

KERAGAMAN GENOTIP DAN JARAK GENETIK SAPI MADURA BERDASARKAN *Restriction Fragment Length Polymorphism*-DNA (RFLP-DNA)

GENOTYPE VARIANCE AND GENETIC DISTANCE OF MADURA CATTLE BASED ON THE *Restriction Fragment Length Polymorphism*-DNA (RFLP-DNA)

Marleny Leasa^{1*} dan Rony Marsyal Kunda²

¹Fakultas Keguruan Ilmu Pendidikan, Universitas Pattimura, Jl. Dr Tamaela, Ambon, 97118

²Alumnus Pascasarjana Sain Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna No. 2, Bulaksumur, Yogyakarta, 55281

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi genotip dan jarak genetik sapi Madura di Kabupaten Sampang dan Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari berdasarkan teknik RFLP. Digesti DNA genom dengan enzim *EcoRI* dan *PstI* menghasilkan fragmen DNA dengan ukuran yang bervariasi baik pada induk, pedet, dan pejantan unggul dengan kisaran antara 10000 bp sampai 980 bp dan 10000 bp sampai 1250 bp. Analisis MVSP1 dengan metode UPGMA untuk jarak genetik ditemukan bahwa sampel sapi Madura berada dalam 2 *cluster* dan 1 *outgroup*. Persentase jarak genetik berada pada rentangan 0 sampai 25%.

(Kata kunci: Variasi genotip, Jarak genetik, Sapi Madura, RFLP)

ABSTRACT

The study aimed was to find the genotype variance and genetic distance of Madura cattle in Sampang and BBIB Singosari districts based on RFLP technique. DNA genome was digested by *EcoRI* and *PstI* which produce DNA fragment with variety sizes in dam, calves and superior bull. Those DNA fragment sizes range from 10000 bp to 980 bp and 10000 bp to 1250 bp. MVSP 1 analysis with UPGMA method for the genetic distance found that the subject of Madura cattle put in 2 cluster and 1 out-group. The presentation of genetic distance ranged from 0 to 25%.

(Key words: Genotype variance, Genetic distance, Madura cattle, RFLP)

Pendahuluan

Sapi potong lokal yang dikembangkan dalam usaha peternakan di tanah air adalah sapi Bali, sapi Madura, sapi Peranakan Ongole, dan sapi campuran. Sapi-sapi tersebut tercatat sebagai sapi potong asli Indonesia (Siregar, 2008). Menurut Gunawan (1993), sapi Madura diduga merupakan hasil persilangan antara sapi Bali (*Bos sondaicus*) dengan sapi Zebu (*Bos indicus*). Sapi Madura merupakan salah satu bangsa sapi yang dipertahankan kemurniannya di pulau Madura dan pulau-pulau kecil di sekitarnya. Sapi yang berpunuk ini dikenal sebagai sapi Jawa asli dengan warna kuning hingga merah bata (Zainal, 2002; Noor, 2008).

Wijono dan Setiadi (2004) melaporkan bahwa saat ini sapi Madura mengalami degradasi produktivitas. Degradasi produktivitas terjadi karena seleksi negatif dan *inbreeding*. Seleksi negatif disebabkan oleh pemotongan sapi produktif

atau tampilan yang baik oleh peternak yang akhirnya digunakan sebagai standar pasar ternak sapi potong. *Inbreeding* terjadi karena pulau Madura merupakan wilayah tertutup untuk sapi potong lain, akibatnya sapi Madura yang ditemukan hanya yang dalam ukuran kecil saja. Pedersen *et al.* (2008) menyebutkan bahwa *inbreeding* dapat mengurangi kesempatan terekspresinya karakter-karakter yang bersifat heterozigot, akibatnya terjadi peningkatan jumlah abnormalitas, penurunan fertilitas, dan peningkatan kematian ternak. Kondisi yang demikian berdampak pada penurunan mutu genetik sapi Madura, apalagi populasinya di Indonesia yang hanya mencapai 12% (Zainal, 2002).

Peningkatan produktivitas sapi Madura perlu dilakukan dengan jalan memperbaiki mutu genetiknya. Teknologi reproduksi yang telah dikembangkan dalam upaya untuk mengatasi permasalahan ini antara lain melalui inseminasi buatan yang melibatkan sentra peternakan di kabupaten Sampang dan pihak BBIB Singosari. Implementasi inseminasi buatan pada sapi Madura telah berlangsung sejak tahun 1983.

* Korespondensi (*corresponding author*):

Telp. +62 857 8103 4048

E-mail: marleny_leasa@yahoo.com

Sehubungan dengan peningkatan produktivitas sapi Madura melalui upaya pembibitan dan perbaikan mutu genetik pejantan, maka perlu dilakukan identifikasi variasi genetik. Upaya ini difokuskan kepada induk, pejantan unggul, dan pedet sapi Madura yang terlibat dalam inseminasi buatan. Pelaksanaan identifikasi variasi genetik dimaksudkan untuk mengetahui seberapa besar aliran potensi genetik dari induk dan pejantan unggul kepada keturunannya. Rahayu *et al.* (2006) mengemukakan bahwa untuk identifikasi variasi genetik dapat dilakukan kajian molekuler melalui analisis isoenzim dan DNA.

Analisis DNA dapat dilakukan dengan mengikuti beberapa teknik yang didasarkan pada variasi genotip. Melalui analisis variasi genotip juga dapat diungkapkan jarak genetik antar individu dalam satu spesies (Gesriantuti *et al.*, 2002). *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) merupakan salah satu teknik analisis DNA yang dimanfaatkan untuk mendeteksi variasi genotip dan jarak genetik (Saryanto, 2003; Fries dan Ruvinsky, 1999). Fatchiyah *et al.* (2007) dan Aulanni'am (2004) menegaskan bahwa RFLP merupakan salah satu teknik molekuler yang tingkat akurasi sangat tinggi karena dapat mengidentifikasi sekuens DNA pada genom organisme, mudah dilakukan di laboratorium, bersifat kodominan sehingga dapat juga mendeteksi adanya heterosigositas. RFLP berdasar pada homologi sekuens sehingga cocok untuk membuat analisis jarak genetik antar individu dalam satu spesies. Namun di sisi lain, RFLP membutuhkan DNA dengan kemurnian yang tinggi dalam jumlah banyak (Vasconcellos *et al.*, 2003).

Dari penelitian-penelitian sebelumnya diketahui bahwa kajian secara ilmiah terhadap sumber genetik sapi Madura di BBIB Singosari dan di kabupaten Sampang masih belum banyak dilakukan (Rahadi, 2005; Mudawamah, 2009). Hal ini menandakan bahwa sumber genetik sapi Madura di kedua tempat belum dideskripsikan dengan jelas dan spesifikasi. Di samping itu, gambaran potensi genetik atau sifat unggul yang diwariskan oleh pejantan dapat dianalisis untuk mengetahui keberhasilan inseminasi buatan yang telah berlangsung sekian lama. Dengan demikian tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui komparasi variasi genotip dan jarak genetik sapi Madura antara induk, pedet di kabupaten Sampang dengan pejantan unggul di BBIB Singosari berdasarkan RFLP oleh enzim *EcoRI* dan *PstI*.

Materi dan Metode

Sampel dalam penelitian ini adalah 10 ekor sapi, yang terdiri dari 4 ekor induk dan 4 ekor pedet

sapi Madura, yang pengambilannya secara *purposive sampling* di Kabupaten Sampang Pulau Madura dan 2 pejantan unggul sapi Madura di BBIB Singosari. Analisis DNA dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Brawijaya Malang. Untuk keperluan analisis DNA, darah diambil dari vena jugularis di leher dengan *venoject* yang sudah diisi dengan EDTA. Isolasi DNA mengikuti metode *salting out* (Fatchiyah *et al.*, 2007). Hasil isolasi DNA total disimpan pada suhu -20°C . Setelah itu dilanjutkan dengan elektroforesis DNA total dan estimasi kemurnian dan konsentrasi DNA.

Langkah selanjutnya adalah digesti DNA oleh enzim restriksi *EcoRI* dan *PstI*. Caranya yaitu ke dalam tabung *ependorf* dimasukkan 3 μl DNA ditambah dengan masing-masing 5,5 μl dH_2O , buffer enzim 1 μl , dan 0,5 μl enzim, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama *overnight*. Pengamatan hasil fragmentasi dilakukan dengan cara elektroforesis gel agarosa 1,5%.

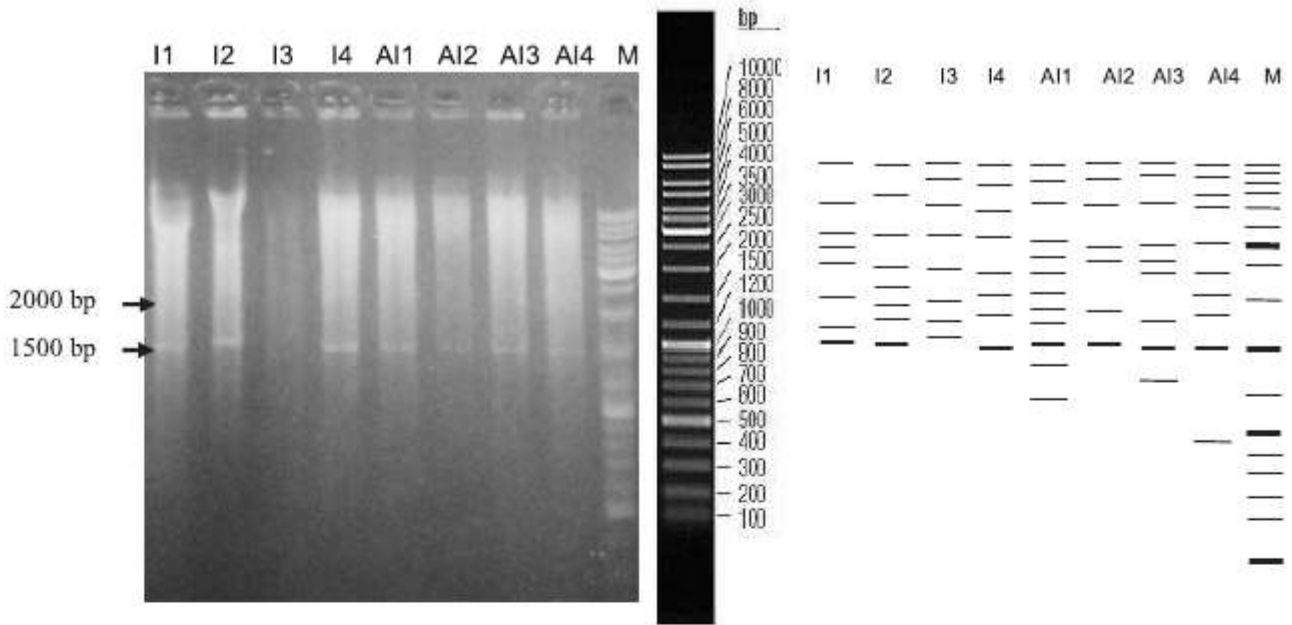
Analisis data dilakukan secara deskriptif. Fragmen-fragmen DNA yang muncul dikonfirmasi dengan DNA *marker* lalu diberi skor. Menurut Aulanni'am (2004), pemberian skor pada fragmen DNA adalah menggunakan angka 0 jika tidak ada pemotongan dan angka 1 jika ada pemotongan dengan tebal fragmen $<0,5$ mm. Data ukuran pasang basa fragmen DNA kemudian dianalisis jarak genetiknya memanfaatkan *software* MVSP1 (*Multi Variate Statistic Package*).

Hasil dan Pembahasan

Gambar 1 menunjukkan bahwa pada sampel induk dan pedet (F1) sapi Madura, enzim restriksi *EcoRI* mengenali 27 fragmen restriksi di sepanjang DNA genom. Secara umum, persentase kesamaan fragmen induk dan pedet berdasarkan hasil digesti enzim ini berkisar antara 37,5% sampai 62,5%. Hasil RFLP terhadap sejumlah fragmen DNA atas dasar ada atau tidaknya fragmen yang dipotong oleh enzim restriksi *EcoRI* pada sampel dimaksud ditunjukkan pada Tabel 1.

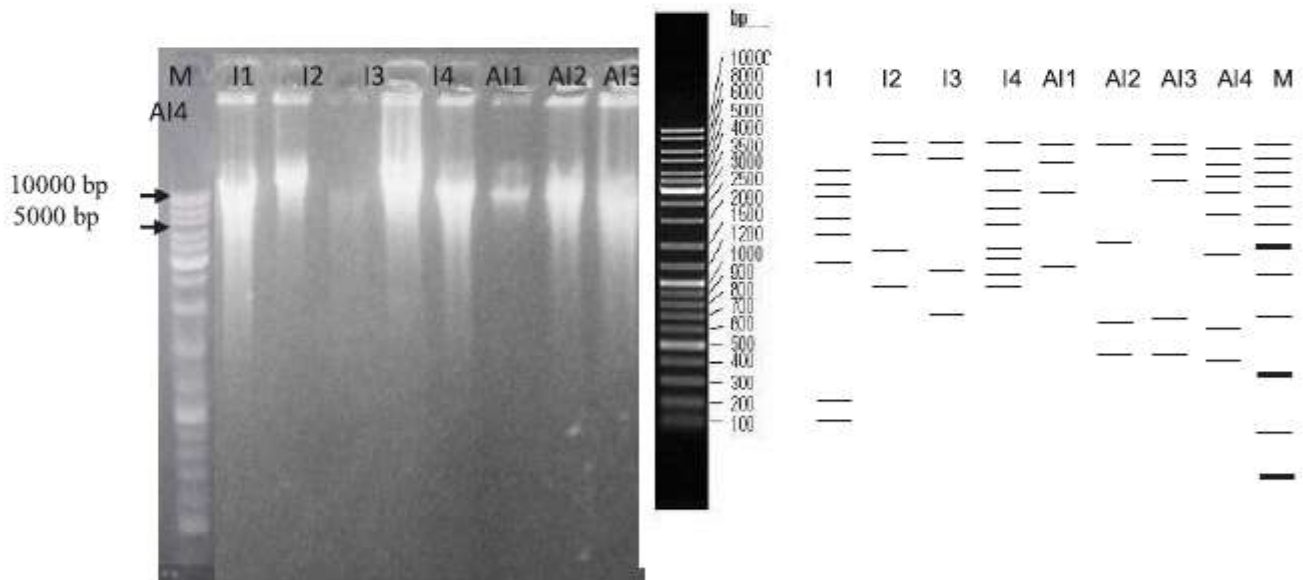
Variasi genotip DNA induk dan pedet (F1) sapi Madura di kabupaten Sampang hasil potongan oleh enzim restriksi *PstI*, disajikan pada Gambar 2. Gambar 2 menunjukkan bahwa digesti enzim restriksi *PstI* menghasilkan 25 fragmen. Persentase kesamaan fragmen DNA antara induk dengan pedet berada pada kisaran 37,5% sampai 75%. Hasil RFLP tersaji pada Tabel 2.

Variasi genotip pejantan unggul Sapi Madura di BBIB Singosari hasil potongan oleh enzim restriksi *EcoRI* dan *PstI*, melalui hasil elektroforesis gel agarosa dan zimogram ditunjukkan pada Gambar 3. Gambar 3 menunjukkan bahwa pada



Keterangan: I1-I4 = induk sapi Madura, AI1-AI4 = pedet sapi Madura, M= marker DNA (I1-I4 = dam, AI1-AI4 = calves, M= DNA marker).

Gambar 1. Hasil elektroforesis gel agarosa 1,5% dan zimogram hasil pemotongan DNA induk dan pedet sapi Madura oleh enzim *EcoRI* (the result of Agarosa gel electrophoresis 1.5% and zimogram of DNA fragment of dam and calves Madura cattles digested by *EcoRI* enzyme).



Keterangan: I1-I4 = induk sapi Madura, AI1-AI4 = pedet sapi Madura, M= marker DNA (I1-I4 = dam, AI1-AI4 = calves, M = DNA marker).

Gambar 2. Hasil elektroforesis gel agarosa 1,5% dan zimogram hasil pemotongan DNA pada induk dan pedet sapi Madura oleh enzim *PstI* (the result of agarosa electrophoresis gel 1.5% and zimogram of DNA fragment of dam and calves Madura cattles by *PstI* enzyme).

sampel pejantan unggul sapi Madura, enzim restriksi *EcoRI* mengenal 16 fragmen. Enzim restriksi *PstI* mengenal 6 fragmen pemotongan DNA yang tersebar di sepanjang genom total. Fragmen DNA yang dimiliki oleh kedua pejantan

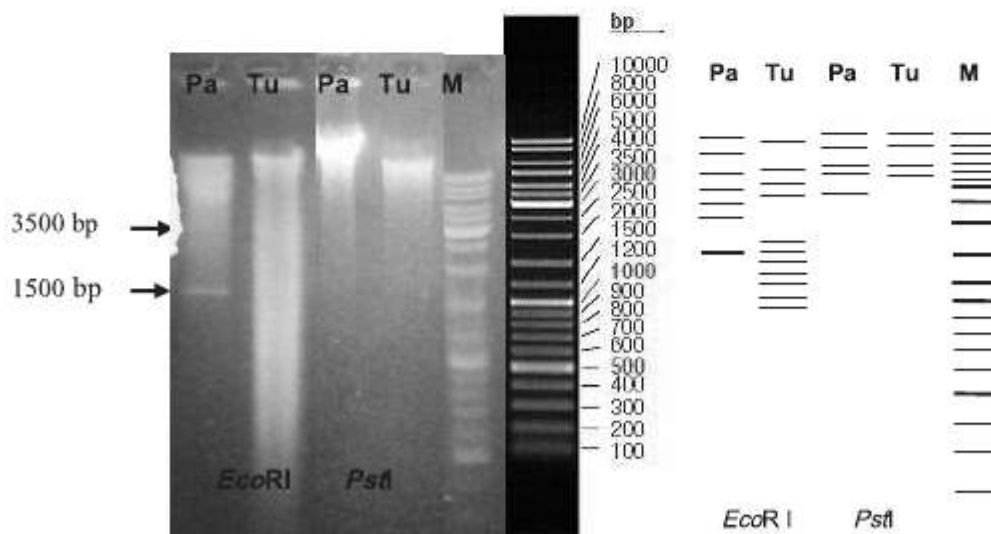
unggul ini adalah fragmen 3500 bp dan 10000 bp atau persentase kesamaan fragmen sebesar 33%. Fragmen DNA hasil RFLP tersaji pada Tabel 3.

Dendogram jarak genetik antara induk, pedet, dan pejantan unggul berdasarkan pola potongan

Tabel 1. Hasil RFLP atas dasar ada atau tidak ada fragmen DNA yang dipotong oleh enzim restriksi *EcoRI* pada induk dan pedet sapi Madura di Kabupaten Sampang (*the result of RFLP based on the existence and not existence of DNA fragment which was digested by EcoRI enzyme of dam and calves Madura cattle at Sampang District*)

DNA (bp)	Sampel (sample)							
	I1	I2	I3	I4	AI1	AI2	AI3	AI4
10000	1	1	1	1	1	1	1	1
8000	0	0	0	0	0	0	1	0
7000	0	0	0	0	0	0	0	1
6000	0	0	1	1	1	1	0	0
5000	0	1	0	0	0	0	0	1
4000	1	0	1	1	1	1	1	1
3300	1	1	1	1	0	0	0	0
3100	0	0	0	0	1	0	0	0
3000	1	0	0	0	0	1	1	1
2750	0	0	0	0	1	0	0	0
2500	1	1	0	0	0	1	1	0
2400	0	0	1	1	1	0	1	1
2200	0	1	0	0	0	0	0	0
2050	0	0	0	1	1	0	0	1
2000	1	0	1	0	0	0	0	0
1950	0	1	0	0	0	0	0	0
1900	0	0	0	0	1	1	0	0
1850	0	0	0	1	0	0	0	0
1800	0	1	1	0	0	0	1	1
1750	0	0	0	0	1	0	0	0
1700	1	0	0	0	0	0	0	0
1600	0	0	1	0	0	0	0	0
1500	1	1	0	1	1	1	1	1
1400	0	0	0	0	1	0	0	0
1300	0	0	0	0	0	0	1	0
1180	0	0	0	0	1	0	0	0
980	0	0	0	0	0	0	0	1

1 = Ada fragmen DNA, 0 = Tidak ada fragmen, I1-I4 = induk, AI1-AI4 = pedet (1 = the existence of DNA fragment, 0 = no existence of DNA fragment, I1-I4 = dam, AI1-AI4 = calves).



Keterangan: Pa= Prapanca, Tu= Tantular, M= marker DNA (Pa= Prapanca, Tu= Tantular, M= DNA marker).

Gambar 3. Hasil elektroforesis gel agarosa 1,5% dan zimogram hasil pemotongan DNA pejantan unggul sapi Madura oleh enzim *EcoRI* dan *PstI* (*the result of agarosa electroforesis gel 1.5% and zimogram as the result of DNA restriction of superior bull by EcoRI and PstI enzymes*).

Tabel 2. Hasil RFLP atas dasar ada atau tidak ada fragmen DNA yang dipotong oleh enzim restriksi *PstI* pada induk dan pedet sapi Madura di Kabupaten Sampang (*the result of RFLP of dam and calves Madura cattle at Sampang District based on the existence and not existence of DNA fragment which was digested by enzyme restriction PstI*)

DNA (bp)	Sampel (<i>sample</i>)							
	I1	I2	I3	I4	AI1	AI2	AI3	AI4
10000	0	0	1	1	1	1	1	1
8000	0	1	1	0	0	0	1	0
7500	0	0	0	0	1	1	0	1
7000	0	0	0	0	0	0	0	0
6000	1	0	0	1	1	1	0	1
5200	0	0	0	0	0	0	1	0
5000	1	0	0	1	1	1	0	1
4400	1	0	0	0	0	0	0	0
4000	0	0	0	1	0	0	0	0
3800	0	0	0	0	0	0	0	1
3500	1	0	0	1	0	0	0	0
3200	1	0	0	0	0	0	0	0
3000	0	1	0	1	0	0	0	0
2900	0	0	0	0	0	0	0	1
2800	0	0	0	1	0	0	0	0
2600	1	0	0	0	1	0	0	0
2500	0	0	1	1	0	0	0	0
2400	0	1	0	1	0	0	0	0
2000	0	0	1	0	0	0	1	0
1950	0	0	0	0	0	1	0	0
1900	0	0	0	0	0	0	0	1
1700	0	0	0	0	0	1	1	0
1650	0	0	0	0	0	0	0	1
1350	1	0	0	0	0	0	0	0
1250	1	0	0	0	0	0	0	0

1= Ada fragmen DNA, 0 = tidak ada fragmen DNA, I1-I4 = induk, AI1-AI4 = pedet (1 = *the existence of DNA fragment*, 0 = *no existence of DNA fragment*, I1-I4 = *dam*, AI1-AI4 = *calves*).

DNA hasil restriksi enzim *EcoRI* ditunjukkan pada Gambar 4. Gambar 4 menunjukkan bahwa sampel dapat dikategorikan menjadi 2 *cluster* atau kelompok dan 1 *outgroup*. Nilai similaritas antara *cluster* I dan II adalah sebesar 63,3%, sedangkan nilai similaritas antara *cluster* I, II, dengan *outgroup* adalah 52,2%. Dendogram ini berbeda dengan dendogram jarak genetik berdasarkan hasil restriksi enzim *PstI*, walaupun sampel masih dikategorikan menjadi 2 *cluster* dan 1 *outgroup*. Nilai similaritas antara *cluster* I dan II adalah sebesar 65,8%, sedangkan nilai similaritas antara *cluster* I, II dengan *outgroup* adalah 57,8%. Dendogram jarak genetik berdasarkan hasil pemotongan DNA genom oleh enzim *PstI* ditunjukkan pada Gambar 5.

Hasil penelitian (Tabel 1 dan Tabel 2) memperlihatkan bahwa adanya variasi genotip yang ditandai dengan berbedanya fragmen DNA hasil potongan setiap enzim restriksi pada sampel induk dan pedet di kabupaten Sampang. Hasil analisis DNA dengan teknik RFLP menunjukkan bahwa pada sampel induk dan pedet (F1), enzim restriksi *EcoRI* mengenal 27 fragmen DNA dengan ukuran

antara 980 bp sampai 10000 bp. Enzim restriksi *PstI* mengenali 25 fragmen DNA dengan jumlah pasang basa antara 1250 bp sampai 10000 bp. Terdapat sejumlah fragmen yang sama dijumpai pada induk dan pedet, tetapi ada juga yang hanya dijumpai pada induk atau pedet. Hal inilah yang menyebabkan bervariasinya persentase kesamaan fragmen DNA antara induk dan pedet. Persentase kesamaan fragmen DNA antara I3 dan AI3 juga sebesar 75%, karena terdapat 3 fragmen yang dimiliki oleh I3 dan AI3 yaitu 10000 bp, 8000 bp, dan 2000 bp. Secara umum ditemukan bahwa persentase kesamaan fragmen hasil restriksi dengan dua enzim yang berbeda antara induk dan pedet cukup bervariasi.

Bervariasinya persentase kesamaan fragmen DNA antara induk dan pedet menunjukkan bahwa potensi genetik yang diturunkan dari induk kepada keturunannya juga berbeda. Variasi kesamaan fragmen antara induk dan pedet ini sangat terkait dengan variasi genotip yang dimiliki tiap induk dan pedet. Dengan mengetahui seberapa besar kesamaan fragmen DNA antara induk dan pedet, dapat diasumsikan bahwa fragmen sisanya merupakan warisan dari pejantan unggul (Mudawamah, 2009).

Beberapa hasil penelitian sebelumnya dengan menggunakan teknik RFLP juga menemukan variasi genotip pada sapi Madura. Hasil penelitian Widayadi (2006) dengan enzim *HaeIII* pada sapi Madura di Pulau Sapudi menghasilkan sejumlah fragmen DNA dengan ukuran antara 100 bp sampai 400 bp. Senada dengan ini, hasil penelitian Verkaar *et al.* (2003) pada sapi Madura dengan enzim restriksi *BfaI* menghasilkan 3 fragmen DNA yaitu 268 bp, 261 bp, dan 97 bp. Hasil penelitian tersebut berbeda dengan hasil penelitian Mudawamah (2009) pada induk dan pedet sapi Madura hasil persilangan sapi Limousin-Madura dengan enzim *MspI* dan *AvaII* yang masing-masing menghasilkan 11 fragmen dan 8 fragmen DNA.

Hasil penelitian (Tabel 3) menunjukkan adanya variasi genotip yang diketahui melalui pola fragmen DNA hasil potongan yang berbeda pada

kedua pejantan unggul. Hasil penelitian Rahadi (2005) pada pejantan sapi Madura di BBIB Singosari dengan teknik RFLP melalui digesti enzim *PstI* dan *HindIII* juga menemukan hal yang sama. Fragmen DNA yang muncul sebagai hasil digesti enzim *PstI* adalah 870 bp, 449 bp, dan 257 bp. Sementara dari hasil digesti enzim *HindIII* didapatkan 4 fragmen DNA 449 bp, 366 bp, 128 bp, dan 114 bp.

Hasil penelitian Mudawamah (2009) pada pejantan unggul sapi Limousin di BBIB Singosari yang saat ini telah banyak disilangkan dengan induk sapi Madura menemukan adanya sejumlah fragmen DNA dengan ukuran yang bervariasi. Meskipun demikian, kisaran ukuran pasang basa hasil restriksi relatif sama. Hal ini berarti bahwa digesti enzim *AvaII*, *MspI*, dan *XhoI* menghasilkan fragmen DNA dengan ukuran antara 200 bp sampai 10000 bp.

Tabel 3. Hasil RFLP atas dasar ada atau tidak ada fragmen DNA yang dipotong oleh enzim restriksi *EcoRI* dan *PstI* pada pejantan unggul sapi Madura di BBIB Singosari (*the result of RFLP of superior bull at BBIB Singosari based on the existence and not existence of DNA fragment which was digested by EcoRI and PstI enzyme restrictions*)

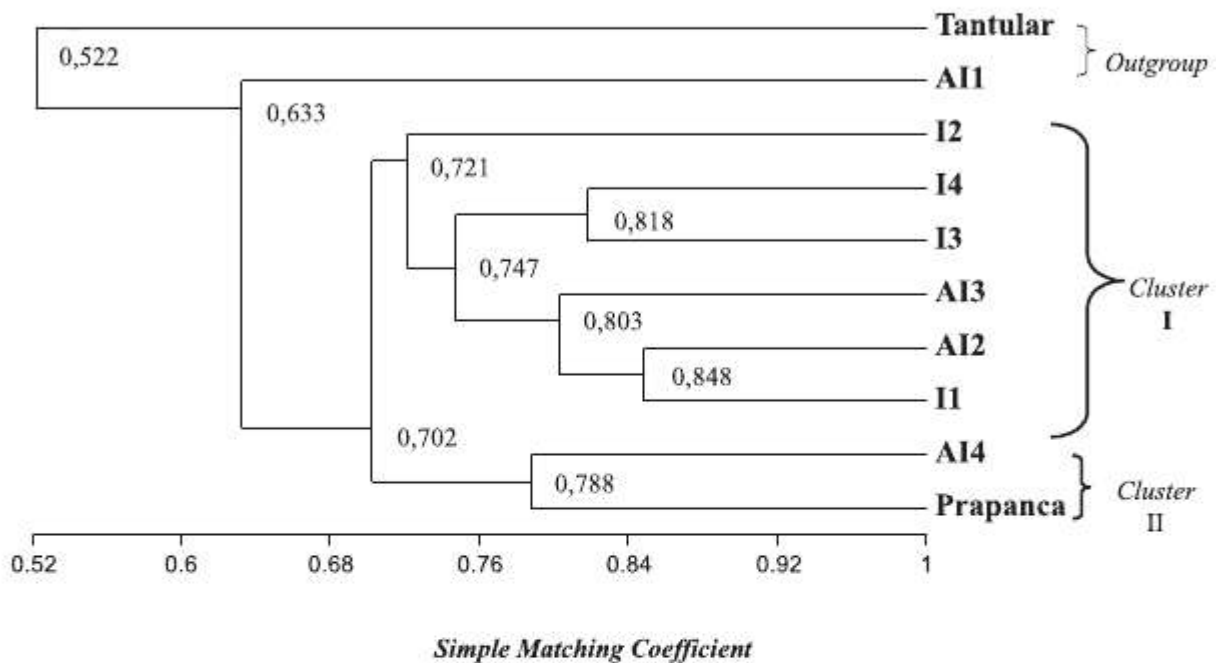
DNA (bp)	Restriksi enzim <i>EcoRI</i> (<i>EcoRI</i> enzyme restriction)		Restriksi enzim <i>PstI</i> (<i>PstI</i> enzyme restriction)	
	Prapanca	Tantular	Prapanca	Tantular
10000	0	0	1	1
9000	1	0	0	0
8000	0	0	0	0
7000	0	0	0	1
6000	0	1	1	0
5500	0	0	0	0
5000	1	0	0	0
4500	0	0	0	0
4000	0	0	1	1
3700	0	1	0	0
3500	1	0	1	1
3100	0	1	0	0
3000	1	0	0	0
2800	0	0	1	0
2500	0	1	0	0
2400	1	0	0	0
2200	0	0	0	0
2050	1	0	0	0
1900	0	0	0	0
1700	0	1	0	0
1500	1	1	0	0
1400	0	1	0	0
1300	0	1	0	0
1200	0	1	0	0
1080	0	1	0	0
1020	0	0	0	0
1000	0	1	0	0
950	0	0	0	0
500	0	0	0	0

1= Ada fragmen DNA, 0= Tidak ada fragmen DNA (1 = the existence of DNA fragment, 0 = no existence of DNA fragment).

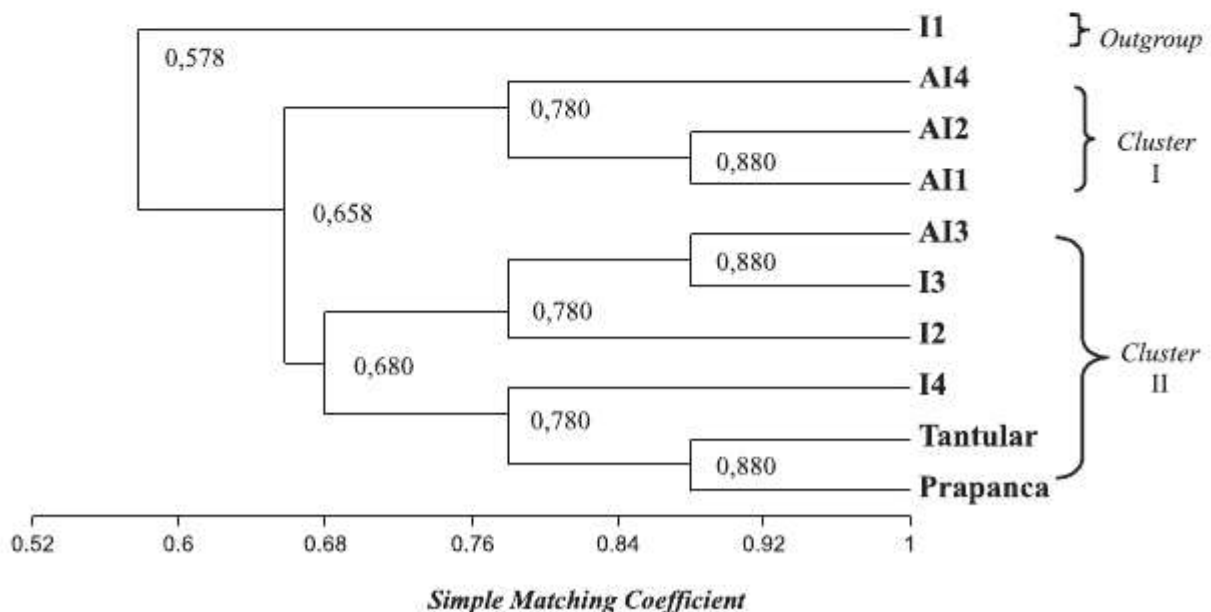
Perbedaan variasi genotip antara induk dan pedet yang berlokasi di kabupaten Sampang dengan pejantan unggul di BBIB Singosari berdasarkan dua indikator utama. Indikator tersebut yaitu jumlah fragmen yang berhasil dipotong oleh masing-masing enzim dan kisaran ukuran pasang basanya. Berbedanya variasi genotip melalui pola fragmen DNA yang muncul pada sampel induk dan pedet dengan pejantan unggul ini disebabkan karena beberapa faktor. Menurut Yuwono (2005), faktor

yang paling utama adalah karena setiap individu memiliki serangkaian materi genetik atau sekuens DNA yang berbeda satu dengan lainnya. Sekuens DNA dapat berbeda antara individu satu dengan lainnya, meskipun berada dalam satu spesies. Hal ini mengakibatkan pola potongan fragmen DNA yang berbeda.

Faktor lain yang mendukung perbedaan variasi genotip ini adalah karena masing-masing enzim restriksi memiliki situs-situs restriksi yang



Gambar 4. Dendrogram jarak genetik antara induk, pedet, dan pejantan unggul sapi Madura berdasarkan pola potongan DNA oleh enzim restriksi *EcoRI* (dendrogram of genetic distance among dam, calves, and superior bull based on the DNA fragment by *EcoRI* restriction enzyme).



Gambar 5. Dendrogram jarak genetik antara induk, pedet, dan pejantan unggul sapi Madura berdasarkan pola potongan DNA oleh enzim restriksi *PstI* (dendrogram of genetic distance among dam, calves, and superior bull based on the DNA fragment by *PstI* restriction enzyme).

dapat dikenali di sepanjang DNA genom. Oleh karena itu, setiap enzim mampu mengenali dan memotong sejumlah sekuens tertentu pada DNA genom berdasarkan situs pengenalannya, sehingga menghasilkan jumlah fragmen DNA yang berbeda. Dalam penelitian ini digunakan enzim restriksi *EcoRI* dan *PstI* yang menghasilkan variasi pola potongan DNA. Enzim restriksi *EcoRI* mengenali sekuens pemotongan (*restriction site*) posisi guanin dan adenin yang menghasilkan sisi potongan *sticky end*, sementara enzim restriksi *PstI* mengenali fragmen pemotongan pada basa adenin dan guanin yang menghasilkan sisi potongan *sticky end* (Klug dan Cummings, 2000; Lodish *et al.*, 2003; Dale dan Park, 2004).

Secara umum dari penelitian ini, ditemukan bahwa berdasarkan hasil digesti enzim restriksi *EcoRI* dan *PstI* dendogram yang dapat dikategorikan dalam 2 *cluster* dan 1 *outgroup*. Dimana masing-masing enzim memunculkan pola-pola fragmen yang berbeda pada setiap sampel, sehingga sampel-sampel yang memiliki jarak genetik dekat atau jauh pada setiap dendogram tidaklah sama. Sebenarnya melalui penelitian ini diharapkan akan ditemukan jarak genetik yang dekat antara setiap induk dengan pedetnya. Namun, dari dendogram jarak genetik melalui digesti enzim *EcoRI* dan *PstI* tidak ditemukan jarak genetik yang demikian, kecuali dendogram dengan enzim *PstI* memperlihatkan bahwa antara I3 dan AI3 terdapat hubungan yang begitu erat.

Jarak genetik yang menyimpang dari asumsi dan kenyataan, diduga karena faktor rekombinasi dan mutasi. Menurut Pai (1985), rekombinasi terjadi setiap alih generasi atau keturunan. Corebima (2000) menyatakan bahwa rekombinasi merupakan peristiwa pembentukan suatu asosiasi baru dari molekul-molekul DNA atau kromosom. Dua DNA yang terlibat pada peristiwa rekombinasi umumnya merupakan molekul-molekul berbeda yang mempunyai suatu daerah homolog. Pada daerah homolog itu urutan nukleotida sama atau sekurang-kurangnya mirip. Rekombinasi terjadi selama gametogenesis khususnya pada proses meiosis I, sehingga kromosom homolog yang diwariskan dari setiap induk menukarkan beberapa gennya dengan cara pindah silang (*crossing over*). Pindah silang adalah peristiwa pemutusan dan penyambungan kembali yang diikuti oleh suatu pertukaran resiprok antara kedua kromatid di dalam bentuk bivalent (Corebima, 2000; Rothwell, 1983). Gardner *et al.* (1991) menjelaskan bahwa pada saat terbentuk 4 kromatid ada kemungkinan terjadi pindah silang, tepatnya pada saat tetrad pasca replikasi. Saat tetrad pasca replikasi kromosom telah mengganda sehingga terbentuk empat kromatid yang masih terikat pada sentromer. Melalui pindah silang,

keturunan akan menghasilkan koleksi gamet yang kombinasi kromosomnya jauh berbeda dengan parentalnya.

Mutasi adalah perubahan pada struktur dan molekul materi genetik yang diwariskan pada keturunannya. Materi genetik (*gen*) terdapat dalam berbagai bentuk sebagai alel yang berlainan, karena mengalami *forward mutation*, mengurangi frekuensi *gen liar*, dan *back mutation*, meningkatkan frekuensi *gen liar*. Mutasi terjadi secara acak, yang beradaptasi hanya sebagian kecil (Corebima, 2000). Bila suatu mutasi mempunyai nilai ketahanan dan bentuk baru yang diturunkan telah nampak, maka ketahanan, kedewasaan dan reproduksi dari bentuk baru itu tidak bersifat acak lagi (Yuwono, 2005). Namun bila dibandingkan antara rekombinasi dan mutasi, maka jauhnya jarak genetik antara induk dan pedet dalam penelitian ini lebih cenderung disebabkan karena terjadinya rekombinasi. Hal ini sejalan dengan pendapat Supriatno *et al.* (2007) bahwa mutasi merupakan bahan dasar variasi genetik, namun yang paling memiliki peluang besar sebagai penyebab terjadinya variasi genetik adalah rekombinasi.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Hasil RFLP pada induk dan pedet sapi Madura di Kabupaten Sampang dengan menggunakan enzim *EcoRI*, dan *PstI* memiliki variasi genotip dalam ukurannya. Hasil digesti enzim *EcoRI* menghasilkan 27 fragmen DNA dengan ukuran antara 980 bp sampai 10000 bp. Enzim *PstI* menghasilkan 25 fragmen DNA dengan ukuran antara 1250 bp sampai 10000 bp. Hasil RFLP pada pejantan unggul sapi Madura di BBIB Singosari dengan menggunakan enzim *EcoRI* dan *PstI* juga ditemukan adanya variasi genotip. Enzim *EcoRI* menghasilkan 16 fragmen DNA dengan ukuran antara 1000 bp sampai 10000 bp, sedangkan enzim *PstI* menghasilkan 6 fragmen DNA dengan ukuran antara 2800 bp sampai 10000 bp. Jarak genetik antara induk dan pedet sapi Madura di kabupaten Sampang dengan pejantan unggul di BBIB Singosari berada pada persentase 0 sampai 25%.

Saran

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lanjut untuk mengkaji variasi genotip sapi Madura di BBIB Singosari dan di Kabupaten Sampang dengan menggunakan primer tertentu melalui metode PCR-RFLP. Di samping itu, kontes-kontes sapi Madura dalam upaya untuk mendapatkan induk sapi Madura unggul perlu dilakukan sehingga upaya perbaikan produktivitas sapi Madura ke depan akan lebih baik lagi.

Daftar Pustaka

- Aulanni'am. 2004. Prinsip dan Teknik Analisa Biomolekul. FPUB Press. Malang.
- Corebima, A.D. 2000. Genetika Mutasi dan Rekombinasi. Jurusan Biologi FMIPA-UM. Malang.
- Dale, J.W. and S. Park. 2004. Molecular Genetics of Bacteria. Jhon Wiley & Sons, Inc. USA.
- Fatchiyah, E.L. Arumingtyas, S. Widyarti, dan S. Rahayu. 2007. Analisa Biologi Molekuler. Brawijaya-Press. Malang.
- Fries, R. and A. Ruvinsky (eds). 1999. The Genetics of Cattle. CABI Publishing. London.
- Gardner, E.J., M.J. Simmons, and D.P. Snustad. 1991. Principles of Genetic Eight Edition. Jhiseon Wiley & Sons, Inc. New York.
- Gesriantuti, N., J. Situmorang, dan F.A. Sudjadi. 2002. Analisis polimorfisme genetik *Anopheles aconitus* donitz (Diptera: Culicidae) dari Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah dengan RAPD-PCR. Teknosains, 15(1): 139-151.
- Gunawan. 1993. Sapi Madura. Kanisius. Yogyakarta.
- Klug, W.S. and M.R. Cummings. 2000. Concept of Genetics Sixth Edition. Prentice Hall, Inc. New Jersey.
- Lodish, H., A. Berk, P. Matsudaira, C.A. Kaiser, M. Krieger, M.P. Scott, S.L. Zipursky, and J. Darnell. 2003. Molecular Cell Biology, 5th Edition. W.H. Freeman and Company. New York.
- Mudawamah. 2009. Evaluasi genetik dengan *breeding value* dan analisis DNA serta implementasinya oleh para pelaku pembibitan sapi potong hasil persilangan di Perusa UPA Pasuruan dan Sampang Madura (sebuah model pengembangan pembelajaran materi evaluasi genetik dengan kajian meta analisis untuk sapi potong hasil persilangan). Disertasi. PPS UM. Malang.
- Noor, R.R. 2008. Genetika Ternak. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Pai, A.C. 1985. Dasar-dasar Genetika. Terjemahan oleh Apandi, M. 1992. Erlangga, Jakarta.
- Pedersen, S.K., N.T. Kristensen, K. Volker Loeschke, O.B. Petersen, J. Duus, Chr.N. Nielsen, and A. Malmenda. 2008. Metabolomic signatures of inbreeding at benign and stressful temperatures in *drosophila melanogaster*. Genetics, 180: 1233-1243.
- Rahadi, S. 2005. Identifikasi genetik sapi lokal Pandaan serta kekerabatannya dengan sapi Bali dan sapi Madura atas dasar analisa RFLP. Tesis. Program Studi Ilmu Ternak PPS Universitas Brawijaya, Malang.
- Rahayu, S., S.B. Sumitro, T. Susilowati, dan Soemarno. 2006. Analisis isoenzim untuk mempelajari variasi genetik sapi Bali. Available at <http://journal.discovery-indonesia.com/index.php/hayati/article/view/1/1>. Accession date: 21 Juni, 2008.
- Rothwell, N. 1983. Understanding Genetics. Mc Millan Publishing, Inc. New York.
- Saryanto, D. 2003. Melihat keanekaragaman organisme melalui beberapa teknik genetika molekuler. Available at <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/biologi-dwis.pdf>. Accession date: 29 Juni, 2008.
- Siregar, S.B. 2008. Penggemukan Sapi. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Supriatno, S., M. Indrawan, dan R.B. Primarck. 2007. Biologi Konservasi dan Keanekaragaman Hayati Edisi Revisi. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Vasconcellos, L.P., D. Tambasco, Talhari, A. Pereira, and L.C. Regitano. 2003. Genetic characterization of Aberdeen Angus cattle using molecular markers. Genetic and Molecular Biology, 26 (2): 133-137.
- Verkaar, E.L.C., H. Vervaecke, C. Roden, L.R. Mendoza, M.W. Barwegen, and T. Susilawati. 2003. Paternally inherited markers in bovine hybrid populations. Heredity, Volume 91. Available at <http://www.nature.com/hdy/journal/v91/n6/full/6800359a>. Accession date: June 24, 2008.
- Wijono, D.S. dan B. Setiadi. 2004. Potensi dan keragaman genetik. Available at <http://maduracenter.wordpress.com/2007/07/14/potensi-dan-keragaman-sumberdaya-genetik>. Accession date: 21 Juni, 2008.
- Widayadi. 2006. Analisis polimorfisme gen growth hormone dan hubungannya terhadap bobot badan sapi Madura di Pulau Sapudi. Skripsi. Fakultas MIPA-Universitas Brawijaya, Malang.
- Yuwono, T. 2005. Biologi Molekuler. Erlangga, Jakarta.
- Zainal, A. 2002. Penggemukan Sapi Potong. AgroMedia Pustaka, Jakarta.