

**VARIASI GENETIK KAMBING BENGALA DI KABUPATEN  
MANGGARAI BARAT BERDASARKAN METODE  
RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA****Genetic Variation of Benggala Goats in West Manggarai Regency Based on  
Random Amplified Polymorphic DNA Method****Suhendra Pakpahan<sup>1,\*</sup>, Wayan Tunas Artama<sup>2</sup>, Rini Widayanti<sup>2</sup>, I Gede Suparta Budisatria<sup>3</sup>**<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta<sup>2</sup>Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta<sup>3</sup>Departemen Produksi Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta\*Email: [suhendrapakpahan@gmail.com](mailto:suhendrapakpahan@gmail.com)**ABSTRACT**

Indonesia has several types of local goats that have had an extended period of adaptation to the natural conditions in Indonesia. Goat is one of the most important germplasm in supporting the economy of rural communities. Benggala is a local breed of goat originating from Flores Island, East Nusa Tenggara province and has distinctive characteristics. The RAPD technique has several advantages and has been widely used in studies of the genetic diversity of goats. A total of 50 blood samples of Benggala goats were taken from four sub-districts in West Manggarai Regency. This study was conducted to estimate genetic variations of Benggala goats using OPA-6 and OPA-16 primers. The OPA-6 primer consisted of 0-11 bands, while the OPA-16 primer consisted of 0-7 bands. The total bands produced on the OPA-6 primer from all samples was 456, whilst OPA-16 primer was 314. The lowest genetic similarity between individuals of Benggala goats was 44% from the sample K46. Based on the sample population, the average genetic similarity level was 72%. These results show that the genetic diversity of Benggala goats is low.

**Keywords:** *Benggala goat, genetic similarity, genetic variation, RAPD, West Manggarai***ABSTRAK**

Indonesia memiliki beberapa jenis kambing lokal yang memiliki periode adaptasi yang panjang dengan kondisi alam di Indonesia. Kambing merupakan salah satu plasma nutfah yang sangat penting dalam mendukung perekonomian masyarakat pedesaan. Benggala adalah jenis kambing lokal yang berasal dari pulau Flores, propinsi Nusa Tenggara Timur dan kambing Benggala memiliki ciri khas. Teknik RAPD memiliki beberapa keunggulan dan telah banyak digunakan pada studi keragaman genetik kambing. Total 50 sampel darah kambing Benggala yang diambil dari empat kecamatan di Kabupaten Manggarai Barat. Penelitian ini dilakukan untuk menguji variasi genetik kambing Benggala dengan menggunakan primer OPA-6 dan OPA-16. Primer OPA-6 terdiri dari 0-11 band, sedangkan primer OPA-16 terdiri dari 0-7 band. Total jumlah pita yang dihasilkan pada primer OPA-6 dari semua sampel adalah 456, sementara primer OPA-16 adalah 314. Kemiripan genetik terendah antara individu-individu kambing Benggala adalah 44% dari sampel K46. Berdasarkan populasi sampel, tingkat kemiripan genetik rata-rata adalah 72%. Hasil ini menunjukkan bahwa keragaman genetik kambing Benggala tergolong rendah.

**Kata Kunci:** kambing Benggala, kemiripan genetik, Manggarai Barat, RAPD, variasi genetik

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan plasma nutfah yang sangat tinggi. Kambing merupakan salah satu ternak yang paling lama didomestikasi manusia. Indonesia memiliki beberapa jenis kambing lokal yang telah lama beradaptasi dengan keadaan alam di Indonesia. Beberapa daerah di Indonesia telah memiliki kambing spesifik, yang memiliki ciri khas sehingga dapat dibedakan dengan kambing dari daerah lain, seperti kambing Samosir, kambing Muara, kambing Kacang, kambing Peranakan Etawah, kambing Jawarandu, kambing Gembrong, kambing Kejobong, kambing Merica, kambing Lakor dan kambing Benggala (Pakpahan et al. 2016)

Kambing Benggala merupakan kambing spesifik pulau Flores, provinsi Nusa Tenggara Timur. Kambing Benggala diduga merupakan hasil persilangan kambing Black Benggala dengan kambing Kacang, sehingga kambing memiliki morfologi yang hampir sama dengan kambing Kacang (Pamungkas et al. 2009).

Penyebaran kambing di dunia sangat luas, sehingga kambing memiliki sekitar 81 bangsa yang sudah diidentifikasi dengan baik (Aziz 2010). Sumberdaya genetik ternak pada saat ini menghadapi tantangan ganda. Pada satu sisi, permintaan produk peternakan meningkat di negara berkembang, seperti diestimasi oleh *Food Agriculture Organization* (FAO), bahwa permintaan susu dan daging asal ternak meningkat dua kali lipat. Di sisi lain sumber daya genetik ternak sudah semakin terancam karena pengembangan peternakan yang tidak terarah (Ruane et al. 2006). Oleh karena faktor lingkungan dan perlakuan seleksi yang sangat bervariasi mengakibatkan laju perubahan genetik yang sangat beragam (Rout et al. 2008).

Teknik RAPD memiliki beberapa keunggulan dalam analisis polimorfisme (Kumari dan Thakur 2014) dan telah banyak digunakan dalam studi keragaman genetik kambing (Sabir et al. 2012; Sulaiman 2012; Kumari et al. 2013; El-tarras et al. 2015; Al-Barzinji et al. 2016). Metodenya sederhana, cepat dan murah, memiliki polimorfisme yang tinggi. Hanya memerlukan sejumlah kecil DNA untuk analisis, tidak membutuhkan hibridisasi molekuler dan yang paling penting tidak diperlukan

pengetahuan sebelumnya tentang susunan genetik dari organisme yang diteliti. Teknik ini didasarkan pada amplifikasi PCR daerah diskrit genom dengan primer oligonukleotida pendek dengan urutan acak (Nezhad et al. 2010). Di antara beberapa penanda molekuler yang tersedia, RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) adalah analisis molekuler yang cepat dan sederhana dengan biaya yang efisien untuk mengevaluasi keragaman genetik (Kumar dan Gurusubramanian 2011).

Sumberdaya genetik ternak sangat berharga untuk keberlangsungan makhluk hidup, sehingga perlu dilakukan konservasi. Pemeliharaan sumberdaya genetik sangat penting sekali untuk menjaga keragaman genetik sehingga organisme tersebut tetap dapat bertahan hidup (Pakpahan et al. 2015). Oleh karena itu, harus dilakukan karakterisasi setiap organisme yang ada. Sumberdaya ternak kambing di Indonesia saat ini terdiri dari tiga kelompok yakni: ternak asli, ternak impor, dan ternak yang telah beradaptasi lama (Batubara et al. 2013). Kambing Benggala termasuk kelompok ternak yang telah beradaptasi lama dengan alam Indonesia dan telah mengalami persilangan dengan kambing lokal. Ternak kambing Indonesia terdiri dari beberapa bangsa yang memiliki keragaman fenotipe yang berbeda-beda (Batubara 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi genetik kambing Benggala di Kabupaten Manggarai Barat.

## BAHAN DAN METODE

### Koleksi sampel

Penelitian ini menggunakan sampel darah dari 50 individu kambing Benggala (Gambar 1) yang diperoleh dari Kabupaten Manggarai Barat Provinsi Nusa Tenggara Timur Indonesia (terletak di antara 080 14' – 090 00' Lintang Selatan dan 1190 21' – 1200 20' Bujur Timur) dengan ketinggian tempat 0 s/d 500 m dpl. Penentuan sampel kambing dengan metode *purposive sampling*. Total sampel diambil dari empat kecamatan (Tabel 1).

### Isolasi DNA

DNA genom diisolasi dari sel darah setiap sampel kambing Benggala dan dipurifikasi menggunakan Genomic DNA

Mini KIT (*Geneaid*). Primer yang digunakan adalah primer universal yang didesain oleh Operon Technologies Inc., yaitu OPA-6: GGTCCTGAC, OPA-16: AGCCAGCGAA. Primer ini telah digunakan pada beberapa penelitian untuk menguji keragaman genetik kambing dan berbagai organisme (Mudawamah et al. 2014; Al-Otaibi dan Fahmi 2011; Kumar et al. 2008). Amplifikasi gen inti, masing-masing menggunakan primer yang telah didesain untuk daerah target. Primer ini dapat menghasilkan fragmen DNA lebih dari tiga jenis pita yang berbeda. Kedua primer tersebut diproduksi oleh *Geneaid Biotech Ltd.* New Taipei City, 22180 Taiwan, digunakan untuk mengamplifikasi target dalam identifikasi polimorfisme.

Komposisi reaksi PCR dengan volume 50 µL sebagai berikut: sampel DNA 3 µL, KAPA readyMix 25 µL, primer *forward* dan *reverse* masing-masing 1 µL, ddH<sub>2</sub>O 20 µL. Kondisi PCR sebagai berikut: denaturasi awal selama 5 menit pada suhu 95°C selanjutnya diikuti dengan

**Tabel 1.** Lokasi pengambilan sampel

Sampel	Lokasi
K1 – K20	Kec. Komodo
K21 – K30	Kec. Boleng
K30 – K40	Kec. Lembor
K41 – K50	Kec. Lembor Selatan

denaturasi 95°C selama 1 menit, 35 dan 38°C selama 1 menit untuk penempelan primer (*annealing*), 72°C selama 1 menit untuk pemanjangan (*elongation*), proses amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus, kemudian diakhiri dengan (*final elongation*) pada suhu 72°C selama 8 menit. Produk PCR divisualisasikan dengan menggunakan gel agarose 1,5% (5 µL produk PCR ditambah 2 µL *loading dye*). Elektroforesis dijalankan pada kondisi 100 mV selama 40 menit dan hasil amplifikasi dilihat di atas cahaya UV.

**Analisis data**

Produk amplifikasi dianalisis berdasarkan pita yang muncul pada gel



**Gambar 1.** Morfologi kambing Benggala

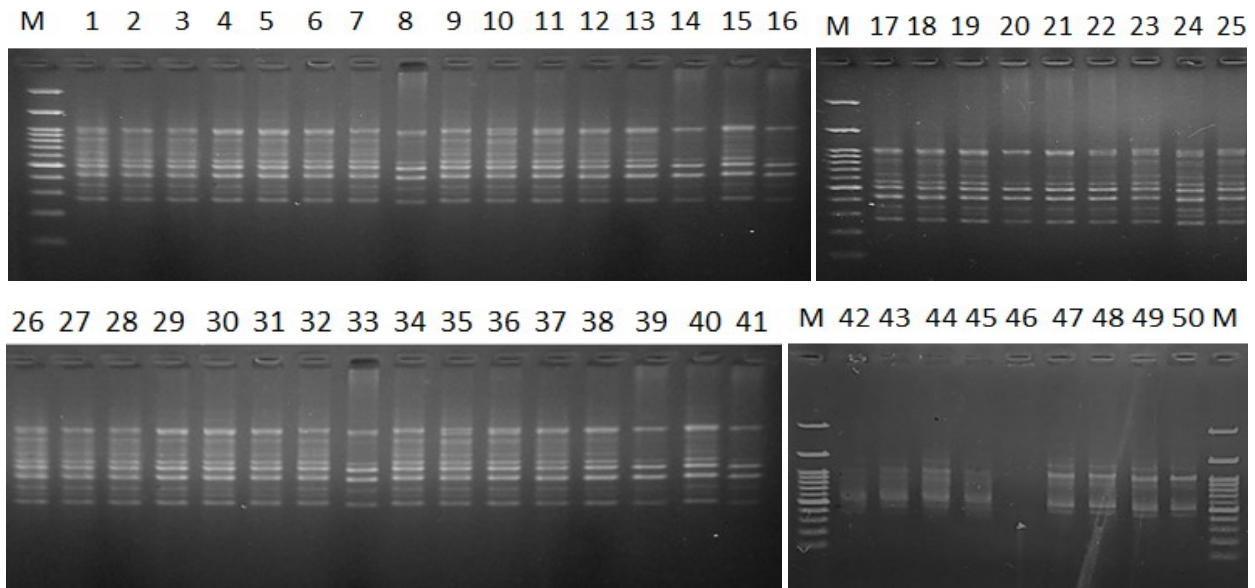


agarose dengan metode *scoring* untuk mengetahui hubungan kekerabatan atau perbedaan setiap individu. Hasil *scoring* dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak NTSYSpc 2.02 (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*), pada program ini dilakukan *clustering* SAHN dengan metode UPGMA (*unweighted pair group method with arithmetic average*) untuk mendapatkan pohon filogenetik dari total sampel kambing Benggala (Rohlf 2000). Hanya pita yang berbeda dan tampak jelas yang diberi skor untuk estimasi berbagai variabel. Kehadiran dan

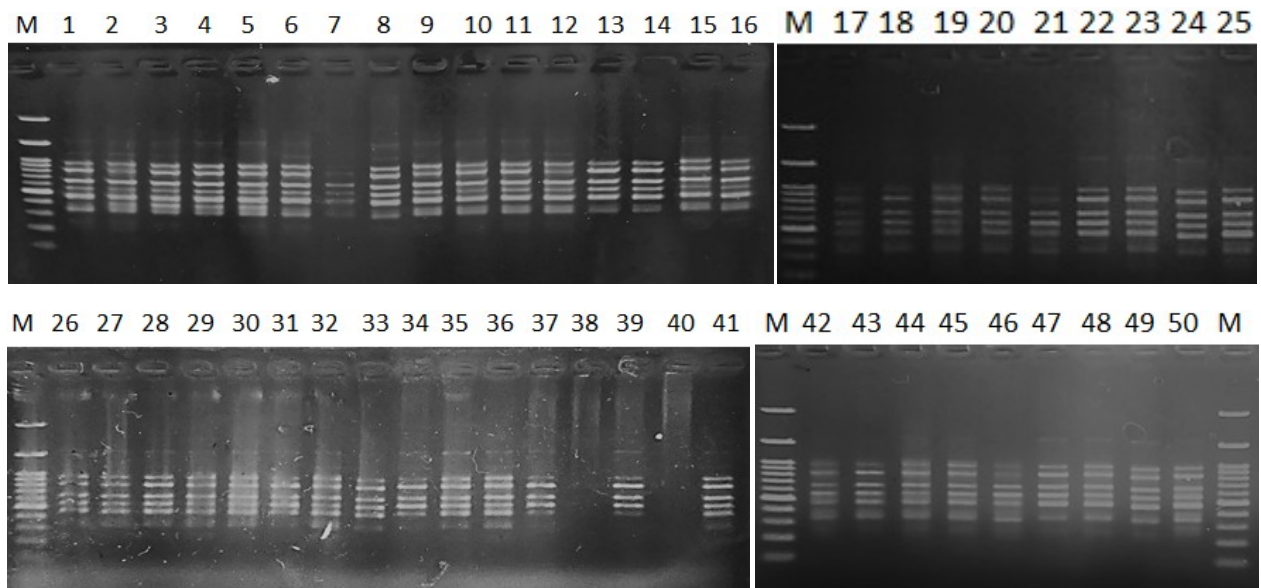
tidak adanya pita, masing-masing diberi skor 1 dan 0. Variasi genetika antara individu dapat diketahui dengan perbedaan setiap jalur pita yang muncul. Jarak genetik digunakan untuk analisis kluster dengan menggunakan metode UPGMA.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil amplifikasi menunjukkan bahwa kedua primer tersebut menghasilkan polimorfisme yang dapat digunakan untuk mengetahui variasi genetik kambing Benggala. Amplifikasi DNA target dengan



**Gambar 2.** Elektroforesis gel Agarose dari produk amplifikasi sesuai dengan target primer OPA-6. M adalah marker DNA 100 bp



**Gambar 3.** Elektroforesis gel Agarose dari produk amplifikasi sesuai dengan target primer OPA-16. M adalah marker DNA 100 bp

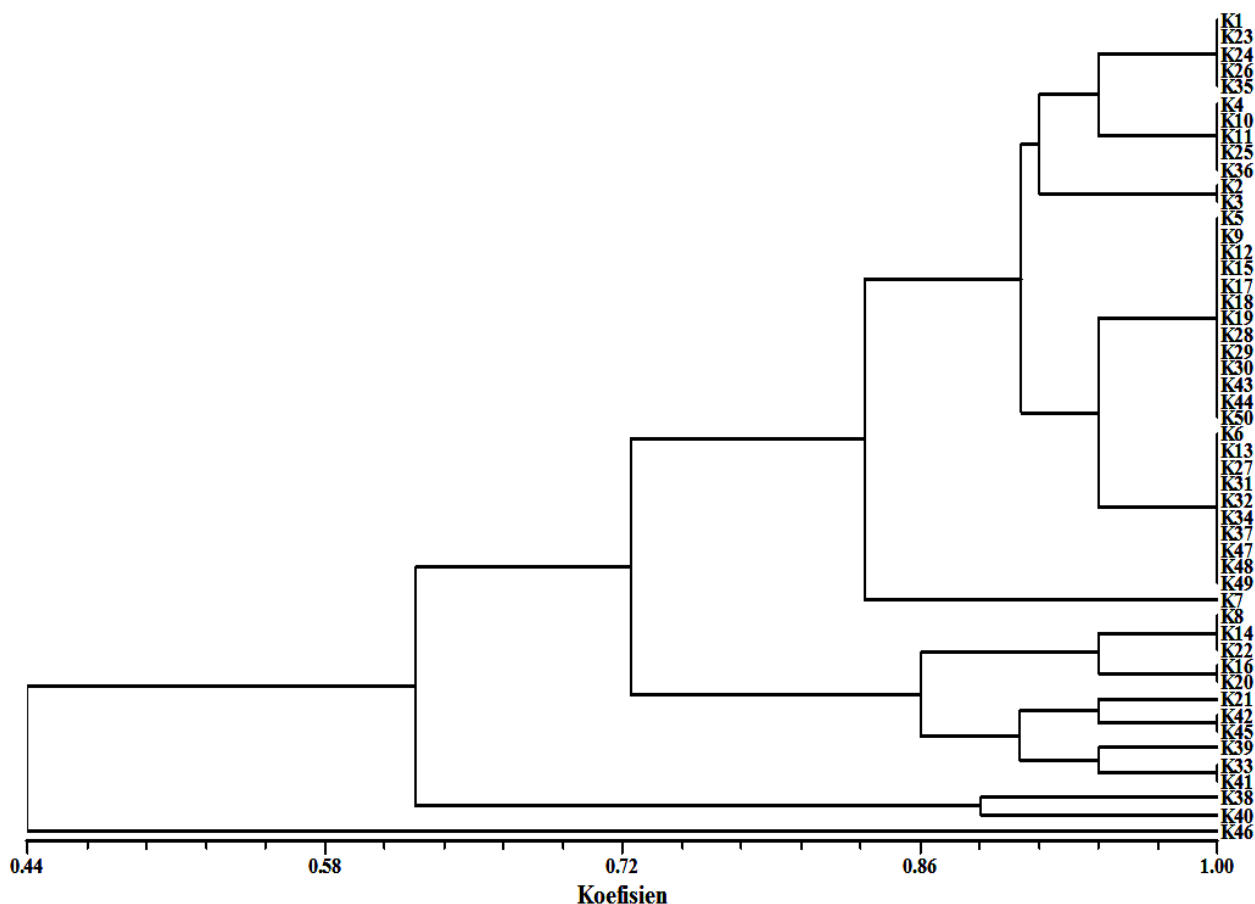
menggunakan primer OPA-6 menghasilkan produk PCR yang terdiri dari 0-11 pita, sedangkan primer OPA-16 terdiri dari 0-7 pita. DNA ladder atau marker yang digunakan adalah marker 100 bp. Panjang setiap pita dapat diketahui berdasarkan posisi setiap pita marker. Total sampel adalah 50 individu, ada satu sampel yang tidak menghasilkan pita pada primer OPA-6, dan dua sampel pada primer OPA-16.

Total pita yang dihasilkan pada primer OPA-6 dari seluruh sampel adalah 456 pita sedangkan pada primer OPA-16 adalah 314 pita. Primer OPA-6 (Gambar 2) menunjukkan variasi pita yang muncul sangat rendah sehingga dapat disimpulkan bahwa keragaman genetiknya rendah. Primer OPA-16 (Gambar 3) menunjukkan variasi pita yang muncul cukup tinggi, hal ini menunjukkan keragaman genetik yang cukup tinggi.

### Variasi genetik

Gambar 4 menunjukkan nilai jarak genetik atau hubungan kekerabatan antar 50

individu kambing Benggala. Kemiripan genetik antar individu kambing Benggala adalah 44%, sehingga tingkat perbedaan perbedaan genetik adalah 56%. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat keragaman genetik kambing Benggala berdasarkan marker OPA-6 dan OPA-16, masih berada pada level sedang yaitu tidak tinggi atau tidak terlalu rendah. Jika dilihat dari nilai kemiripan genetik antar kambing Benggala, maka perlu dilakukan seleksi untuk meningkatkan keragaman genetik kambing Benggala. Berdasarkan pengamatan di lapangan, bahwa kambing Benggala masih dipelihara secara tradisional oleh masyarakat setempat. Kambing Benggala jantan biasanya langsung dijual peternak setelah dewasa, tetapi salah satu pejantan pilihan peternak tetap dipelihara sebagai pejantan induk-induk kambing. Hal ini diperkirakan yang membuat keragaman genetik kambing Benggala semakin rendah karena terjadinya perkawinan saudara di dalam kelompok secara terus-menerus. Rashidi et al. (2015) melaporkan bahwa



**Gambar 4.** Pohon filogenetik yang menunjukkan hubungan kekerabatan antara 50 individu kambing Benggala dengan program NTSYS 2.2. K1-K50 merupakan sampel kambing Benggala

variabilitas genetik kambing Markhoz (kambing lokal Iran) menurun, terutama disebabkan karena kontribusi yang tidak seimbang dan penggunaan berlebihan dari beberapa ternak. Oleh karena itu, pergantian pejantan secara berkala dengan mendatangkan pejantan dari luar harus dilakukan, supaya keragaman genetik kambing Bengkulu tetap terjaga.

Nilai kemiripan genetik 44% tersebut diperoleh karena adanya kambing K46, dimana kambing ini memiliki perbedaan genetik yang cukup tinggi dengan sampel kambing lainnya. Kemudian pada koefisien 0,63 (tingkat kemiripan genetik 63%) terjadi antara kambing K38, K40 dengan kambing lainnya (kecuali K46). Berdasarkan jumlah rata-rata dari total sampel, tingkat kemiripan genetiknya adalah 72%. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat keragaman genetik kambing Bengkulu tergolong rendah. Kumar et al. (2008) melakukan penelitian pada domba lokal India dengan menggunakan teknik RAPD dan dengan penanda genetik RAPD yang sama dengan penelitian ini, dilaporkan bahwa primer OPA-6 terdiri dari 11 pita, dan OPA-16 terdiri dari 9 pita. Profil pita yang dihasilkan primer OPA-6 adalah sama dengan penelitian ini, tetapi berbeda dengan pita yang dihasilkan OPA-16, bahwa pada penelitian ini lebih sedikit. Mudawamah et al. (2014) melaporkan kemiripan genetik kambing Peranakan Etawah (PE) di Indonesia dengan teknik RAPD, dan menggunakan penanda genetik yang sama dengan penelitian ini, diperoleh hasil kemiripan genetik 74%. Hasil ini menunjukkan bahwa keragaman genetik kambing Bengkulu dan kambing PE tergolong rendah didasarkan pada hasil analisis dengan penanda genetik RAPD tersebut. Sabir et al. (2012), juga meneliti empat bangsa kambing lokal di negara Arab Saudi dengan teknik RAPD dan diperoleh hasil kemiripan genetik 73,5%, tidak terlalu jauh berbeda dengan kemiripan genetik kambing Bengkulu pada penelitian ini. Salah satu jarak genetik terjauh adalah antara K46 dan K1. Ada beberapa klaster (kelompok) yang terbentuk pada pohon filogenetik, bahwa pada jarak tautan (*linkage distance*) 44% terbentuk dua kelompok yaitu antara K46 dan kambing lainnya, kemudian 62%, 72%, 83% sampai jarak tautan 95%. Adanya tetua terbaru (*most recent common*

*ancestor*) menyebabkan pembentukan beberapa klaster. Klaster ini tidak menunjukkan adanya korelasi dengan asal pengambilan sampel kambing, karena setiap sampel tersebar.

Studi ini mengungkapkan keragaman genetik kambing Bengkulu dan telah menunjukkan kegunaan pendekatan RAPD untuk mendeteksi polimorfisme DNA pada kambing. Dalam taksonomi dan sistematis molekuler, marker RAPD spesifik suatu spesies dapat menjadi alat yang sangat berharga untuk variasi spesies dan menetapkan status organisme serta evolusinya (Rao et al. 1996). Dengan demikian teknik untuk analisis variabilitas genetik merupakan bahan penting untuk program konservasi dan perbaikan rasional, karena harus didasarkan pada kombinasi data fenotipik dan genetik (Kumar et al. 2005).

## KESIMPULAN

Keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antara kambing Bengkulu yang ada di Provinsi Nusa Tenggara Timur dapat diperkirakan dengan menggunakan teknik RAPD. Estimasi kemiripan genetik antar individu dapat membantu dalam pemuliaan ternak, dan dapat menjadi alat yang berharga untuk seleksi pada plasma nutfah di masa depan. Hasil yang dijelaskan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa teknik RAPD cukup stabil dan menghasilkan banyak informasi polimorfik dari genom target. Teknik RAPD masih merupakan metode yang baik untuk mempelajari variasi genetik dengan *breed* dan jarak genetik antar *breed*. Data yang dilaporkan di sini akan memberikan wawasan dan referensi yang berharga tentang keragaman genetik kambing Bengkulu, yang dapat digunakan untuk meningkatkan strategi pemuliaan kambing Bengkulu.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia (Kemristek Dikti) melalui Program Hibah Penelitian PMDSU Tahun 2016 No.121/SP2H/LT/DRPMIII/2016 yang telah memberikan dukungan dana untuk melaksanakan penelitian ini. Penulis juga

mengucapkan terima kasih kepada seluruh peternak dan Dinas Peternakan Manggarai Barat (NTT) yang terlibat untuk pengambilan sampel penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Barzinji YMS, Oramari RA, Al-Sanjury RA (2016) Molecular characterization of Iraqi local goat breeds using random amplified polymorphic DNA Markers. *Iranian J Appl Anim Sci* 6:671-678
- Aziz MA (2010) Present status of the world goat populations and their productivity. *Lohmann Information* 45:42-52
- Batubara A (2011) Studi keragaman fenotipik dan genetik beberapa sub populasi kambing lokal Indonesia dan strategi pemanfaatannya secara berkelanjutan. Tesis, Institut Pertanian Bogor
- Batubara A, Noor RR, Farajallah A, Tiesnamurti B (2013) Keragaman genetik DNA Y-kromosom pada enam rumpun kambing lokal Indonesia. Pp 316-325. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, September 3-5, 2013. IAARD Press, Jakarta
- El-tarras AE, Shahaby AF, Banaja AE (2015) Assessment of genetic diversity in Saudi goats, Saudi Arabia using genetic finger printing. *Int J Curr Microbiol App Sci* 4:223-231
- Al-Otaibi SA, Fahmi AL (2011) Genetic variation in captive herd of Arabian Oryx using RAPD and ISSR markers. *Afr J Biotechnol* 10:5251-5262. doi: 10.5897/AJB10.1162
- Kumar D, Dixit SP, Sharma R, Pandey AK, Sirohi G, Patel AK, Aggarwal RAK, Verma NK, Gour DS, Ahlawat SPS (2005) Population structure, genetic variation and management of Marwari goats. *Small Ruminant Res* 59:41-48. doi: 0.1016/j.smallrumres.2004.11.013
- Kumar NS, Gurusubramanian G (2011) Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Sci Vis* 11:116-124
- Kumar S, Kolte AP, Yadav BR, Kumar S, Arora AL, Singh VK (2008) Genetic variability among sheep breeds by random amplified polymorphic DNA-PCR. *Indian J Biotechnol* 7:482-486
- Kumari N, Thakur SK (2014) Randomly amplified polymorphic DNA: A brief review. *Am J Anim Vet Sci* 9:6-13. doi: 10.3844/ajavsp.2014.6.13
- Kumari N, Singh LB, and Kumar S (2013) Molecular characterization of goats using random amplified polymorphic DNA. *Am J Anim Vet Sci* 8:45-49. doi: 10.3844/ajavsp.2013.45.49
- Mudawamah M, Retnaningtyas ID, Wajidi MF, Badriyah B, Susilowati S, Aulanni'am A, Ciptadi G (2014) Analisis kemiripan genetik antara kambing peranakan ettawa hasil kawin alam dengan inseminasi buatan berdasarkan RAPD. *J Kedokteran Hewan* 8:137-140. doi: 10.21157/j.ked.hewan.v8i2.2636
- Nezhad NM, Solouki M, Siasar B (2010) The comparison of long and short primers used for RAPD technique in grape. *Trakia J Sci* 8:38-41
- Pakpahan S, Artama WT, Widayanti R, Suparta IG (2015) Genetic variations and the origin of native Indonesian goat breeds based on mtDNA D-Loop sequences. *Asian J Anim Sci* 9:341-350. doi: 10.3923/ajas.2015.341.350
- Pakpahan S, Artama WT, Widayanti R, Suparta IG (2016) Genetic characteristics and relationship in different goat populations of Indonesia based on cytochrome B gene sequences. *Asian J Anim Sci* 10:29-38 doi: 10.3923/ajas.2016.29.38
- Pamungkas FA, Batubara A, Doloksaribu M, Sihite E (2009) *Petunjuk Teknis: Potensi plasma nutfah kambing lokal Indonesia*. Puslitbang Peternakan, Badan Litbang Pertanian, Departemen Pertanian
- Rao KA, Bhat KV, Totey SM (1996) Detection of species-specific genetic markers in farm animals through random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Genet Anal: Biomol Eng* 13:135-138
- Rashidi A, Mokhtari MS, Gutiérrez JP (2015) Pedigree analysis and inbreeding effects on early growth traits and greasy fleece weight in Markhoz goat. *Small Ruminant Res* 124:1-8. doi: 10.1016/j.smallrumres.2014.12.011
- Rohlf FJ (2000) NTSYS-pc: Numerical

- Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1. User Guide. Department of Ecology and Evolution State University of New York. ISBN: 0-925031-30-5
- Rout PK, Joshi MB, Mandal A, Laloë D, Singh L, Thangaraj K (2008) Microsatellite-based phylogeny of Indian domestic goats. *BMC genetics* 9:11. doi: 10.1186/1471-2156-9-11
- Ruane P, Lang J, DeJesus E, Berger DS, Dretler R, Rodriguez A, Shaefer MS (2006) Pilot study of once-daily simplification therapy with abacavir/lamivudine/zidovudine and efavirenz for treatment of HIV-1 infection. *HIV Clinical Trials* 7:229-236. doi: 10.1310/hct0705-229
- Sabir JS, Mutawakil MH, El-Hanafy AA, Ahmed MM (2012) Genetics similarity among four breeds of goat in Saudi Arabia detected by random amplified polymorphic DNA marker. *Afr J Biotechnol* 11:3958-3963. doi: 10.5897/AJB11.4120
- Sulaiman BK (2012) Evaluation of the genetic diversity in Iraqi local breeds of goat using random amplified polymorphic DNA markers. *Al-Anbar J Vet Sci* 5:179-186