

ESTIMASI JARAK GENETIK ANTAR POPULASI KAMBING KACANG,  
KAMBING PERANAKAN ETAWAH DAN KAMBING LOKAL  
BERDASAR POLIMORFISME PROTEIN DARAH

Maria Astuti<sup>1</sup>

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengestimasi frekuensi alel pada lokus albumin, *post-albumin*, transferin, *post-transferin* dan hemoglobin, serta jarak genetik antar populasi kambing Peranakan Etawah Sumberejo, kambing Peranakan Etawah Girimulyo, kambing Kacang Sragen, kambing Lokal Kodya Yogyakarta serta kambing Lokal Gunungkidul. Sampel darah sebanyak 166 dipergunakan dalam penelitian ini. Teknik elektroforesis dengan gel poliakrilamida sistem vertikal dipergunakan pada analisis protein darah. Frekuensi gen diestimasikan berdasar metode perhitungan langsung dan diuji untuk keseimbangan Hardy-Weinberg, sedangkan jarak genetik diestimasikan dengan rumus Nei. Hasil elektroforesis menunjukkan albumin, transferin, dan hemoglobin dikontrol oleh 3 alel, sedang *post-albumin* dan *post-transferin* dikontrol oleh 2 alel. TfC merupakan alel yang paling jarang dengan frekuensi antara 0,078 - 0,256 sedang TfB menunjukkan frekuensi tertinggi terutama pada kambing Peranakan Etawah Girimulyo yaitu sebesar 0,597. Pada lokus hemoglobin HbC merupakan alel paling jarang ditemui dan hanya terdapat pada kambing Peranakan Etawah dengan frekuensi yang rendah. HbB menunjukkan frekuensi yang tinggi pada semua populasi. Jarak genetik terkecil adalah antara kambing Peranakan Etawah Sumberejo dan kambing Lokal Gunungkidul sebesar 0,025, sedangkan jarak genetik paling besar adalah antara kambing Peranakan Etawah Girimulyo dan kambing Kacang Sragen sebesar 0,70. Nilai jarak genetik menunjukkan bahwa pada populasi yang dipelajari maka kambing Peranakan Etawah Girimulyo dan kambing Kacang Sragen memiliki pertalian genetik yang jauh dengan kesamaan genetik yang kecil.

(Kata Kunci: Kambing, Polimorfisme Protein Darah, Jarak Genetik.)

Buletin Peternakan 21 (1): 1-9, 1997

<sup>1</sup>Fakultas Peternakan UGM, Yogyakarta 55281.

**ESTIMATION OF GENETIC DISTANCE AMONG POPULATIONS  
OF KACANG GOAT, ETAWAH GRADE GOAT AND LOCAL GOAT  
BASED ON BLOOD PROTEIN POLYMORPHISM**

**ABSTRACT**

The objectives of this study were to estimate the allele frequencies of albumin, post-albumin, transferin, post-transferin and hemoglobin loci, and to estimate the genetic distance among populations of Etawah grade goat at Sumberejo, Etawah grade goat at Girimulyo, Kacang goat at Sragen, Local goat at Kodya Yogyakarta and Gunungkidul. A total of 166 blood samples were used in this study. The vertical PAGE (Polyacrylamide Gel Electrophoresis) technique was used in the blood protein analysis. The gene frequencies were estimated by the direct count method, and tested for the Hardy-Weinberg equilibrium. The genetic distances among populations were estimated using Nei's standard genetic distance. The results of the electrophoresis indicated albumin, transferin and hemoglobin were controlled by 3 alleles while post-albumin and post-transferin by 2 alleles. TfC was a rare allele with frequencies between 0,078 - 0,256, while TfB had the highest frequencies, especially on Etawah grade goat population at Girimulyo and was 0,597. At hemoglobin loci, HbC was the rare allele with low frequency and was observed only in the Etawah grade populations. The HbB showed the highest frequencies in all populations. The smalles genetic distance was between the Etawah grade goat at Sumberejo and the Lokal goat at Gunungkidul and was 0,025, while the larges genetic distance was between the Etawah grade goat at Girimulyo and the Kacang goat at Sragen and was 0,070. The genetic distance of the populations studied indicated that the Etawah grade goat at Girimulyo and the Kacang goats at Sragen had a distant genetic relationship and had only a small genetic identity.

(Key Words: Goat, Blood Protein Polymorphism, Genetic Distance.)

**Pendahuluan**

Teknik elektroforesis dapat dipergunakan untuk menentukan polimorfisme protein didasarkan pada mobilitas molekul di dalam suatu medan listrik. Mobilitas tersebut ditentukan oleh ukuran, bentuk, besar muatan dan sifat kimia molekul (Wongsosupantio, 1992). Alel dengan berat molekul yang berbeda akan menunjukkan mobilitas yang berbeda dari katode ke anode pada proses elektroforesis dan menghasilkan gambaran peta genotipe yang berbeda.

Terdapatnya polimorfisme protein darah dan enzim pada kambing telah

dilaporkan oleh beberapa peneliti (Katsumata *et al.*, 1981; Tucker *et al.*, 1983; Braend *et al.*, 1988; Wang *et al.*, 1990; Kharel, 1991; Selvaraj *et al.*, 1994; dan Pépin dan Nguyen, 1994). Lokus-lokus protein darah yang dilaporkan polimorfik antara lain adalah transferin, pre-albumin, albumin, hemoglobin, esterase, alkalin fosfatase, amilase, karbonik anhidrase, malat dehidrogenase, NADH diaporase 1 dan NADH diaporase 2.

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap lokus *post-transferin*, transferin, *post-albumin*, albumin dan hemoglobin. Tujuan penelitian ini adalah

mengestimasi frekuensi gen pada lokus polimorfik, menguji keseimbangan Hardy Weinberg, dan estimasi jarak genetik untuk mengetahui pertalian genetik antar populasi berdasar frekuensi alel pada lokus yang diamati.

### Materi dan Metode

Sampel darah sebanyak 166 yang berasal dari kambing Kacang, kambing Peranakan Etawah dan kambing Lokal diperoleh dari DIY, kabupaten Kendal dan kabupaten Sragen. Pengambilan sampel darah sebanyak 3 ml, ditampung dalam tabung berisi EDTA. Tabung darah disentrifus untuk memisahkan plasma dan sel darah merah. Plasma dipisahkan, selanjutnya sel darah dicuci, disentrifus, dan dihemolisir untuk mendapatkan hemolisat, kemudian plasma dan hemolisat disimpan pada suhu -20°C.

Stok larutan untuk pembuatan gel pemisah (separation gel), gel penggertak (stocking gel) dan larutan dapar (buffer) untuk elektroforesis disiapkan dan terdiri dari:

Stok IA: 7,8 g akrilamida, 0,2 g bis dan 4 ml gliserol dilarutkan dalam akuabides sampai 20 ml.

Stok IB: 2,772 g tris amino metah dilarutkan dalam akuabides sampai 30 ml (pH 8,8).

Stok IC: 0,005 g ammonium persulfat dilarutkan dalam akuabides sampai 1,250 ml.

Stok ID: 5  $\mu$ l TEMED dilarutkan dalam akuabides sampai 1,25 ml.

Stok IIA: 7,6 g akrilamida, 0,4 g bis dan 4 ml gliserol dilarutkan dalam akuabides sampai 20 ml.

Stok IIB: 0,4545 g tris amino metan dilarutkan dalam akuabides sampai 30 ml (pH 6,8).

Stok IIC: 0,01 g ammonium , persulfat dilarutkan dalam akuabides sampai 1,250 ml.

Stok IID: 2,5  $\mu$ l TEMED dilarutkan dalam akuabides sampai 0,625 ml.

Stok III: 1,5 g tris amino metan dan 7,2 g glisin dilarutkan dalam akuabides sampai 100 ml (pH 8,3).

Stok IV: 1,64 g tris amino metan ditambah Hcl sampai 25 ml (pH 6,8) dilarutkan dalam 40 ml gliserol, 20 ml bromophenol blue 0,01% dan 15 ml akuabides.

Stok VA: Pewarna commisie terdiri dari campuran 9 g TCA, 120 ml akuabides, 30 ml metanol, 10,5 ml acetic acid glacial, 3,75 ml commassie brilliant blue R-250,1%.

Stok VB: Pewarna Ponceau-S terdiri dari campuran 0,75 g Ponceau-S ditambah 150 ml TCA 5%.

Stok VI: Larutan pencuci terdiri dari 400 ml akuabides, 125 ml metanol dan 50 ml acetic acid glacial.

Elektroforesis dilakukan dengan mempergunakan perangkat elektroforesis poliakrilamida sistem vertikal (Mini-Protean II, Bio-Rad). Gel pemisah dibuat dengan persen gel 7% dengan mencampur 1,8 ml stok IA, 2,5 ml stok IB; 0,625 ml stok IC, 1,25 ml stok ID dan akuabides 3,825 ml. Gel penggertak dibuat dengan persen gel 3% dengan mencampur 0,4 ml stok IIA, 1,25 ml stok IIB, 0,625 ml stok IIC dan 0,625 ml stok IID dan 2,1 ml akuabides.

Larutan gel pemisah diisikan di antara dua kepingan kaca yang dipasang pada alat elektroforesis sampai 3 cm dari batas atas, ditunggu padat kemudian diisi dengan gel penggertak. Setelah itu sisir dipasang di atas gel penggertak sebelum memadat. Setelah padat sisir diangkat dan meninggalkan berkas berupa sumur. Sampel plasma maupun hemolisat sebanyak 10  $\mu$ l dicampur dengan 5  $\mu$ l stok IV, dan sebanyak 3  $\mu$ l dari campuran ini dimasukkan ke dalam sumur.

Alat elektroforesis dihubungkan dengan arus listrik tegangan 100 volt, kuat

arus 10 mA, selama 12 menit.

Pewarnaan gel menggunakan stok VA untuk sampel plasma dan stok VB untuk hemolisat. Pewarnaan dilakukan selama 1 jam dengan digoyang. Setelah selesai gel dicuci dengan stok VI, selama 30 menit, dan diulang bila belum didapat gambaran pita yang jelas. Selanjutnya gel diawetkan di antara kertas kaca dan dilakukan pengambilan foto untuk dokumentasi.

Penentuan lokus protein didasarkan pada beberapa laporan dari penelitian-penelitian sebelumnya (Glasnak dan Stratil, 1979; Katsumata *et al.*, 1981; Tucker *et al.*, 1983; Wang *et al.*, 1990). Pembacaan alel untuk masing-masing lokus didasarkan pada kecepatan mobilitas relatif terhadap sampel yang dipakai sebagai pemarkerah. Alel yang paling dekat dengan anoda disebut alel A, dan berturut-turut B dan C ke arah katoda.

Frekuensi alel di dalam populasi dihitung dengan rumus menurut Warwick *et al.* (1994). Keseimbangan Hardy Weinberg diuji dengan mempergunakan Khi-kuadrat. Jarak genetik antar populasi (D) dihitung berdasar rumus Nei (1972).

$$D = \log_2 I \text{ dan } I = \frac{\sum X_{ij} Y_{ij}}{\sqrt{(\sum X_{ij}^2)(\sum Y_{ij}^2)}}$$

Pada rumus ini  $X_{ij}$  dan  $Y_{ij}$  berturut-turut adalah frekuensi alel ke i pada lokus j dari populasi X dan populasi Y.

### Hasil dan Pembahasan

Hasil elektroforesis dapat dilihat pada foto, gambar 1 dan 2 sebagai contoh. Gambar 1 menunjukkan hasil elektroforesis untuk plasma darah dan menunjukkan pita-pita post-transferin, transferin, post-albumin, dan

albumin, sedang pada Gambar 2 ditunjukkan gambar pita hemoglobin.

Frekuensi genotipe dihitung berdasar hasil elektroforesis lokus protein pada kelima bangsa kambing yang diamati dapat dilihat pada Tabel 1. Pada lokus post-transferin (P-tf) terdapat 2 alel, lokus transferin (Tf) 3 alel, lokus post-albumin (P-alb) 2 alel, lokus albumin (Alb) 3 alel, dan lokus hemoglobin (Hb) 3 alel.

Hasil perhitungan frekuensi alel pada masing-masing lokus untuk kelima populasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Frekuensi alel P-tfA pada populasi kambing Kacang lebih rendah dibanding dengan populasi kambing Peranakan Etawah dan kambing Lokal. Pada lokus transferin tampak TfC merupakan alel yang paling jarang dengan frekuensi berkisar antara 0,078 - 0,256. Hal yang sama dikemukakan oleh Pepin *et al.*, (1994), dan menemukan TfC hanya pada kambing Weast African. Frekuensi TfB tertinggi dijumpai pada populasi kambing Peranakan Etawah dari Girimulyo. Katsumata *et al.* (1981) juga mendapatkan frekuensi TfB yang tinggi pada kambing Peranakan Etawah dibanding dengan pada kambing Kacang. Shotake *et al.* (1976) melaporkan frekuensi TfB pada kambing Jamnapari sebesar 0,950, sebaliknya Wang *et al.* (1990) melaporkan frekuensi TfA lebih tinggi dari TfB pada kambing-kambing Angora, Alpine, Nubian, Saanen dan Spanish. Dengan tingginya frekuensi TfB ini, tampaknya kambing Peranakan Etawah dari Girimulyo memiliki kandungan darah Etawah yang lebih tinggi dibanding dengan kambing Peranakan Etawah dari Sumberejo. Frekuensi TfB untuk kambing Peranakan Etawah Girimulyo sebesar 0,597 dan untuk kambing Peranakan Etawah dari Sumberejo sebesar 0,266. Frekuensi ini mendekati hasil pengamatan Katsumata *et al.* (1981) untuk kambing Peranakan Etawah di Jawa Barat

Tabel 1. Frekuensi genotipe berdasar hasil elektroforesis lokus protein *post-transferin*, transferin, *post-albumin*, albumin dan hemoglobin

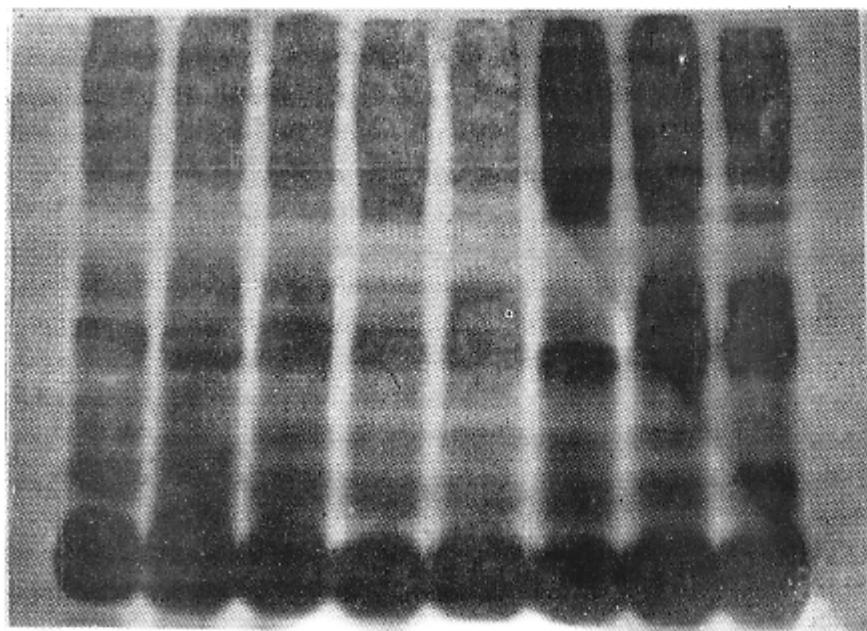
Bangsa		Peranakan Etawah		Kacang		L o k a l
Populasi	Sumber-rejo	Giri-mulyo	Sragen	Kodya Yogyakarta	Gunung-kidul	
Individu	35	31	32	39	29	
<b>Lokus Penotipe</b>						
P-tf	AA	16	18	7	20	14
	AB	-	-	-	-	-
	BB	19	13	25	19	15
Tf	AA	5	-	-	-	2
	AB	16	19	26	19	17
	AC	11	-	2	1	3
	BB	1	6	1	-	2
	BC	2	6	3	19	5
	CC	-	-	-	-	-
P-alb	AA	10	13	9	16	2
	BB	6	8	-	-	-
	AB	19	10	23	23	27
Alb	AA	-	-	-	-	-
	AB	12	1	2	-	5
	AC	22	23	19	18	14
	BB	1	1	1	-	5
	BC	-	6	10	21	5
	CC	-	-	-	-	-
Hb	AA	-	-	-	-	-
	AB	33	22	32	38	29
	AC	2	2	-	-	-
	BB	-	7	-	1	-
	BC	-	-	-	-	-
	CC	-	-	-	-	-

Tabel 2. Frekuensi alel pada lokus *Post-transferin*, *Transferin*, *Post-albumin*, *Albumin*, dan *Hemoglobin* pada lima populasi yang diamati

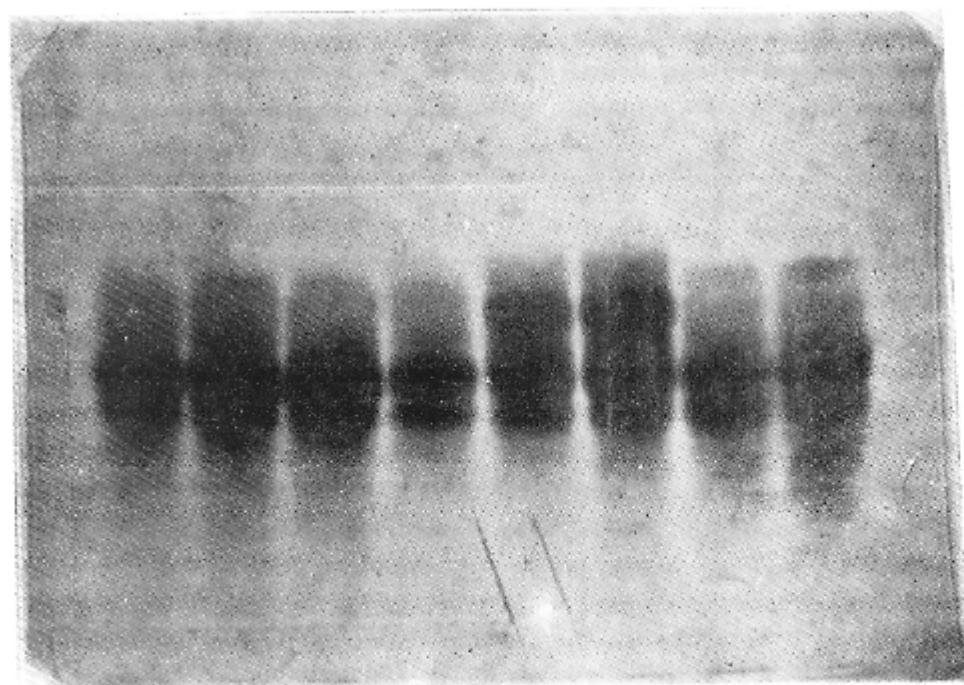
Populasi jumlah	Sumberejo (35)	Girimulyo (31)	Sragen (32)	Kodya Yogyakarta (39)	Gunung-kidul (29)
Lokus Alel					
P-tf	P-tfA 0,457	0,581	0,219	0,513	0,466
	P-tfB 0,543	0,419	0,781	0,487	0,534
Tf	TfA 0,528	0,306	0,438	0,256	0,396
	TfB 0,286	0,597	0,484	0,487	0,483
	TfC 0,186	0,097	0,078	0,256	0,121
P-alb	P-albA 0,557	0,581	0,641	0,705	0,534
	P-albB 0,443	0,419	0,359	0,295	0,466
Alb	AlbA 0,486	0,387	0,328	0,231	0,328
	AlbB 0,200	0,145	0,219	0,269	0,344
	AlbC 0,314	0,468	0,453	0,500	0,328
Hb	HbA 0,500	0,387	0,500	0,487	0,500
	HbB 0,471	0,581	0,500	0,513	0,500
	HbC 0,029	0,032	0,000	0,000	0,000

Tabel 3. Estimasi jarak genetik antar lima populasi kambing yang diamati

Populasi	Sumberejo	Girimulyo	Sragen	Kodya Yogyakarta	Gunung-kidul
Sumberejo	0,000	0,054	0,049	0,062	0,025
Girimulyo		0,000	0,070	0,029	0,030
Sragen			0,000	0,055	0,037
Kodya Yogyakarta				0,000	0,032
Gunungkidul					0,000



Gambar 1. Pita albumin (Alb), *post*-albumin (P-alb), transierin (Tf) dan *post*-transferin (P-tf).



Gambar 2. Pita hemoglobin (Hb).

yang berkisar antara 0,3520 - 0,700. Frekuensi alel-alel pada lokus post-albumin dan albumin pada kelima populasi tersebut tampak sebanding. Pada lokus hemoglobin (Hb), HbC merupakan alel yang paling jarang dan hanya dijumpai pada kambing Peranakan Etawah dengan frekuensi yang rendah. HbB pada kambing Peranakan Etawah menunjukkan frekuensi yang tinggi terutama untuk kambing Peranakan Etawah dari Girimulyo. Selvaraj *et al.* (1991) sebaliknya mendapatkan frekuensi alel B yang rendah (0,040 - 0,188) pada kambing-kambing asli Asia Tenggara. Apakah lokus Hb dengan frekuensi HbB yang tinggi serta terdapatnya alel spesifik yaitu HbC dapat dijadikan sebagai pembeda utama dalam menduga kandungan darah kambing Etawah. Hal ini memerlukan penelitian lebih luas dan lebih lanjut.

Hasil uji keseimbangan Hardy-Weinberg menunjukkan bahwa untuk semua lokus yang diuji tidak terdapat keseimbangan Hardy-Weinberg kecuali untuk lokus P-alb pada kambing Peranakan Etawah di Sumberejo, dan kambing Peranakan Etawah di Girimulyo. Ketidakseimbangan Hardy-Weinberg dimungkinkan karena penyimpangan dari sistem kawin acak, terjadinya migrasi dan mutasi, sedang kemungkinan akibat seleksi dapat dikesampingkan mengingat seleksi jarang dilakukan.

Jarak genetik yang dapat menggambarkan pertalian genetik antara populasi diestimasikan menurut Nei (1972) dan hasil yang didapat seperti pada Tabel 3.

Jarak genetik yang paling besar adalah antara populasi kambing Peranakan Etawah di Girimulyo dan kambing Kacang di Sragen dengan jarak genetik sebesar 0,070, hasil yang didapat lebih besar dari Katsumata *et al.* (1981) yang mendapatkan jarak genetik antara kambing Peranakan Etawah di P3T Ciawi dengan kambing Kacang di Ciangsa,

Kiaralawang dan pasar Padang sebesar 0,011 - 0,017. Akan tetapi jarak genetik antara kambing Peranakan Etawah dan kambing Kacang Sragen hanya sebesar 0,04, hal ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan darah kambing Kacang di Sumberejo cukup besar dibanding dengan di Girimulyo.

Jarak genetik terkecil adalah antara kambing Peranakan Etawah Sumberejo dan kambing Lokal Gunungkidul sebesar 0,025.

### Kesimpulan

Polimorfisme protein darah ditemukan pada lokus *post-transferin*, transferin, *post-albumin*, albumin dan hemoglobin pada lima populasi yang dipelajari. *Post-transferin* dan *post-albumin* dikontrol oleh dua alel sedang transferin, albumin dan hemoglobin oleh 3 alel.

TfC menunjukkan frekuensi paling rendah dan merupakan alel yang paling jarang, TfB menunjukkan frekuensi paling tinggi pada populasi kambing Peranakan Etawah. Lokus hemoglobin menunjukkan frekuensi HbB tertinggi pada populasi kambing Peranakan Etawah dan pada populasi ini dijumpai HbC yang tidak terdapat pada populasi kambing Kacang dan kambing Lokal. Apakah HbC dapat merupakan pembeda bagi kambing Peranakan Etawah, hal ini masih memerlukan penelitian lebih luas dan lebih lanjut.

Jarak genetik paling kecil adalah antara kambing Peranakan Etawah Sumberejo dan kambing Lokal Gunungkidul, sedang yang terbesar adalah antara kambing Peranakan Etawah Girimulyo dan kambing Kacang Sragen. Dengan demikian ditunjukkan bahwa di antara populasi yang dipelajari kambing Peranakan Etawah Girimulyo dan kambing

Kacang Sragen menunjukkan pertalian genetik yang jauh dengan kesamaan genetik yang kecil.

### Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan banyak terima kasih kepada Lembaga Penelitian UGM atas pembiayaan penelitian ini dengan Dana DRK Universitas Gadjah Mada 1996/1997.

### Daftar Pustaka

- Braend, M. and E.M. Tucker. 1988. Hemoglobin types in Saanen goats and Barbary sheep. Genetic and comparative aspects. *Biochemical Genetics* 26:511-518.
- Glasnak, V. and A. Stratil. 1979. An unusual transferin variant in sheep. *Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet.* 10:115-120.
- Katsumata, M., T. Amano, S. Suzuki, K. Nozawa, H. Martojo, I.K. Abdulgani and H. Nadjib. 1981. Morphological characters and blood protein gene constitution of Indonesian goats. In: The origin and phylogeny of Indonesian native livestock. Part II. The Research Group of Overseas Scientific Survey. Tokyo, Japan.
- Kharel, M. 1991. Phenotypic and genotypic variations in the Phillipine indigenous goat (*Capra hircus*). University of the Los Banos. A dissertation.
- Nei, M. 1972. Genetics distance between populations. *Am. naturalist* 106:283-292.
- Pépin, L. and T.C. Nguyen. 1994. Blood groups and protein polymorphisms in five goat breeds (*Capra hircus*). *Anim. Genetics*, 25:333-336.
- Selvaraj, S., T.K. Mukherjee, S.G. Tan and J.S.F. Barker. 1991. Genetic relationship among populations of Southeast Asian native goats. Proceeding of a Seminar Kuala Lumpur, Malaysia, 10-14 February, 1991.
- Shotake, T., S. Watanabe and T.I. Azmi. 1976. Morphological and genetical studies on the Malaysian native goats. *Rep. Soc. Res. Native Livestock*, 7:112-117.
- Tucker, E.M., S.S. Clarke, D.R. Osterhoff and J. Groenwald. 1983. An investigation of five genetic loci controlling polymorphic variants in the red cells of goats. *Anim. Blood Groups, and Biochem. Genet.* 14:269-277.
- Wang, S., W.C. Foote and T.D. Bunch. 1990. Transferin and haemoglobin polymorphism in domesticated goats in the USA. *Anim. Genetics*. 21:91-94.
- Warwick, E.J., J.M. Astuti dan W. Hardjosubroto. 1994. Pemuliaan Ternak. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Wongsosupantio, S. 1992. Elektroforesis Gel Protein. PAU Bioteknologi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.