dan sebagainya. Oleh karena itu pengkajian terhadap satu sifat seperti identifikasi monogenik penyakit menjadi tidak begitu penting. Jadi berbagai faktor pertumbuhan tersebut dikontrol oleh sejumlah lokus yang memberikan sifat kuantitatif (Quantitative Trait Loci /QTL). Quantitative Trait Loci ini didefinisikan sebagai suatu regio genoma yang memiliki satu atau lebih gen yang mempunyai sifat-sifat kuantitatif (Anderson, 2001)

Usaha pengembang-biakan terhadap berbagai spesies mengalami banyak kemajuan, setelah ditemukan DNA semua makhluk hidup. Berkembangnya berbagai teknologi yang berlandaskan aspek biologi molekular memungkinkan pengembang-biakan hewan ternak mengalami kemajuan yang sangat pesat. Bioteknologi reproduksi meliputi inseminasi buatan (IB), transfer embrio (TE), "multiple ovulation and embryo transfer" (MOET), sinkronisasi estrus dan superovulasi, kloning embrio dan lain-lain (Nasar *et al.*,2004)

Kemajuan teknologi perkembang-biakan tidak mengenal batas wilayah, yang ada hanya berdasarkan kepentingan yang ada, sehingga memungkinkan adanya plasma nutfah Indonesia dibawa ke luar negeri. Dengan menggunakan berbagai

teknologi seperti diuraikan di atas, maka plasma nutfah asli Indonesia akan terlebur menjadi bentuk persilangan baru yang menjadi paten bagi negara yang menemukan. Namun dalam hewan ternak persilangan yang baru ini masih dapat dilacak segmen genetik terutama beberapa urutan-urutan DNA yang berasal dari ternak aslinya (Hawken *et al.*,2006).

Pemetaan genetik (DNA) dapat dilakukan terhadap sapi Madura dan sapi Bali dengan tujuan memperoleh informasi genetik secara menyeluruh, sehingga dapat dijadikan bahan untuk mengajukan Paten terhadap ke dua jenis ini sebagai milik Bangsa Indonesia. Tujuan lain adalah hasil yang diperoleh dalam penelitian ini dapat dijadikan landasan untuk melakukan kepentingan pengkajian performans lainnya, seperti rekayasa genetik dan lain-lainnya. Dengan demikian, Bangsa Indonesia masih tetap memiliki aset sapi Madura dan sapi Bali, meskipun telah mengalami perubahan bentuk fenotipnya.

Penelitian untuk pemetaan DNA merupakan ini digunakan metode *Whole-Genome Amplification* (WGA) sehingga akan diperoleh informasi genetik lebih maksimal dibanding metode lainnya (Hawken *et al.*,2006; Holbrook *et al.*,2005)

*Whole-Genome Amplification* adalah suatu prosedur in-vitro untuk melakukan amplifikasi suatu DNA genom untuk menghasil DNA yang teramplifikasi dan selanjutnya digunakan untuk analisis genetik molekular dengan pertimbangan adanya keterbatasan dalam pemetaan DNA yang telah dialami selama ini (Bergn *et al.*,2005)

Penelitian terhadap pemetaan DNA Sapi Madura dan Sapi Bali merupakan suatu usaha yang harus dilakukan, guna mengetahui secara tepat sifat dan karakter kedua hewan ternak tersebut. Sifat yang dimiliki ini bukan hanya dari sifat fenotipiknya melainkan juga dari kajian genotipik dan pemetaan DNANYA.

Setiap hewan ternak memiliki urutan DNA yang berbeda, meskipun sebagian besar sama untuk spesies yang sejenis. Perbedaan urutan DNA yang dimiliki oleh suatu hewan ternak dapat dijadikan suatu tanda yang khas untuk hewan ternak tersebut.

Berdasarkan pertimbangan di atas dapat disimpulkan bahwa penelusuran materi genetik (DNA mitokondria) Banteng di berbagai daerah di Jawa Timur sangat penting dan besar. Peranan faktor genetik sangat diperlukan dalam peningkatan pemahaman secara genetik Banteng di Indonesia dalam kaitannya dengan banteng-banteng lain yang terdapat di dunia. Sehingga mencegah terjadinya pengambilan hak pemilikan dari Banteng yang merupakan hewan asli Indonesia.

## **BAB 2**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **2.1. TUJUAN PENELITIAN**

##### **Tujuan Jangka Pendek**

Tujuan jangka pendek yang akan dicapai adalah :

1. Identifikasi dan karakterisasi faktor genetik berupa DNA mitokondria Banteng di Jawa Timur
2. Mengetahui sifat keunggulan dan kelemahan Banteng dari aspek genetik yang dimiliki oleh Banteng dengan cara melakukan Analisis Phylogenisisitas (kekerabatan) dengan DNA mitokondria dari famili Bovidae lainnya.

##### **Tujuan Jangka Panjang**

Tujuan jangka panjang yang akan dicapai adalah :

1. Mempunyai dasar genetik urutan DNA sebagai landasan bahwa Banteng merupakan plasma nutfah khas Indonesia.
2. Diperolehnya landasan dalam melakukan pelestarian dan pefungsian Banteng untuk kepentingan konservasi maupun lainnya dengan berdasar pada kajian genetik atau DNA yang dimiliki oleh Banteng.

#### **2.2. Manfaat Penelitian**

Penelitian tentang mapping DNA Banteng memberikan manfaat untuk mengetahui analisis kekerabatan DNA Banteng yang ada di Jawa Timur yang dapat digunakan sebagai dasar untuk menentukan bahwa Banteng adalah plasma nutfah asli Indonesia yang sangat penting untuk dilestarikan.

### BAB 3

## STUDI PUSTAKA

Banyak spesies akhir-akhir ini mengalami penurunan yang sangat tajam disebabkan oleh karena hilangnya habitat aslinya dan perluasan aktivitas manusia. Ditambah dengan peningkatan pemanasan global yang terjadi dapat mengakibatkan percepatan terjadinya kepunahan tersebut.

Di samping pergerakan Banteng dari habitat aslinya dan memungkinkan pertemuan dengan famili Bovidae lainnya dapat mengakibatkan terjadinya hibridisasi antar anggota famili Bovidae (Todd *et al.*, 2000.)

Populasi dan penyebaran Banteng (*Bos javanicus*) mendapat tekanan yang semakin besar sebagai akibat kondisi habitatnya semakin menurun baik kuantitas maupun kualitas. Penurunan tersebut terjadi karena adanya suksesi yang kurang menguntungkan bagi proses pembinaan margasatwa, intervensi manusia, maupun perubahan komposisi jenis satwa yang berdiam di habitat banteng. Peristiwa masuknya banteng ke areal perkebunan maupun ke areal pemukiman masyarakat yang berbatasan langsung dengan hutan, menjadi salah satu dasar indikatornya. Peristiwa tersebut menimbulkan rangsangan perburuan liar semakin meningkat dengan berbagai alasan seperti merasa dalam bahaya khawatir akan keselamatannya dikarenakan kurangnya pemahaman masyarakat tentang pentingnya pelestarian banteng sebagai satwa liar yang dilindungi negara. Di sisi lain rendahnya tingkat pendapatan (ekonomi) masyarakat sekitar membuat nekat melakukan jual beli daging banteng dengan harga yang lebih murah, padahal nilai konservasinya jauh lebih tinggi dari sapi.

Pemahaman mereka hanya sebatas banteng sama seperti sapi bali yang dapat dipotong seperti ternak lainnya. Sapi Bali sebagai ternak asli Indonesia merupakan hasil domestikasi dari banteng Jawa. Pengembangan sapi bali sebagai ternak saat ini menghadapi masalah serius, yakni rendahnya kualitas keturunan dan tingkat inbreeding yang tinggi ditandai munculnya beberapa penyimpangan fenotipe seperti penyimpangan warna bulu dan penurunan berat badan. serta kurangnya stok pejantan unggul untuk kawin dengan betina produktif.

Spesies yang mempunyai kekerabatan lebih dekat dengan Banteng adalah sapi Bali dan sapi Madura. Sapi Madura mempunyai ciri fenotip, tahan terhadap cuaca panas, mudah melakukan adaptasi terutama pada lingkungan yang tidak banyak ditumbuhi hijauan sebagai sumber makanannya. Meskipun demikian persentasi karkasnya lebih besar dibanding dengan sapi peranakan lainnya. Sapi Bali merupakan salah satu keturunan banteng di Indonesia. Sama seperti sapi Madura, mempunyai daya adaptasi yang baik pada lingkungan yang kurang baik bagi pertumbuhannya. Mempunyai kecepatan pertumbuhan dan persentase yang lebih baik dan lebih besar dibanding dengan sapi peranakan lainnya.

Setiap hewan ternak memiliki urutan DNA yang berbeda, meskipun sebagian besar sama untuk spesies yang sejenis. Perbedaan urutan DNA yang dimiliki oleh suatu hewan ternak dapat dijadikan suatu tanda yang khas untuk hewan ternak tersebut

Pencatatan populasi banteng secara nasional melalui penelitian/research sangat membantu upaya perbaikan genetik banteng. Dibutuhkan support hukum dari para pembuat kebijakan atau peraturan yang mengatur dan mengawasi keberadaan banteng sebagai satwa liar dilindungi.

Banteng Jawa dan Sapi Bali merupakan satwa asli Indonesia yang perlu dilestarikan dan dimanfaatkan keberadaanya sehingga perlu upaya-upaya pengembangan lebih lanjut dari semua pihak.

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu metode amplifikasi fragmen DNA yang dikembangkan pertama kali oleh Mullis *et al.* (1986), banyak digunakan untuk pengujian yang berhubungan dengan DNA antara lain dapat dimanfaatkan untuk karakterisasi genetik populasi, analisis inbreeding, studi keragaman serta kekerabatan genetik (Albustan *et al.*,2001). Penggunaan PCR sebagai metoda identifikasi Banteng Baluran dengan berdasar pada DNA mitokondria dapat diandalkan bisa berlangsung secara cepat.

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

Penelitian tentang Mapping DNA Banteng dilakukan mulai bulan Juni sampai Nopember 2009. Untuk pengambilan sampel akar rambut dilakukan di Kebun Binatang Surabaya dan Taman Safari Indonesia II Pasuruan yang diasumsikan mewakili populasi Banteng di Taman Nasional Baluran. Pelaksanaan karakterisasi dan identifikasi DNA mitokondria banteng dilakukan di Laboratorium Animal BSL3 Universitas Airlangga.

Penelitian ini merupakan penelitian Lapang dan laboratoris yang terdiri dari beberapa tahap penelitian, yaitu :

1. Pengambilan sampel rambut Banteng
2. Melakukan Identifikasi DNA mitokondria dari sampel yang dikumpulkan dengan menggunakan primer spesifik.
3. Melakukan sekuensing urutan DNA mitokondria guna mendapatkan bahan kajian genetik dari sampel yang telah dikumpulkan.
4. Melakukan analisis phylogenisitas melalui urutan DNA mitokondria dari famili Bovidae yang tersebar di dunia.

#### **Rancangan Penelitian**

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan asumsi semua perlakuan dihasilkan sama dari pengambilan sampel sampai dengan pengerjaan serta kondisi laboratorium.

#### **Prosedur Penelitian**

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan sebagai berikut :

1. Pengambilan sampel rambut Banteng



2. Melakukan isolasi dan Identifikasi DNA mitokondria dari sampel yang dikumpulkan dengan menggunakan primer spesifik.
3. Melakukan sekuensing urutan DNA mitokondria guna mendapatkan bahan kajian genetik dari sampel yang telah dikumpulkan.
4. Melakukan analisis phylogenisisitas melalui urutan DNA mitokondria dari family Bovidae yang tersebar di dunia.

**1. Pengambilan sampel rambut Banteng di Kebun Binatang Surabaya dan Taman Safari Indonesia II Pasuruan**

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara melakukan pencabutan rambut didaerah leher pada Banteng

**2. Melakukan isolasi dan identifikasi DNA mitokondria dari sampel yang dikumpulkan dengan menggunakan primer spesifik.**

Sebanyak 100 ul akar rambut dari Banteng dilarutkan dengan 750 larutan Trizol-LS, kemudian setelah ditunggu beberapa saat ditambahkan kloroform secukupnya. Kemudian disentrifus dengan kecepatan tinggi untuk memisahkan DNA dengan bahan lainnya. Ditambahkan Isopropanol guna melakukan presipitasi DNA yang pada larutan tersebut. Setelah dilarutkan sentrifus dengan kecepatan tinggi, dilakukan pencucian dengan etanol 70% dan dikeringkan dalam pengering secara vakum. Pelet yang diperoleh dilarutkan dengan aquades steril sebanyak 15 ul.

**3. *Polymerase Chain Reaction (PCR) DNA Mitokondria.***

Sebanyak 5 ul larutan cDNA digunakan sebagai cetakan untuk perlakuan PCR. Enzim yang digunakan adalah Tth Polymerase. Masing-masing regio

memiliki dua set primer yang digunakan untuk PCR tahap pertama dan PCR tahap kedua. Hal ini dilakukan karena metode PCR yang digunakan untuk mengamplifikasi DNA mitokondria pada akar rambut.

Untuk DNA Mitokondria digunakan sepasang primer yaitu p-166 dan p-167R untuk PCR tahap pertama, sementara itu untuk tahap kedua digunakan pasangan primer yang terdiri p-23, p-24, p26 dan p28.

#### **4. Elektroforesis**

Elektroforesis ini digunakan untuk mengetahui hasil dari amplikasi dengan PCR dengan melihat pita yang terdapat pada gel. Pembuatan gel melalui cara menimbang agarose sebanyak 0.8 g dilarutkan pada larutan TBE 0,5 X sebanyak 40 ul. Larutan gel ditambah etidium bromid sebanyak 1 ul. Setelah dijalankan kemudian dilakukan pemotretan dengan terlebih dahulu.

#### **5. Pemurnian Hasil PCR**

DNA hasil PCR yang positif selanjutnya dilakukan pemurnian menggunakan *Purification PCR-Kit* dari Qiagen.

#### **6. DNA Sequencing**

DNA mitokondria dari semua sampel, setelah dimurnikan sequens DNA ditentukan dengan menggunakan mesin ABI Prism 310 Genetic Analyser, yang terdapat di Tropical Disease Center - Universitas Airlangga dengan menggunakan Big Dye Terminator (Perkin Elmer Cetus).

#### **7. Analisis Genetik untuk Klasifikasi dan Pohon Filogenetik**

Untuk keperluan analisis Genetik dan pembuatan pohon filogenetik dilaksanakan dengan menggunakan serangkaian program analisis Genetik

yaitu Program Genetic Wins V.8; program ATGC V.9; Program EditView 3.5  
NT-V.7; dan Program TreeView V.6.

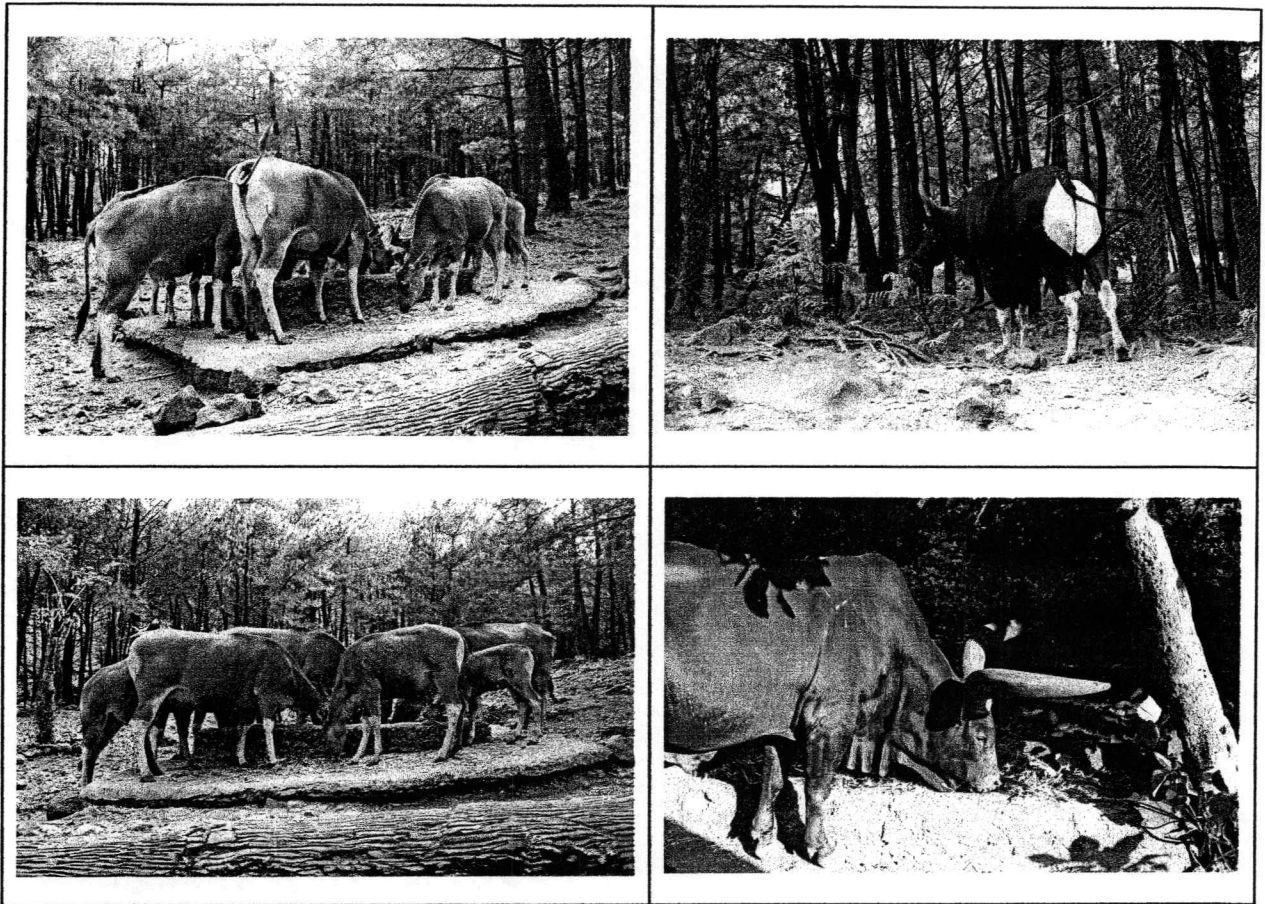
## BAB 5

### HASIL DAN PEMBAHASAN PENELITIAN

#### 5.1. Pengambilan Sampel Penelitian

Dalam pelaksanaan penelitian ini terdapat beberapa kendala dalam birokrasi pengambilan sampel dari Banteng yang dalam proposal penelitian diambil di Taman Nasional Baluran. Banteng termasuk satwa liar yang sulit dalam *handling* berkaitan dengan pengambilan sampel (pengambilan darah atau pencabutan rambut leher). Untuk itu tempat penelitian dialihkan ke Taman Safari Indonesia II dan Kebun Binatang Surabaya dimana banteng yang berada di dua lokasi tersebut merupakan keturunan dari banteng yang ada di Taman Nasional Baluran.

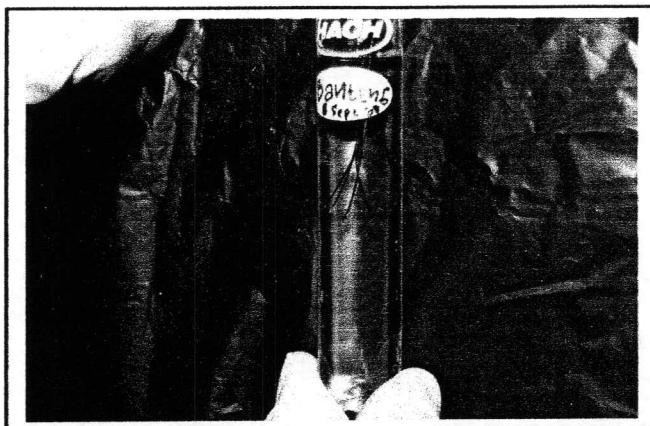
Gambar 5.1. dibawah ini merupakan banteng yang digunakan sebagai hewan coba penelitian untuk pengambilan sampel rambut yang beradadi TSI II dan Kebun Binatang Surabaya.



Gambar 5.1. Banteng yang digunakan dalam pengambilan sampel penelitian di TSI II dan Kebun Binatang Surabaya

## 5.2. Penyiapan Material DNA

Material DNA untuk digunakan sebagai bahan pengujian dilakukan dengan pengambilan rambut dari Banteng dengan mengikutkan akar dari rambut tersebut. Sampel akar rambut banteng yang diambil dapat diamati pada Gambar 5.2. di bawah ini :

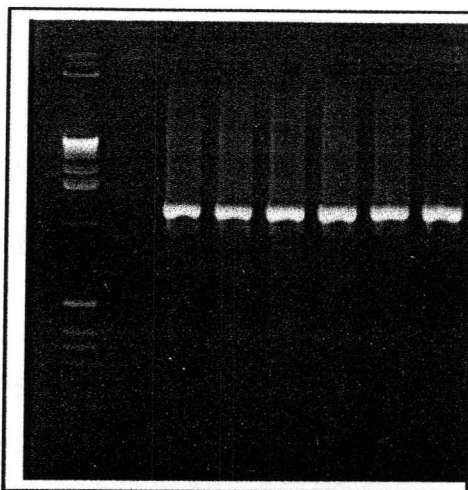


Gambar 5.2. Akar rambut banteng yang digunakan untuk analisis DNA mitokondria

### 5.3. Pengujian DNA Mitokondria Banteng

Hasil isolasi DNA dari akar rambut dapat diamati setelah dilakukan elektroforesis secara horizontal dengan gel agarosa 1% dan ditambahkan etidium bromide untuk pewarnaannya. Pengamatan pita DNA mitokondria hasil elektroforesis dilakukan dibawah sinar ultra violet (UV) selanjutnya difoto dengan film Polaroid (Gambar 5.3).

Hasil visualisasi pita DNA mitokondria pada gel agarosa 1% terlihat bersih, jelas dengan ketebalan relatif sama. Ukuran fragmen DNA mitokondria akar rambut banteng disebut pasangan basa (pb), pita DNA mitokondria terletak sejajar dengan pita *marker* DNA *standard*. Hasil PCR dengan pita DNA yang spesifik dapat dilihat pada Gambar 5.3. di bawah ini.



Gambar 5.3. Hasil PCR dengan pita DNA yang spesifik

DNA merupakan bahan yang mengandung materi genetik, serta diketahui dalam sistem pengendalian melalui *basic sequense* terhadap pengiriman molekul RNA. DNA juga mempunyai *basic sequense* terhadap penyebaran molekul RNA. Selanjutnya molekul RNA berperan dalam mengendalikan sintesis protein, baik yang bersifat enzim maupun dengan cara melewati *sequense* spesifik dari asam amino dalam rantai peptidanya ( Widodo dan Hakim, 1981).

Mitokondria merupakan salah satu organel yang berada dalam sitoplasma sel makhluk hidup. Peran utama dari mitokondria adalah metabolisme oksidasi dan pembentukan Adenosin Triphosphate (ATP). ATP menyediakan energi untuk berbagai macam proses biologi seperti biosintesis protein, fotosintesis, kontraksi otot. Mitokondria normal mengandung protein sitokrom yang penting untuk menghasilkan energi, DNA, enzim DNA polimerase dan mRNA (Suryo, 1995).

Pada proses amplifikasi DNA dengan metode PCR membutuhkan DNA murni, karena apabila masih ada kontaminan akan menyebabkan kesalahan interpretasi hasil PCR (Artama,1991). Selanjutnya diperlukan konsentrasi dan tingkat kemurnian DNA untuk menghasilkan visualisasi pita DNA yang jelas. Menurut Artama (1991) hasil isolasi DNA yang tidak murni mengakibatkan akurasi penetapan

konsentrasi asam nukleat tidak dimungkinkan. Konsentrasi DNA yang terlalu tinggi atau terlalu rendah akan menyebabkan pola pita yang terbentuk hasil amplifikasi fragmen DNA tidak bisa diandalkan.

Pada Gambar 5.3 dapat dilihat pita DNA spesifik setelah melalui proses karakterisasi dan identifikasi DNA dari akar rambut banteng serta melalui metode PCR.

#### **5.4. Hasil Sequensing dari DNA Mitokondria Banteng**

Hasil sequencing dari DNA mitokondria Banteng sebagaimana tertera dalam lampiran 1. Selanjutnya hasil tersebut dilakukan analisis kekerabatan (phylogenesis) dengan sapi bali, sebagaimana terlihat pada Gambar 5.4. di bawah ini.



Banteng 1-nt	1:ATGGCATATCCCATACAACCTAGGCTTCCAAGATGCAACATCACCAATCATAGAAGAAGCTG	60
Banteng 2-nt	1:ATGGCATATCCCATACAACCTAGGCTTCCAAGATGCAACATCACCAATCATAGAAGAAGCTG	60
Banteng 3-nt	1:ATGGCATATCCCATACAACCTAGGCTTCCAAGATGCAACATCACCAATCATAGAAGAAGCTG	60
Sapi - nt	0:-----	0
Sapi Bali	1:TATCTGCCGAGACGTGAACCTACGGCTGAATTATTCGATA-----CATACCGCAACGGAG	56
.....		
Banteng 1-nt	61:CTTCACCTTCATGACCACACGCTAATAATTGTCTTTAATTAGCTCATTAGTAC-----T	116
Banteng 2-nt	61:CTTCACCTTCATGACCACACGCTAATAATTGTCTTTTAAATTAGCTCATTAGTAC-----T	116
Banteng 3-nt	61:CTTCACCTTCATGATCACACACTAATAATTGTATTCTTAAATTAGCTCATTAGTAC-----T	116
Sapi - nt	1:-----ACTAATAATTGTATTCTTAAATTAGCTCATTAGTAC-----T	36
Sapi Bali	57:CTTCAATGT--TTTTATTGCTTGTATATGCACGTAGGACGAGCCCTATACCTACGGGTC	114
.....		
Banteng 1-nt	117:TTACATCATTTCACTGATACTAAGCAGAAAACCTGACTCATACAAGCACAAATAGATGCACA	176
Banteng 2-nt	117:TTACATTTTCACTAATACTAAGCAGAAAACCTGACTCATACAAGCACAAATAGATGCACA	176
Banteng 3-nt	117:TTACATTTTCACTAATACTAAGCAGAAAACCTGACTCATACAAGCACAAATAGATGCACA	176
Sapi - nt	37:TTACATTTTCACTAATACTAAGCAGAAAACCTGACTCATACAAGCACAAATAGATGCACA	96
Sapi Bali	115:TTACACCTTCTAGAAAACATGAACATTTGGAGTAATCTTCTACTACAGTAATAGCCAC	174
.....		
Banteng 1-nt	177:AGAAGTAGAGACAATCTGAACCATTTCTGCCGCTATTATTTTAAATTCTAATTGCTCTTCC	236
Banteng 2-nt	177:AGAAGTAGAGACAATCTGAACCATTTCTGCCGCTATTATTTTAAATTCTAATTGCTCTTCC	236
Banteng 3-nt	177:AGAAGTAGAGACAATCTGAACCATTTCTGCCGCTATCATCTTAAATTCTAATTGCTCTTCC	236
Sapi - nt	97:AGAAGTAGAGACAATCTGAACCATTTCTGCCGCTATCATCTTAAATTCTAATTGCTCTTCC	156
Sapi Bali	175:AGCA--TTCATAGGATATGACTACCATGAGGACAAATATC---ATTCTGA--GGAGCAACA	229
.....		
Banteng 1-nt	237:TTCTTTACGAATT--TTATACATAATGGATGAAATCAATAATCCATCCCTTACGGTAAAA	294
Banteng 2-nt	237:TTCTTTACGAATC--CTGTATATAATGGATGAAATCAATAATCCATCCCTTACGGTAAAA	294
Banteng 3-nt	237:TTCTTTACGAATC--CTATACATAATAGATGAAATCAATAATCCATCCCTTACGGTAAAA	294
Sapi - nt	157:TTCTTTACGAATC--CTATACATAATAGATGAAATCAATAATCCATCCCTTACGGTAAAA	214
Sapi Bali	230:GTTATTACCAACCTCCTATCAGCAATCCCATATC--GGCAAAATTTAGTCCAAATGAAT	288
.....		
Banteng 1-nt	295:ACCATAGGACATCAGTGATACTGAAGCTACGAATACACAGATT---ATGAGGAC--TTAA	349
Banteng 2-nt	295:ACCATAGGACATCAATGATACTGAAGCTACGAATACACAGATT---ATGAGGAC--TTAA	349
Banteng 3-nt	295:ACTATAGGACATCAGTGATACTGAAGCTACGAATACACAGATT---ATGAGGAC--TTAA	349
Sapi - nt	215:ACTATAGGACATCAGTGATACTGAAGCTACGAATACACAGATT---ATGAGGAC--TTAA	269
Sapi Bali	289:CTGAGGTGGATTCTCAGTAGATAAAGCAACCCCTTACCCGGTTTTTCGCTTTCACCTTAT	348
.....		
Banteng 1-nt	350:GCTTCGACTCCTACATAATTTCCAACATCAGAATTTAAAGCCAGGGGAGCTACGACTATTAG	409
Banteng 2-nt	350:GCTTCGACTCCTACATAATTTCCAACATCAGAATTTAAAGCCAGGGGAGCTACGACTATTAG	409
Banteng 3-nt	350:GCTTCGACTCCTACATAATTTCCAACATCAGAATTTAAAGCCAGGGGAGCTACGACTATTAG	409
Sapi - nt	270:GCTTCGACTCCTACATAATTTCCAACATCAGAATTTAAAGCCAGGGGAGCTACGACTATTAG	329
Sapi Bali	349:CCTTCCATTTCAT--CATTATAGCAATGCCATAGTCCACCTATTATTCTCCAGGAACAG	407
.....		
Banteng 1-nt	410:AAGTCGATAATCGAGTTGTACTGCCAATAGAAATA---ACAATCCGAATGCTAGTCTCCT	466
Banteng 2-nt	410:AAGTCGATAATCGAGTTGTACTGCCAATAGAAATA---ACAATCCGAATGCTAGTCTCCT	466
Banteng 3-nt	410:AAGTCGATAATCGAGTTGTGTGGCAATAGAAATA---ACAATCCGAATGCTAGTCTCCT	466
Sapi - nt	330:AAGTCGATAATCGAGTTGTGTGGCAATAGAAATA---ACAATCCGAATGCTAGTCTCCT	386
Sapi Bali	408:GCTCCAACCAATCCAACAGGAATCTCCFCAGAGTAGCAAAATCCCATTCACCCCTACT	467
.....		
Banteng 1-nt	467:CTGAAGACGTAATACTACA--CTCATGAGCCGTGC--CT--TCTCTAGGACTGA--AAACAGACG	520
Banteng 2-nt	467:CTGAAGACGTAATACTACA--CTCATGAGCCGTGC--CT--TCTCTAGGACTGA--AAACAGACG	520
Banteng 3-nt	467:CTGAGGACGTAATACTACA--CTCATGAGCCGTGC--CT--TCTCTAGGACTGA--AAACAGACG	520
Sapi - nt	387:CTGAGGACGTAATACTACA--CTCATGAGCCGTGC--CT--TCTCTAGGACTGA--AAACAGACG	440
Sapi Bali	468:AT--ACCATTAAGACATCCTAGGAGCCCTGCTACTAATTCTAGCCCTAATGCTACTAGTG	526
.....		
Banteng 1-nt	521:CAATCCAGGCCGCTGAACCAAAACACCCCTTATATCGACCCGCTCCAGGCCTATACTATG	580
Banteng 2-nt	521:CAATCCAGGCCGCTGAACCAAAACACCCCTTATATCGACCCGCTCCAGGCCTATACTATG	580
Banteng 3-nt	521:CAATCCAGGCCGCTGAACCAAAACACCCCTTATATCGACCCGCTCCAGGCCTATACTATG	580
Sapi - nt	441:CAATCCAGGCCGCTGAACCAAAACACCCCTTATATCGACCCGCTCCAGGCCTATACTATG	500
Sapi Bali	527:CTATTGCACTGACCTCCTCGGAGATCC--GATAACTATAC--CCCGGCAATCCACTC	583
.....		
Banteng 1-nt	581:GT	582
Banteng 2-nt	581:GT	582
Banteng 3-nt	581:GT	582
Sapi - nt	501:GT	502
Sapi Bali	584:AA	585
..		

Gambar 5.4. Urutan nukleotida DNA Mitokondria Banteng dibandingkan dengan Sapi Bali

Dari analisis Genetik dan pembuatan pohon filogenetik yang dilakukan dengan menggunakan serangkaian program analisis Genetik yaitu Program Genetic Wins V.8; program ATGC V.9; Program EditView 3.5 NT-V.7; dan Program TreeView V.6

maka dapat diketahui hasil analisis multialignment terlihat bahwa DNA mitokondria dari banteng yang ada di TSI II dan Kebun Binatang Surabaya terlihat tidak ada perbedaan satu sama lain. Akan tetapi apabila dibandingkan dengan DNA mitokondria dari sapi Bali terlihat ada perbedaan yang bermakna satu sama lainnya.

Dari analisis hasil tersebut menunjukkan bahwa DNA mitokondria banteng yang diisolasi dari akar rambut tidak berbeda baik yang berada di TSI II maupun yang berada di Kebun Binatang Surabaya.

Pengembangan banteng maupun sapi Bali sebagai ternak saat ini menghadapi masalah serius, yakni rendahnya kualitas keturunan dan tingkat *inbreeding* yang tinggi ditandai munculnya beberapa penyimpangan fenotipe seperti penyimpangan warna bulu dan penurunan berat badan, serta kurangnya stok pejantan unggul untuk kawin dengan betina produktif.

Menurut Widodo dan Hakim (1981) dalam meningkatkan produksi maupun produktivitas ternak melalui perbaikan nilai genetiknya dengan cara sistem perkawinan dengan tujuan meningkatkan homosigositas yaitu melalui *closed breeding* atau sistem perkawinan untuk tujuan meningkatkan heterosigositas salah satunya dengan *grading Up*. *Inbreeding* dengan cara *closed breeding* bertujuan untuk meningkatkan inbreed line sehingga diperoleh keturunan yang murni. Metode yang umum dipakai adalah perkawinan *full-sib*.

Spesies yang mempunyai kekerabatan lebih dekat dengan Banteng adalah sapi Bali dan sapi Madura. Sapi Madura mempunyai ciri fenotip, tahan terhadap cuaca panas, mudah melakukan adaptasi terutama pada lingkungan yang tidak banyak ditumbuhi hijauan sebagai sumber makanannya. Meskipun demikian persentasi karkasnya lebih besar dibanding dengan sapi peranakan lainnya. Sapi Bali merupakan salah satu keturunan banteng di Indonesia. Sama seperti sapi Madura, mempunyai

daya adaptasi yang baik pada lingkungan yang kurang baik bagi pertumbuhannya. Mempunyai kecepatan pertumbuhan dan persentase yang lebih baik dan lebih besar dibanding dengan sapi peranakan lainnya.



## **BAB 6**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

Dari Hasil analisis PCR maupun phylogenetik DNA mitokondria banteng tidak terdapat perbedaan nyata antara banteng yang berada di TSI II maupun yang berada di Kebun Binatang Surabaya. Akan tetapi bila dibandingkan dengan DNA mitokondria sapi Bali terdapat perbedaan nyata

#### **6.2. Saran**

Disarankan untuk melakukan analisis phylogenetik pada sapi madura maupun sapi PO yang berada di Nusa Tenggara Barat untuk menentukan plasma nutfah asli Indonesia

## DAFTAR PUSTAKA

- Albustan, S.A., M.A. Alnaqeed, N.Y. Murad dan Al Awi. 2001. Genetic Variaton of Inbred Laboratory Rats by RAPD-PCR. *Kuwait J.Sci.Eng* 28(2): 391-400
- Anderson, S., De Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Eperon, I. C., Sanger, F. & Young, I. G. (1982). Complete sequence of bovine mitochondrial DNA: conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *J. Mol. Biol.* 156: 683-717.
- Artama, W.T. 1991. *Rekayasa Genetika*. Pusat Pengembangan Pusat Fasilitas Bersama Antar Universitas (Bank Dunia XVII)-PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Avise, J. C., Pierce, P. C., Van Den Avyle, M. J., Smith, M. H., Nelson, W. S. & Asmussen, M. A. (1997). Cytonuclear introgressive swamping and species turnover of bass after an introduction. *J. Hered.* 88: 14-20.
- Boyd, L. & Houpt, K. A. (1994). *Przewalski's horse: the history and biology of an endangered species*. Albany, NY: SUNY Press.
- Boyd, M. M. (1914). Crossing bison and cattle. *J. Hered.* 5:189-197.
- Carr, S. M., Ballinger, S. W., Derr, J. N., Blankenship, L. H. & Bickham, J. W. 1986. Mitochondrial DNA analysis of hybridization between sympatric white-tailed deer and mule deer in west Texas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 9576-9580.
- Derr, J. N., Davis, S. K., Wooley, J. B. & Wharton, R. A. (1992). Variation and the phylogenetic utility of the large ribosomal subunit of mitochondrial DNA from the insect order Hymenoptera. *Mol. Phyl. Evol.* 1: 136-147.
- Don, R. H., Cox, P. T., Wainwright, B. J., Baker, K. & Mattick, J. S. (1991). 'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucl. Acid Res.* 19: 4008.
- Goldman, N. (1993). Statistical tests of models of DNA substitution. *J. Mol. Evol.* 36: 182-198.
- Goodnight, C. (1914). My experience with bison hybrids. *J.Hered.* 5: 197-199.
- Heinen, J. T. & Srikosamatara, S. (1996). Status and protection of Asian wild cattle and buffalo. *Conserv. Biol.* 10: 931-935.
- Higgins, D. G. & Sharp, P. M. (1989). Fast and sensitive multiple sequence alignments on a microcomputer. *CABIOS* 5:151-153.
- Hill, K. D. (1993). The endangered species act: what do we mean by species? *Environ. Affairs* 20: 239-264.
- Hillis, D. M. & Huelsenbeck, J. P. (1994). Support for dental HIV transmission. *Nature, Lond.* 369: 24-25.
- Huelsenbeck, J. P., Hillis, D. M. & Jones, R. (1996). Parametric bootstrapping in molecular phylogenetics: applications and performance. In *Molecular zoology: advances, strategies, and protocols*: 19-45. Ferraris, J. D. & Palumbi, S. R. (Ed). New York: Wiley-Liss.
- Janecek, L. L., Honeycutt, R. L. Adkins, R. M. & Davis, S. K. (1996). Mitochondrial gene sequences and the molecular systematics of the artiodactyl subfamily Bovinae. *Mol. Phyl. Evol.*6: 107-119.
- Jones, C. J. (1907). Breeding cattelo. *Annu. Rep. Am. Breeders' Assoc.* 3: 161-165.
- Karl, S. A., Bowen, B. W. & Avise, J. C. (1995). Hybridization among the ancient mariners: characterization of marine turtle hybrids with molecular genetic assays. *J. Hered.* 86: 262-268. Kumar, S., Tamura, K. & Nei, M. (1993). *MEGA: molecular evolution*

**Suryo, 1995. Sitogenetika. Cetakan I. Gadjah Mada University Press. Jogjakarta**

**Widodo, W. dan L. Hakim. 1981. Pemuliaan Ternak. Lembaga Penerbitan Universitas Brawijaya Malang**

Lampiran 1. Hasil Sequensing DNA Mitokondria Banteng

