



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI. DAN PENDIDIKAN TINGGI  
LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS NEGERI MAKASSAR**

## **SERTIFIKAT**

No.916/UN36.9/PL/2016

**Diberikan kepada**  
**Rosdiana Ngitung**  
**Sebagai**  
*Pemakalah*

**Pada Seminar Nasional Lembaga Penelitian Universitas Negeri Makassar  
Berthema "Mega Trend Inovasi dan Kreasi Hasil Penelitian dalam  
Menunjang Pembangunan Berkelanjutan, tanggal 2 Juni 2016  
Di Menara Pinisi Lantai 3 Universitas Negeri Makassar**



**Prof. Dr. H. Husain Syam, M.TP**  
Rektor UNM



**Prof. Dr. H. Hafri, M.Pd.**  
Ketua Lembaga Penelitian UNM



**Dr. Andi Agussalim AJ, M.Hum**  
Ketua Panitia Seminar Nasional

ISBN: 978-602-9075-25-7



# **PROSIDING** **SEMINAR NASIONAL**

MAKASSAR, 2 JUNI 2016

**MEGA TREND INOVASI DAN KREASI  
HASIL PENELITIAN DALAM  
MENUNJANG PEMBANGUNAN  
BERKELANJUTAN**

PROSIDING SEMINAR NASIONAL

## KARAKTERISTIK GENETIKA KAMBING MARICA SULAWESI SELATAN

**Rosdiana Ngitung**

Fakultas MIPA, Universitas Negeri Makassar  
Jl. Daeng Tata Raya, Kampus UNM Parangtambung, Makassar  
Email: rosdiyana.ngitung@yahoo.com.

**Abstrak. Karakteristik Genetika Kambing Marica Sulawesi Selatan.** Kambing Marica adalah suatu jenis kambing lokal endemik yang hanya dijumpai di Propinsi Sulawesi Selatan. Jenis kambing ini merupakan salah satu genotipe kambing asli Indonesia yang menurut laporan FAO sudah termasuk kategori langka dan hampir punah (*endangered*). Upaya domestikasi oleh masyarakat lokal telah dilakukan dengan cara memeliharanya bersama kambing kacang sehingga perkawinan silang tak terhindarkan. Upaya pelestarian kambing marica menjadi sangat mendesak untuk segera dilakukan, namun sebelumnya perlu dilakukan identifikasi akurat mengenai jenis ini. Identifikasi berdasarkan analisis DNA adalah salah satu metode yang dapat memberikan informasi tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kekerabatan kambing marica dan kambing kacang serta menganalisa perbedaan diantara keduanya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil sekuen runtutan basa-basa nukleotida hampir sama untuk semua jenis kambing marica dan kambing kacang disetiap daerah sama dengan nukleotida *Capra hircus* (AF533441). Perbedaan basa nukleotida terjadi pada rentang 18 pb. Perbedaan nukleotida juga terjadi pada sekuen dengan rentang basa ke 807 pb pada jenis kambing marica MK\_3 dan S3. Sementara itu, Jenis nukleotida *Capra hircus* adalah *guanin* dan *tanin* sedangkan pada jenis kambing marica jenis nukleotida adalah *adenin* dan *citusin*

**Kata kunci:** Kambing marica, kambing kacang, analisis DNA

Salah satu komoditas kekayaan plasma nutfah nasional di sub sektor peternakan adalah ternak kambing. Kambing menyebar di berbagai daerah dengan iklim yang berbeda dan terpisah dalam jangka waktu yang lama. Faktor lingkungan dan perlakuan seleksi yang sangat bervariasi mengakibatkan laju perubahan genetik yang sangat beragam (Rout *et al.* 2008).

Kambing Marica adalah suatu jenis kambing lokal endemik yang hanya dijumpai di Propinsi Sulawesi Selatan. Jenis kambing ini merupakan salah satu genotipe kambing asli Indonesia yang menurut laporan FAO sudah termasuk kategori langka dan hampir punah (*endangered*). Kambing Marica mempunyai potensi genetik yang mampu beradaptasi baik di daerah agro-ekosistem lahan kering, yaitu daerah dengan curah hujan tahunan yang sangat rendah. Kambing Marica dapat bertahan hidup pada musim kemarau walau hanya memakan rumput-rumput kering di daerah tanah berbatu-batu.

Daerah populasi kambing Marica dijumpai di Kabupaten Maros, Kabupaten Jeneponto, Kabupaten Soppeng dan daerah kisan Kota Makassar di Propinsi Sulawesi Selatan (Fitra, dkk., 2009).

Kecenderungan masyarakat memelihara kambing lokal dari berbagai jenis dalam kelompok yang sama menyebabkan terjadinya perkawinan silang. Demikian halnya pada pemeliharaan kambing marica yang biasanya dipelihara bersama dengan kambing kacang, sehingga perkawinan silang antara kedua jenis tersebut tidak dapat dihindari. Di sisi lain, upaya pelestarian kambing kacang harus segera dilakukan mengingat jumlah populasinya yang semakin menurun. Oleh karena itu perlu dilakukan suatu analisis untuk mengetahui karakter genetik kambing marica sehingga jenis ini dapat dibedakan dari kambing kacang dan mempermudah upaya pelestariannya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kekerabatan kambing Marica dan kambing Kacang sehingga karakteristik khusus kambing Marica dapat diketahui secara akurat.

## METODE PENELITIAN

Pengamatan sifat genetik yang dilakukan untuk menganalisis hubungan kekerabatan kambing Marica dengan kambing Kacang dilakukan dengan menggunakan metode analisis DNA dengan teknik PCR sesuai dengan prosedur Yadav dan Yadav (2008).

Adapun prosedur yang dilakukan adalah sebagai berikut:

### a. Pengambilan Sampel

10 mL darah dari vena jugular diambil dari masing-masing kambing marica jantan dan betina serta kambing Kacang jantan dan betina yang ditemukan. Pengambilan darah dilakukan secara aseptik dan ditempatkan dalam tabung gelas vakum yang berisi antikoagulan ACD (acid citrate dextrose). Sampel disimpan dalam kotak pendingin dan dibawa ke laboratorium untuk analisis selanjutnya.

### b. Isolasi DNA Total

Preparasi contoh darah mengikuti metode Sambrook *et al.* (1989). Darah sebanyak 50-100 ml ditambah 1X volume larutan lisis {0,32M Sucrose, 1% (V/V) Triton X-100, 5 mM MgCl<sub>2</sub> dan 10 mM Tris-HCl, pH 7,4}. Organel sel dalam larutan diendapkan dengan sentrifugasi 6500 rpm selama 1 menit. Endapan ditambah dengan 1X volume larutan pencuci (75 mM NaCl, 50 mM EDTA, pH 8,0), darah selanjutnya ditambah dengan *digestion buffer* (larutan STES + 0,5 mg/ml Proteinase K), kemudian diinkubasi pada penangas air suhu 55°C selama ± 16 jam atau semalam.

Purifikasi DNA Total mengikuti Sambrook *et al.* (1989). Suspensi setelah diambil dari penangas air ditambah fenol 1x volume, dicampur rata kemudian disentrifugasi 13.000 rpm selama 3 menit. Fase atas yang mengandung DNA dipindah ke tabung baru, kemudian ditambah kloroform:isoamil-alkohol (24:1, CIAA) dan dicampur rata. Fase atas dipisahkan dengan sentrifugasi 13.000 rpm selama 3 menit. Cairan bagian atas dipindahkan ke tabung baru, ditambah etanol absolut 2x volume. Gumpalan DNA diendapkan dengan sentrifugasi 13.000 rpm selama 5 menit. Endapan DNA dicuci

menggunakan alkohol 70% 1x volume dengan sentrifugasi 13.000 rpm selama 3 menit. DNA yang diperoleh dikeringkan di suhu ruang. DNA dilarutkan dalam larutan TE (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8,0), kemudian diinkubasi pada penangas air suhu 37°C selama 15 menit. Sampel DNA disimpan pada suhu -20°C. DNA dilihat kualitasnya dengan dimigrasikan pada gel agarosa 1,2% dengan menggunakan buffer 1xTBE (89 mM Tris, 89 mM asam borat dan 2 mM EDTA, pH 8,0) dalam piranti *Submarine Electrophoresis* (Hoefer, USA). Pengamatan dilakukan dengan bantuan sinar UV ( $\lambda = 300$  nm) setelah gel diwarnai dengan ethidium bromide (0,5 mg/ml).

### c. Amplifikasi PCR

DNA total hasil ekstraksi dipergunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi. Primer-primer yang dipergunakan dalam penelitian ini didisain untuk mengamplifikasi daerah D-loop (Tabel 1). Primer untuk D-loop didisain berdasarkan data urutan *Capra hircus* (Kode akses Gen Bank: GU295658.1). Program primer 3 output ([http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3.cgi/results\\_from-primer3](http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3.cgi/results_from-primer3)) digunakan untuk menyeleksi primer-primer mana saja yang diestimasi memberikan kemungkinan hasil yang baik.

Tabel 1. Urutan basa dan *melting temperature* primer untuk amplifikasi daerah D-loop kambing-kambing yang diteliti

PRIMER					
Target	Nama	R/F	Urutan Basa	Jumlah Basa	Melting Temperature (°C)
D-loop	CHF	F	5' CTCACATTAA ACCTGAGTG G 3'	20	59,0
D-loop	CHR	R	5' ATGCAGTTA AGTCCAGTT AC 3'	20	60,7

Komposisi 50 ml campuran pereaksi PCR terdiri dari 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM DNTPs, 100-300 ng DNA cetakan, 10 pmol masing-masing primer dan 2 U *Taq polimerase* dengan peserta bufernya.

Amplifikasi PCR pada penelitian ini menggunakan mesin PCR *Ampligen*. Amplifikasi PCR D-loop dilakukan dengan kondisi

sebagai berikut: Denaturasi awal selama 2 menit pada suhu 94°C selanjutnya diikuti dengan 94°C selama 30 detik untuk denaturasi, 55°C selama 45 detik untuk penempelan primer (*annealing*), 72°C selama 1,5 menit untuk pemanjangan (*elongation*) sebanyak 35 siklus kemudian diakhiri dengan penambahan pemanjangan (*extension*) selama 5 menit pada 72°C

berikut: Denaturasi awal selama 2 menit pada suhu 94°C selanjutnya diikuti dengan 94°C selama 30 detik untuk denaturasi, 55°C selama 45 detik untuk penempelan primer (*annealing*), 72°C selama 1,5 menit untuk pemanjangan (*elongation*) sebanyak 35 siklus kemudian diakhiri dengan penambahan pemanjangan (*extension*) selama 5 menit pada 72°C.

Produk PCR dideteksi dengan cara dimigrasikan pada gel agarosa 1.2% dengan menggunakan buffer 1xTBE dalam piranti *Submarine Electrophoresis* (Hofer, USA). Pengamatan dilakukan dengan bantuan sinar UV ( $\lambda = 300\text{nm}$ ) setelah gel diwarnai dengan ethidium bromide. Penanda DNA dengan ukuran 100 pb dipergunakan sebagai penunjuk berat molekul.

#### d. Pengurutan Nukleotida

Produk PCR hasil amplifikasi dimurnikan dengan menggunakan *GFX Column purification kit* (Amersham, USA), selanjutnya dipergunakan sebagai DNA cetakan untuk reaksi Pengurutan nukleotida.

Urutan nukleotida daerah D-loop diperoleh dengan menggunakan alat pengurut DNA otomatis *ABI Prism* versi 3.4.1 (USA). Reaksi untuk pengurutan D-loop menggunakan larutan pereaksi *Thermo Sequenase Cy5 Dye Terminator Cycle Sequencing Kit*. Kondisi untuk reaksi pengurutan adalah sebagai berikut: denaturasi awal selama 2 menit pada suhu 94°C selanjutnya diikuti dengan 94°C selama 30 detik, 55°C selama 45 detik, 72°C selama 1,5 menit sebanyak 35 siklus kemudian diakhiri dengan penambahan (*extension*) selama 5 menit pada 72°C.

Produk reaksi pengurutan dipurifikasi menggunakan kolom autoseq G-50, kemudian DNA dikonsentrasikan dengan penambahan alkohol absolut yang dilanjutkan pencucian menggunakan alkohol 70%. Endapan kemudian dikeringkan di udara terbuka. Setelah kering, ditambahkan ke dalamnya 6  $\mu\text{l}$  *stop solution*. Larutan diinkubasi pada 72°C selama 5 menit dan kemudian dimasukkan ke dalam es. Urutan nukleotida diperoleh dengan menggunakan alat pengurut DNA otomatis *ABI prism* pada kondisi 1500 V, arus listrik 60mA, daya 25 W, temperatur 55°C, selama 700 menit.

#### e. Analisis Data

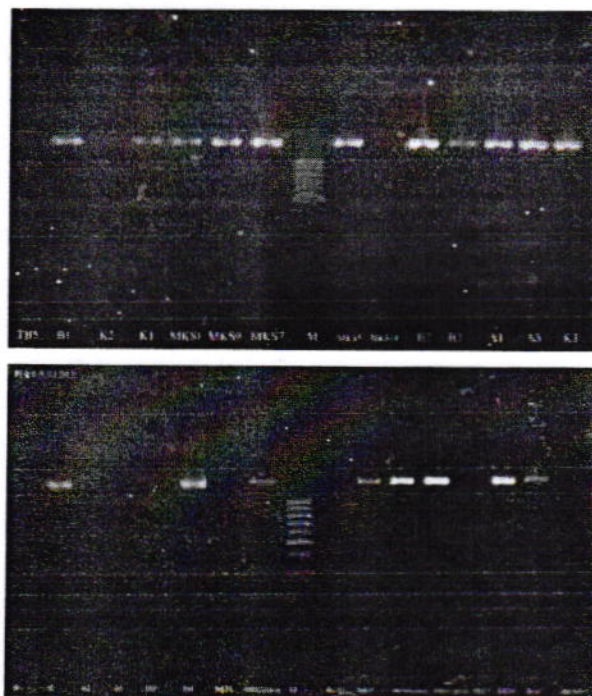
Penjajaran berganda urutan nukleotida daerah D-loop dianalisis dengan bantuan perangkat lunak Clustal W (Thompson *et al.* 1994). Sebagai spesies pembanding digunakan *Capra hircus* (Kode akses

GenBank: GU295658.1), *Capra hircus* breed Inner Mongolia White (Kode akses Gen Bank: GU068049.1), *Capra falconeri* (Kode akses GenBank: FJ207525.1), *Capra caucasica* (Kode akses GenBank: JN632609.1),

Analisis filogeni menggunakan perangkat lunak MEGA versi 5.1 (Kumar *et al.* 2001) dengan metode *bootstrapped Neighbor-Joining* dengan 1000 kali pengulangan

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil DNA mitokondria (mtDNA) telah dapat diekstraksi dengan baik dari sel darah putih 10 ekor kambing Marica Makasar yang terdiri dari lima jantan (MKS1, MKS2, MKS3, MKS4, MKS5) dan lima betina (MKS6, MKS7, MKS8, MKS9, MKS10), tiga kambing kacang (Kacang1, Kacang2, Kacang3), 4 kambing marica Bantaeng (BTG1, BTG2, BTG3, BTG4), 3 kambing marica kecil (K1, K2, K3), 3 kambing marica sedang (S1, S2, S3), 3 kambing marica besar (B1, B2, B3), 2 kambing marica tompobuli (TB5, TB6) dan dua kambing marica Jenoponto (JNPinduk, JNPanak). Seluruh D-loop mtDNA kambing yang diuji tersebut dapat diamplifikasi dengan PCR menggunakan primer CAP-F (5'-CGTGTATGCAAGTACATTAC-3') dan primer CAP-R (5'-CTGATTAGTCATTAGTCCATC-3'). Panjang produk PCR yang diamplifikasi adalah sekitar 1376 bp. Hasil elektroforesis produk amplifikasi PCR dapat di lihat pada Gambar 1.





Gambar 3.1. Hasil Amplifikasi mt DNA dari Kambing Marica dan Kambing Kacang (Marker = 1000 pb)

Berdasarkan gambar 3.1 hasil isolasi 38 sampel DNA kambing resisten (R) menunjukkan larik DNA yang tidak terlihat jelas dengan ukuran 1376 pb. Meskipun masih terlihat beberapa DNA yang smear pada sampel DNA resisten seperti TB5, MKS10, B1 dll. DNA smear disebabkan karena DNA terdegradasi atau terpotong-potong.

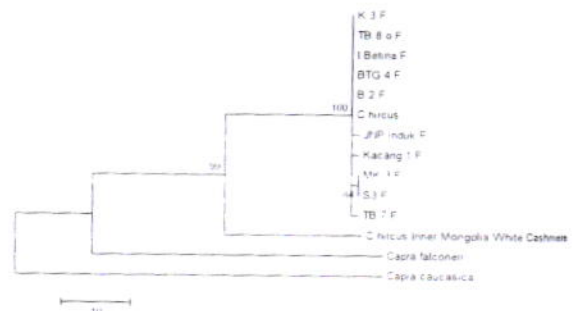
DNA Kambing dari ke 40 sampel yang di isolasi terdapat hanya beberapa sampel saja yang menghasilkan larik DNA cukup jelas dengan ukuran DNA kambing yaitu 1376 pb. Beberapa sampel DNA kambing yang tidak menghasilkan larik DNA, hal tersebut disebabkan oleh konsentrasi DNA yang dihasilkan dari proses isolasi sangat sedikit, sehingga pada saat proses devisuaisasi dengan gel agorasa tidak terlihat adanya larik DNA.

Produk PCR di sekuen maka dihasilkan mtDNA D-loop kambing marica dan kacang sepanjang 1376 pb. Dari hasil sekuen runtutan basa-basa nukleotida hampir semua jenis kambing marica dan kacang disetiap daerah sama dengan nukleotida *Capras Hircus* (AF533441). Perbedaan basa nukliotida terjadi pada rentang 18 pb dimana nukleotida *Capras Hircus* adenin, sedangkan pada nukleotida JNP\_Induk Citusin. Pada rentang 20 pb tidak terjadi perbedaan yang menonjol pada jenis kambing marica maupun kacang pada dasar nukleotida *Capras Hircus*. Adapun hasil sekuen polimorfisme nukleotida daerah D-loop DNA mitokondria pada jenis kambing pada rentang 20pb

Perbedaan nukleotida juga terjadi pada sekuen dengan rentang basa ke 807 pb pada jenis kambing marica MK\_3 an S3. Jenis nukleotida *Capras Hircus* adalah Guanin sedangkan pada jenis kambing marica MK\_3 dan S3 jenis Nukleotida adalah Adenin. Hasil nukleotida berbeda juga terjadi pada rentangan basa ke 922 pb pada jenis kambing kacang , dimana nukleotida *Capras Hircus* adalah Timin sedangkan nukleotida kambing marica TB\_7 Citusin. Pada rentangan basa 923 sampai 979 pb tidak terdapat perbedaan nukleotida yang meyimpang dari nukleotida *Capra Hircus*. Penyimpangan terjadi pada rentangan basa ke 980 dimana nukleotida *Capras Hircus* adalah Adenin sedangkan nukleotida kambing

kacang Guanin. Sehingga dapat dikatakan jenis kambing marica dengan kambing kacang tidak memiliki keragaman nukleotida yang menonjol berdasarkan acuan nukleotida *Capras Hircus* pada umumnya. Adapun gambaran hasil sekuen polimorfisme nukleotida daerah D-loop DNA mitokondria yang mengalami penyimpangan nukleotida *Capra Hircus*

Berdasarkan pada tabel matrik perbedaan nuklietoda dapat dilihat tidak terdapat perbedaan nukltida yang beragam. Sehingga dapat diasumsikan jarak genietika kambing marica dengan kambing kacang *Capras Hircus* hampir 99% tidak terdapat jarak perbedaan yang melonjak jauh. Begitu pula perbandingan jarak genitika kambing kacang dengan *Capras Hircus* hampir 99% tidak memiliki rentangan jarak genitika yang begitu jauh sekitar (0.000). Dari hasil pengamatan juga didapat rentangan jarak genitika antara kambing marica dan kambing kacang sebesar 100% tidak memiliki jarak perbedaan. Hal tersebut dilihat dari sekuen Polomorfisme nukleotida yang tidak terdapat keragaman yang berbeda. Dapat dilihat dendogram pohon Neighbor Joining (bootstrap 1000 ulangan) sebagai berikut:



Gambar 2. Dendogram Pohon Neighbor Joining (bootstrap 1000 ulangan)

Jika mutasi substitusi ditemukan pada kambing marica dan kambing Kacang dengan kondisi lokasi baru yang berbeda , dimana perubahan susunan basa nukleotida terjadi dalam bentuk substitusi sebagai akibat proses adaptasi terhadap kondisi lingkungan yang sumber pakannya terbatas dan diduga akibat adanya seleksi yang berhubungan dengan tujuan produksi yang diinginkan oleh peternak. Perubahan mutasi nukleotida pada kambing Marica diduga disebabkan proses adaptasi dengan kondisi iklim yang berbeda dan ketersediaan bahan pakan terutama pada saat musim kemarau yang rata-rata di atas 6-7 bulan per tahun membuat ketersediaan rumput sangat terbatas. Pada musim peralihan dan akhir musim kemarau umumnya rumput yang tersedia sangat kering diakibatkan musim kemarau yang berkepanjangan seperti pada umumnya di beberapa daerah Indonesia Bagian Timur, sehingga ketersediaan rumput sangat terbatas. Kemungkinan dalam jangka waktu yang

lama k  
dengan  
mutasi  
kambing  
lebih k  
Kacang

SIMPU

1. Has  
han  
dise  
Hir.  
terji  
jug  
807
2. Jeni  
tani  
nuk

lama kambing Marica mengalami proses adaptasi dengan kondisi setempat, maka terjadilah proses mutasi substitusi nukleotida yang secara fenotip kambing Marica mempunyai performans tubuh yang lebih kecil jika dibandingkan dengan kambing Kacang

## SIMPULAN

1. Hasil sekuen runtutan basa-basa nukleotida hampir semua jenis kambing marica dan kacang disetiap daerah sama dengan nukleotida *Capra Hircus* (AF533441). Perbedaan basa nukliotida terjadi pada rentang 18 pb. Perbedaan nukleotida juga terjadi pada sekuen dengan rentang basa ke 807 pb pada jenis kambing marica MK\_3 dan S3.
2. Jenis nukleotida *Capra Hircus* adalah *guanin* dan *tanin* sedangkan pada jenis kambing marica jenis nukleotida adalah *adenin* dan *citusin*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Fitra Aji Pamungkas, A. Batubara, M. Doloksaribu dan E. Sihite. 2009. *Potensi Beberapa Plasma Nutfah Kambing Lokal Indonesia*. Juknis. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian.
- Rout PK, Joshi MB, Mandal A, Laloe D, Singh L, Tangaraj K. 2008. Microsatellit based phylogeni of Indonesian domestic goats. *Bio Medic Cent Genet* 9:1-11
- Yadav and B R Yadav (2008). *DNA fingerprint: Genetic relationship in six Indian goat breeds*, Indian Journal of Biotechnology vol 7 oktober 2008, pp 487-490