

**ANALISIS GENETIKA MOLEKULER  
SAPI MADURA**

**Tety Hartatik, S.Pt., Ph.D.**

**GADJAH MADA UNIVERSITY PRESS**

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
<b>BAB I</b> <b>PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Pentingnya Sumber Bacaan untuk Pembelajaran Berbasis Riset.....	1
B. Pemanfaatan Studi Referensi.....	3
C. Peran Kegiatan Penelitian di Lapangan.....	4
D. Manfaat Analisis Genetika Molekuler.....	5
<b>BAB II</b> <b>SEJARAH SAPI MADURA DAN PERKEMBANGANNYA</b> .....	6
A. Sapi Madura.....	6
B. Sapi Sonok.....	7
C. Sapi Karapan sebagai Tradisi Masyarakat Madura .	8
D. Sapi Limura.....	8
E. Perkembangan Sapi Madura.....	10
F. Karakteristik Eksterior Sapi Madura dan Sapi Perilangan Limousin × Madura Berdasarkan Sifat Kualitatif.....	10
G. Karakteristik Eksterior Sapi Madura Berdasarkan Sifat Kuantitatif.....	18
H. Penetapan Rumpun Sapi Madura.....	20
<b>BAB III</b> <b>TEORI DASAR GENETIKA MOLEKULER</b> .....	22
A. <i>Deoxyribonucleic Acid</i> (DNA).....	22
B. Kromosom.....	23
C. Gen.....	24

BAB IV	PENGAMBILAN SAMPEL DNA .....	26
	A. Pengambilan Sampel Darah pada Sapi .....	27
	B. Pengambilan Sampel Jaringan Telinga .....	27
	C. Pengambilan Sampel Rambut .....	27
	D. Pengambilan Sampel Feses .....	28
	E. Pengambilan Sampel Hati .....	28
BAB V	BERBAGAI CARA ISOLASI DNA.....	29
	A. Isolasi DNA dari Sampel Darah .....	30
	B. Isolasi DNA dari Sampel Jaringan Telinga .....	34
	C. Isolasi DNA dari Sampel Rambut .....	36
	D. Isolasi DNA dari Feses .....	39
BAB VI	ELEKTROFORESIS .....	41
	A. Elektroforesis Horizontal.....	42
	B. Metode Elektroforesis Vertikal .....	44
BAB VII	DESAIN PRIMER MENGGUNAKAN <i>SOFTWARE</i> PRIMER3.....	47
BAB VIII	<i>POLYMERASE CHAIN REACTION</i> (PCR) .....	50
	A. Teori <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	50
	B. Pelaksanaan Analisis PCR di Laboratorium Pemuliaan Ternak, Fakultas Peternakan UGM.....	52
BAB IX	<i>RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLY-</i> <i>MORPHISM</i> (RFLP).....	54
	A. Teori Analisis <i>Restriction Fragement Length</i> <i>Polymorphism</i> .....	54
	B. Pelaksanaan Analisis RFLP di Laboratorium Pemuliaan Ternak, Fakultas Peternakan UGM.....	56
BAB X	SEKUENSING.....	58
	A. Metode Maxam-Gillbert .....	58
	B. Metode Sanger .....	58
	C. Metode Sekuensing <i>Dye Terminator</i> .....	59
BAB XI	<i>MARKER</i> MIKROSATELIT .....	68
	A. Penggunaan Mikrosatelit .....	68
	B. Analisis Mikrosatelit .....	71
BAB XII	ANALISIS SEKUEN SECARA <i>ONLINE</i> DENGAN PROGRAM CLUSTALW.....	73

BAB XIII	PENGGUNAAN PROGRAM BIOEDIT .....	77
	A. Penentuan Lokasi Pemotongan Enzim Restriksi .....	77
	B. Cara Penyejajaran Sekuen .....	81
BAB XIV	ANALISIS DNA MITOKONQ1DRIA D-LOOP PADA SAPI MADURA .....	85
	A. Pengantar .....	85
	B. Analisis mtDNA <i>D-Loop</i> pada Sapi Madura .....	88
BAB XV	ANALISIS DNA MITOKONDRIA <i>CYTOCHROME B</i> PADA SAPI MADURA .....	93
	A. Pengantar .....	93
	B. Analisis mtDNA <i>Cytochrome B</i> pada Sapi Madura. ....	95
	C. Penentuan Haplotipe pada Sapi Madura.....	97
	D. Hubungan Kekerbatan Sapi Madura dengan Sapi yang lain .....	98
BAB XVI	ANALISIS GEN <i>GROWTH HORMONE</i> (GH) PADA SAPI MADURA .....	102
	A. Pengantar .....	102
	B. Analisis Gen <i>Growth Hormone</i> (GH) pada Sapi Madura.....	104
BAB XVII	ANALISIS GEN MELANOCORTIN 1 RESEPTOR (MC1R) PADA SAPI MADURA.....	112
	A. Pengantar .....	112
	B. <i>Restriction Mapping</i> Gen MC1R pada Sapi .....	113
	C. Polimorfisme Gen <i>Melanocortin-1</i> Reseptor (MC1R) pada Sapi Madura.....	114
	D. Perhitungan Genotip dan Alel.....	115
	E. <i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (SNP) pada Sekuens Gen MC1R .....	116
	F. Perubahan asam amino .....	120
BAB XVIII	ANALISIS GEN <i>SRY (SEX-DETERMINING REGION Y)</i> PADA SAPI MADURA.....	122
	A. Pengantar .....	122
	B. Analisis Gen <i>Sex-Determining Region Y</i> (SRY) pada Sapi Madura .....	123
	C. Jarak Genetik .....	127

BAB XIX	ANALISIS MIKROSATELIT SAPI MADURA.....	130
	A. Pengantar .....	130
	B. Analisis Perhitungan Genotip dan Alel .....	130
	C. Analisis Keragaman Genetik pada Sapi Madura Berdasarkan <i>Marker</i> Mikrosatelit.....	132
LAMPIRAN.....		135
GLOSARIUM.....		145
INDEKS .....		151

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Karakteristik eksterior sapi sonok pada beberapa umur ...	15
Tabel 2.2	Perbandingan karakteristik eksterior sapi Sonok dan sapi Madura pada kelompok induk .....	17
Tabel 2.2.	Perbandingan karakteristik eksterior sapi Sonok dan sapi Madura pada kelompok induk (lanjutan).....	18
Tabel 2.3	Hasil penelitian ukuran tubuh sapi Madura pada berbagai lokasi dan umur .....	19
Tabel 6.1	Bahan yang digunakan untuk pembuatan gel 12% akrilamid .....	45
Tabel 9.1	Beberapa tipe enzim restriksi .....	55
Tabel 10.1	Larutan A, C, G dan T mix untuk 10 sampel .....	63
Tabel 11.1	Beberapa primer mikrosatelit, sekuen, ukuran, dan temperatur <i>annealing</i> .....	69
Tabel 14.1	Beberapa enzim yang dapat memotong gen D-Loop sapi Madura.....	91
Tabel 15.1	Beberapa enzim yang dapat memotong gen <i>cytochrome b</i>	97
Tabel 16.1	Frekuensi alel L/V pada gen GH beberapa bangsa sapi....	103
Tabel 16.1	Beberapa enzim yang dapat memotong sekuens DNA gen <i>Growth Hormone</i> (GH) 211 bp .....	106
Tabel 17.1	Enzim restriksi dan posisi pemotongannya pada gen MC1R.....	113
Tabel 17.2	Frekuensi genotipe dan alel gen MC1R.....	116
Tabel 18.1	Berbagai primer yang digunakan dalam penelitian analisis gen SRY oleh Cheng <i>et al.</i> (2001).....	125
Tabel 18.2	Fragmen pemotongan dengan menggunakan enzim restriksi <i>PstI</i> dan <i>BfaI</i> .....	127
Tabel 19.1	Analisis statistik populasi sapi Madura berdasarkan <i>marker</i> mikrosatelit.....	132
Tabel 19.2	Tabel jarak genetik ternak berdasarkan lokasi menggunakan metode dalam Nei (1983) .....	134

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Komunitas pembelajaran berbasis riset .....	1
Gambar 1.2	Hasil isolasi DNA dari sampel darah.....	2
Gambar 1.3	Diskusi interaktif melalui media <i>e-learning</i> .....	2
Gambar 1.4	Arsip diskusi studi referensi yang diambil dari <i>Journal of Animal Science</i> .....	3
Gambar 1.5	Arsip <i>slide</i> presentasi dengan tema “Analisis Genetika Molekuler” .....	4
Gambar 1.6	Pengukuran sapi Madura .....	5
Gambar 2.1	Sapi Madura.....	6
Gambar 2.2	Sapi Sonok di Kontes Sonok tahun 2011, Pamekasan ..	7
Gambar 2.3	Sapi hasil persilangan antara sapi Limousin × Madura (Limura) .....	9
Gambar 2.4	Warna tubuh sapi Madura dan sapi Limousin × Madura	11
Gambar 2.5	Warna hidung sapi Madura dan sapi Limousin × Madura.....	12
Gambar 2.6	Warna sekitar mata sapi Madura .....	12
Gambar 2.7	Tanduk sapi Madura .....	13
Gambar 2.8	Punuk sapi Madura dan sapi Limousin × Madura .....	13
Gambar 2.9	Warna sekitar mulut pada sapi Madura .....	14
Gambar 3.1	Struktur DNA ( <i>Stewart, 2011</i> ).....	23
Gambar 3.2	Sel, kromosom, dan DNA ( <i>Anonimus, 2011<sup>b</sup></i> ) .....	24
Gambar 7.1	<i>Input sequence file</i> .....	47
Gambar 7.2	Penentuan ukuran produk PCR yang diinginkan.....	48
Gambar 7.3	Hasil desain primer menggunakan Primer3.....	49
Gambar 8.1	Ilustrasi bahan yang digunakan untuk sebuah reaksi PCR ( <i>Robbins, 2012</i> ).....	50
Gambar 8.2	Skema proses PCR .....	51
Gambar 9.1	Posisi pemotongan gen <i>Growth Hormone</i> dengan enzim <i>AluI</i> .....	54
Gambar 9.2	Hasil pemotongan gen <i>Growth Hormone</i> dengan enzim <i>AluI</i> .....	55
Gambar 10.1	Perbandingan urutan sekuen dengan dua metode (sekuensing radioaktif dan fluoresens).....	60

Gambar 11.1	<i>Genotype Plot marker</i> mikrosatelit INRA035.....	70
Gambar 11.2	Genotip heterosigot (atas) dan genotip homosigot (bawah) dengan <i>marker</i> mikrosatelit INRA063 .....	71
Gambar 12.1	Halaman depan ClustalW2 .....	73
Gambar 12.2	<i>Input sequence</i> .....	75
Gambar 12.3	Hasil <i>alignment</i> dengan program ClustalW2.....	76
Gambar 13.1	<i>Import sequence alignment file</i> . (a) <i>Import sequence</i> . (b) Pemilihan <i>sequence</i> . (c) Hasil <i>import sequence</i> .....	78
Gambar 13.2	Pemilihan program <i>Restriction Map</i> .....	79
Gambar 13.3	Pemilihan enzim restriksi .....	80
Gambar 13.4	Hasil analisis <i>Restriction Map</i> .....	81
Gambar 13.5	Tampilan BioEdit sebelum file dimasukkan ke dalam program. (a) Pemilihan menu. (b) Halaman depan BioEdit ( <i>blank file</i> ) .....	82
Gambar 13.6	Ujung sekuens yang perlu direvisi.....	83
Gambar 13.7	Revisi urutan <i>nucleotide</i> SP14 SRYF dibandingkan hasil sekuens SP14 SRYR .....	84
Gambar 14.1	Ilustrasi DNA mitokondria (modifikasi dari Xing <i>et al.</i> , 2007).....	86
Gambar 14.2	Empat daerah utama pada mtDNA ( <i>Genebase Tutorials</i> , 2014 <sup>a</sup> ).....	87
Gambar 14.3	Daerah D-Loop pada mtDNA ( <i>Genebase Tutorials</i> , 2014).....	88
Gambar 14.4	Target gen mtDNA D-Loop (617 bp) .....	89
Gambar 14.6	<i>Phylogenetic tree</i> sekuens mtDNA D-Loop pada sapi ...	91
Gambar 15.1	Struktur protein <i>cytochrome b</i> ( <i>Espoti et al.</i> , 1993) .....	94
Gambar 15.2	Letak primer gen <i>cytochrome b</i> .....	95
Gambar 15.3	Beberapa enzim yang dapat memotong gen <i>cytochrome b</i> (464 bp).....	96
Gambar 15.4	Pola restriksi gen <i>Cyt b</i> pada sapi Madura ( <i>Hartatik et al.</i> , 2013).....	98
Gambar 15.5	Analisis filogenetik sapi Madura dan sapi lokal lainnya	99
Gambar 16.1	Letak primer gen GH-327 dan GH-211 .....	105
Gambar 16.2	Beberapa enzim yang dapat memotong sekuens DNA gen GH 211 bp.....	106
Gambar 16.3	Hasil pemotongan gen <i>Growth Hormone</i> dengan enzim <i>AluI</i> . .....	107
Gambar 17.1	Variasi <i>Melanocortin-1 Receptor</i> (MC1R) yang berhubungan dengan perubahan warna tubuh pada mamalia dan burung .....	113



Gambar 17.2	Posisi pemotongan oleh enzim restriksi menggunakan BioEdit.....	114
Gambar 17.3	Visualisasi hasil pemotongan gen MC1R dengan enzim <i>MspI</i> pada sapi. ....	115
Gambar 17.4	Posisi mutasi gen MC1R pada sapi Madura dan Limura. (a) Homosigot pada sapi Madura (SP4). (b) Heterosigot dengan delesi (162DelG) pada sapi Madura (SP10) dan Limura (L1, LM6, LM14).....	117
Gambar 17.5	Posisi mutasi gen MC1R dengan transisi (148 C → T) pada sapi Madura dan Limura. (a) Individu heterosigot sapi Limura (LM6) dan (b) individu homosigot pada sapi Madura (SP4).....	118
Gambar 17.6	Posisi mutasi gen MC1R dengan substitusi (100T → A) pada sapi Madura, Limura dan Bali.....	119
Gambar 17.7	Ilustrasi perbandingan sekuens gen MC1R pada sapi Madura SP4 (Homosigot) dan SP10 (Heterosigot) .....	120
Gambar 17.8	Polimorfisme gen MC1R pada posis 147 bp (C →T) ....	120
Gambar 17.9	Perubahan asam amino .....	120
Gambar 18.1	Struktur kromosom Y ( <i>Seli and Sakkas, 2005</i> ).....	122
Gambar 18.2	Pohon evolusi berdasarkan identitas asam amino ( <i>Cheng et al., 2001</i> ).....	123
Gambar 18.3	Ukuran produk PCR 928 bp pada gen SRY ( <i>Hartatik et al., 2014</i> ).....	124
Gambar 18.4.	Produk PCR gen SRY pada sapi Madura (928 bp) yang divisualisasi dengan gel agarose dan sinar UV ( <i>Hartatik et al., 2013<sup>c</sup></i> ).....	125
Gambar 18.5	<i>Restriction mapping</i> gen SRY pada sapi Limousin × Madura menggunakan enzim <i>BfaI</i> dan <i>PstI</i> . ....	126
Gambar 18.6	Visualisasi produk digesti gen SRY dengan menggunakan enzim <i>PstI</i> .....	127
Gambar 18.7	Jarak genetik sapi lokal berdasarkan <i>Neighbour Network</i> .....	128
Gambar 18.8	Pohon filogenetik dengan menggunakan program ClustalW2 .....	128
Gambar 19.1	Hasil analisis mikrosatelit sapi Madura menggunakan marker MM12.....	131
Gambar 19.2	Jarak genetis sapi lokal Indonesia dan sapi Limousin ( <i>Bos taurus</i> ) .....	133

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Sekuens DNA <i>cytochrome b gene Bos javanicus</i> .....	135
Lampiran 2	Sekuens DNA mitokondria <i>bos indicus</i> .....	137