

DIVERSITAS GENETIK DAN *HAPLOGROUP* KAMBING GEMBRONG BERSTATUS KRITIS DI KABUPATEN KARANGASEM, BALI

Genetic Diversity and Haplogroup of Endangered Gembrong Goat In Karangasem, Bali

M. Syamsul Arifin Zein^{1*}, Sri Sulandari¹, Jakaria², I Made Londra³, Suprio Guntoro³, dan Ida Bagus Gaga Partama⁴

¹Laboratorium Genetika Bidang Zoologi Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong

²Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor

³Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, Denpasar

⁴Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Denpasar

*Corresponding author: zein_genetic@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini untuk mengevaluasi keragaman genetik dan sejarah filogenetik dari kambing gembrong. Dalam penelitian ini digunakan 21 individu dari populasi kambing di Kabupaten Karangasem, Bali dengan status populasi kritis. Kajian keragaman genetik dan *phylogeography* pada tingkat molekuler secara maternal menggunakan segmen *hypervariable-I* daerah kontrol dari *deoxyribonucleic acid* (DNA) mitokondria. Penelitian ini menunjukkan variabilitas genetik homogen dan terdeteksi hanya satu situs yang berbeda, yaitu pirimidin substitusi C ↔ T (transisi). Pohon filogeni dari kambing gembrong menunjukkan bahwa hanya satu garis keturunan B1 (*subhaplogroup*) berdasarkan DNA mitokondria dengan frekuensi 100%. *Haplogroup B* telah diketahui didomestikasi dari kambing liar di Asia Barat, kemudian menuju Asia Selatan dan infiltrasi ke Asia Tenggara, termasuk kambing gembrong di Bali, Indonesia. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa diversitas genetik kambing gembrong dari populasi tersisa di Kabupaten Karangasem sangat rendah dan berasal dari garis keturunan/*haplogroup B1* dengan frekuensi 100%.

Kata kunci: kambing gembrong, keragaman, *haplogroup*

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the genetic diversity and phylogeny of Gembrong goat. For this purpose, 21 goats from endangered breed in Karangasem Bali were used. Molecular analysis of genetic diversity and phylogeography used hypervariable segment 1 of mitochondrial DNA control region. The result showed that genetic variability of Gembrong goat was homogeneous with only one different sites, namely the substitution pyrimidines of C ↔ T (transitional). Phylogeny analysis results showed maternal origin of Gembrong goat is lineage (*subhaplogroup*) B1 with frequency of 100%. *Haplogroup B* were known has been domesticated from wild goat in western Asia, then headed to south Asia and infiltrated to southeast Asia, including Gembrong goat in Bali, Indonesia. As a conclusion, genetic diversity of Gembrong goat from remaining population in Karangasem very low and originate from lineages/*haplogroup B1* with a frequency of 100%.

Key words: Gembrong goat, diversity, *haplogroup*

PENDAHULUAN

Kambing (*Capra hircus*) merupakan salah satu ungulata pertama yang dilakukan domestikasi. Bukti arkeologi jejak kambing domestikasi diketahui sekitar 10.000 tahun yang lalu di dataran tinggi Asia barat (Zeder dan Hesse, 2000), dan diyakini kambing liar *Capra aegagrus* sebagai leluhur kambing domestikasi. Konfirmasi dilakukan berdasarkan studi genetik berdasarkan urutan *deoxyribonucleic acid* (DNA) mitokondria (Takada *et al.* 1997) dan DNA inti yaitu gen *Y-chromosome* (Pidancier *et al.*, 2006). Hasil domestikasi kemudian menyebar ke berbagai tempat dan beradaptasi dengan lingkungan setempat, sehingga menghasilkan berbagai rumpun. Saat ini, berdasarkan deskripsi morfologi telah berkembang lebih dari 300 rumpun kambing yang tersebar di seluruh dunia melalui migrasi manusia dan perdagangan (Porter, 1996) di daerah tropika, dingin, padang pasir, dan dataran tinggi, serta memberi peran penting sebagai penghasil daging, susu, dan kulit dalam kehidupan manusia.

Kajian *phylogeography* dengan teknik DNA molekuler menggunakan data urutan fragmen *hypervariable-I* (HVI) daerah kontrol dari DNA

mitokondria telah memberi gambaran terhadap proses domestikasi kambing yang terjadi di masa lalu. Klarifikasi kajian ini selaras dengan temuan arkeologi terhadap daerah asal domestikasi kambing, diketahui terdapat tiga garis keturunan utama yang sesuai dengan jejak fosil yang telah diketahui, yaitu garis keturunan (*haplogroup*) A, B, dan C (Luikart *et al.*, 2001), kemudian penelitian lebih lanjut diketahui terdapat 6 *haplogroup*, yaitu A, B, C, D, F, dan G. Frekuensi *haplogroup A* paling dominan lebih dari 90,86% dari populasi yang dianalisis dan distribusi luas ke berbagai belahan dunia, *haplogroup B* (5,92%) daerah sebaran utamanya di Asia Timur dan Asia Tenggara, dan *haplogroup C* (1,44%) distribusi utamanya di Eropa. *Haplogroup* dengan frekuensi yang relatif rendah yaitu *haplogroup D* (0,54%) dengan distribusi di selatan dan sentral Asia, *haplogroup F* (0,12%) diidentifikasi di Sisilia, dan *haplogroup G* (1,11%) berada di Asia Barat (Naderi *et al.*, 2007).

Sejarah pemanfaatan satwa di Indonesia mengikuti proses domestikasi beberapa spesies mamalia yang bermula di Eurasia, sekitar perbatasan Eropa bagian tenggara dan Asia Barat, sekitar 10.000-15.000 tahun yang lalu. Saat itu diketahui, sebagai masa transisi kebiasaan berburu yang dilakukan manusia, ke arah

kegiatan manipulasi tingkah laku hewan menuju proses domestikasi. Hasil domestikasi kemudian berkembang dan menyebar ke berbagai belahan dunia dan beradaptasi dengan lingkungan setempat, serta membentuk berbagai rumpun ternak.

Kambing gembong merupakan salah satu rumpun kambing Indonesia (FAO, 2000), memiliki karakteristik morfologi khas dan telah berkembang serta beradaptasi lama di Kabupaten Karangasem, Propinsi Bali. Asal mula kambing ini tidak diketahui secara pasti dan saat ini diketahui berstatus kritis berdasarkan parameter yang ditetapkan *Board on Agriculture National Research Council* (1993). Pada awal tahun 2013, diketahui populasi terakhir kambing gembong hanya 20 ekor yang ditangkar di Desa Tumbu, Kecamatan Karangasem, Kabupaten Karangasem, Bali. Pada awal tahun 2015, melalui program Insinas Ristek diketahui telah berkembang menjadi lebih dari 40 ekor.

Obyektif dari penelitian ini melakukan investigasi terhadap fragmen *hypervariable I* (HVI) D-loop DNA mitokondria dari kambing gembong yang berstatus kritis di Kabupaten Karangasem, Bali. Hasil penelitian dengan dasar pengamatan *haplogroup* DNA mitokondria dengan garis keturunan secara maternal, diharapkan dapat mengetahui keragaman genetik dan distribusi aliran gen yang terjadi pada kambing gembong, seperti telah digunakan dalam menelusur jejak domestikasi kambing di berbagai belahan dunia.

MATERI DAN METODE

Sampel darah diambil dari penangkaran kambing gembong di Desa Tumbu dan Desa Bukbuk, Kecamatan Karangasem, Kabupaten Karangasem, Propinsi Bali. Jumlah material DNA dari darah berasal dari semua populasi kambing gembong yang ada dalam penangkaran. Sampel darah diawetkan dengan menggunakan *ethanol absolut* (*pure grade*).

Analisis D-loop DNA mitokondria

Identifikasi keragaman genetik fragmen HVI D-loop DNA mitokondria melalui metode pengurutan. Kegiatan laboratorium yang dilakukan meliputi: isolasi DNA dengan metode fenol-kloroform dan analisis *polymerase chain reaction* (PCR) dengan primer CAP-F (5'-CGTGTATGCAAGTACATTAC-3') dan CAP-R (5'-CTGATTAGT CATTAGTCCATC-3'). Larutan PCR sebanyak 30 µl yang terdiri atas 6 µl bufer 5x (KAPA), 0,6 µl dNTP (10 mM), 4 µl MgCl₂ (25 mM), 1 µl primer CA-F (10 pmol), 1 µl primer CAP-R (10 pmol), 1 unit Taq polimerase (KAPA), 1 µl sampel DNA, dan 16,2 µl H₂O. Kondisi PCR adalah predetanurasi 94° C selama 5 menit, kemudian denaturasi 94° C selama 45 detik, *annealing* 56° C selama 45 detik, dan elongasi pada temperatur 72° C selama 45 detik dengan siklus 40x, dilanjutkan dengan *post* elongasi selama 2 menit. Pengurutan dilakukan menggunakan *BigDye* Terminator version 3.1 Circle Sequencing kit* (Applied Biosystem, USA) dengan

mesin *ABI 3730 XL automated capillary DNA sequencer* (Applied Biosystems, USA). Analisis filogenetik menggunakan metode *neighbor-joining*, kalkulasi matriks jarak genetik dengan model Kimura-2 parameter yang diimplementasikan pada *pairwise distance calculation* dalam program *molecular evolutionary genetics analysis* (MEGA) versi 6.05 (Tamura *et al.*, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

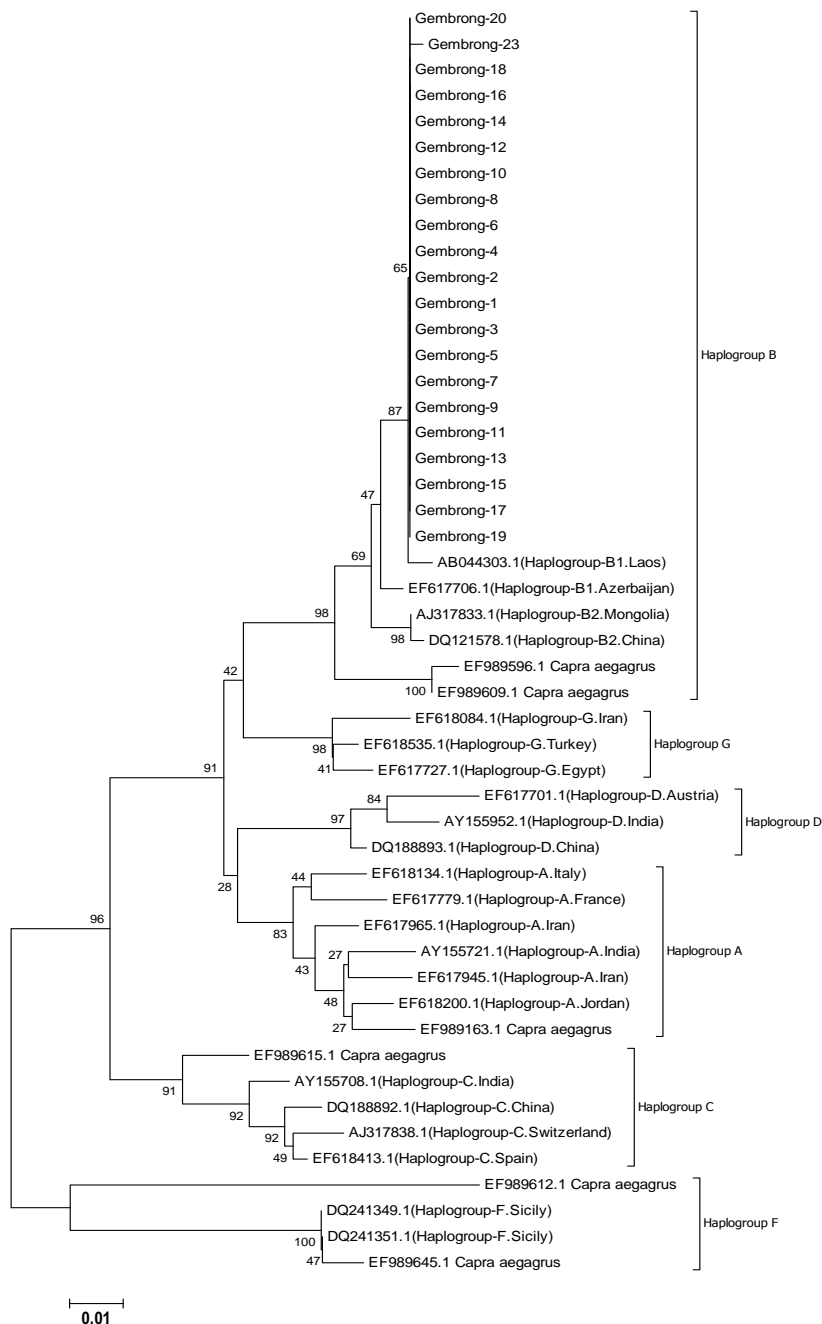
Variabilitas Fragmen HVI D-loop DNA Mitokondria

Pada penelitian sebelumnya telah diketahui terdapat enam garis keturunan, yaitu A, B, C, D, G, dan F (Naderi *et al.*, 2007). Oleh sebab itu, pada penelitian ini digunakan 21 referensi urutan dari *GenBank* dari garis keturunan yang masuk dalam *haplogroup* A (EF618134; EF617779.1; EF617965.1; 617945.1; AY155721; EF618200.1), *haplogroup* B1 (AB044303; EF617706), *haplogroup* B2 (AJ317833; DQ121578), *haplogroup* C (AY155708; AJ317838; EF618413.1), *haplogroup* D (EF617701.1; AY155952; DQ188893), dan *haplogroup* F (DQ241349.1; DQ241351), sedangkan urutan kambing liar (*Capra aegagrus*) yang digunakan sebanyak lima referensi dengan kode akses *GenBank* EF989645.1, EF989612.1, EF989615.1, EF989163.1, EF989596.1, dan EF989609.1. Pada penelitian ini dibandingkan dengan 20 urutan fragmen HVI D-loop DNA mitokondria kambing gembong dari populasi di penangkaran Desa Tumbu (gembong 1-20) dan satu spesimen (gembong 23) dari Desa Bukbuk, Kabupaten Karangasem, Bali.

Hasil analisis urutan HVI daerah kontrol dari DNA mitokondria menunjukkan bahwa jarak genetik intra kambing gembong adalah 0,0%. Data ini menunjukkan variabilitas genetik kambing gembong dari populasi tersisa di Kabupaten Karangasem, Bali, sangat homogen. Hal ini karena terjadi perkawinan antar keluarga dekat (silang dalam) akibat dari jumlah populasi yang terus menurun. Pada Gambar 1 terlihat bahwa semua kambing gembong yang dikoleksi dari Desa Tumbuh mempunyai urutan fragmen HVI D-loop DNA mitokondria yang sama, sedangkan urutan dari kambing yang dikoleksi dari Desa Bukbuk mempunyai perbedaan satu situs, yaitu terjadi substitusi pirimidin dari C ↔ T (*transitional*). Hasil analisis menggunakan penanda mikrosatelit masih terdeteksi adanya variasi genetik pada kambing gembong (Zein dan Sulandari, 2014). Dibandingkan dengan data urutan dari *GenBank* yang digunakan dalam penelitian ini, maka jarak genetik intra *haplogroup*, yaitu A (3,2%), B1 (1,4%), B2 (0,2%), C (1,9%), D (2,4%), F (0,0%), dan G (1,8%). Jarak antar *haplogroup* berkisar antara 1%-13,6% (7,79±3,35%).

Pohon Filogeni

Hasil analisis filogeni (Gambar 1) terlihat individu kambing gembong dari populasi yang tersisa di Kabupaten Karangasem, masuk dalam *subhaplogroup*



Gambar 1. Pohon filogeni dengan *neighbor-joining* kancing berdasar urutan *hypervariable-I* (HVI) daerah kontrol DNA mitokondria

B1 dengan frekuensi 100%, pada garis keturunan B terafiliasi dengan kancing liar *Capra aegagrus* dengan kode akses *GenBank* EF989596.1 dan EF989596.1, demikian pula pada *haplogroup* A, C, dan F juga terafiliasi dengan kancing liar *Capra aegagrus* dengan kode akses EF989163.1, EF989615.1, EF618413.1, EF989612.1, dan EF989645.1. Hasil analisis filogenetik terhadap berbagai rumpun kancing dari berbagai wilayah di Asia, Afrika, dan Eropa diketahui terdapat tiga garis keturunan yang sangat berbeda, yaitu *haplogroup* A, B, dan C (Luikart *et al.*, 2001) sebagai garis keturunan utama.

Penelitian lebih intensif terhadap populasi kancing domestikasi di berbagai belahan dunia menunjukkan

data polimorfisme urutan fragmen HVI yang tinggi dengan 338 situs variabel dengan panjang 558 pasang basa. Terdapat 285 substitusi (226 transisi dan 58 transversasi) dan 110 insersi/delesi (Naderi *et al.*, 2007). Hasil tersebut terdeteksi ada enam garis keturunan yang membentuk pohon filogeni monofiletik yang berbeda, yaitu *haplogroup* A, B, C, D, F, dan G. Diketahui garis keturunan *haplogroup* A paling dominan lebih dari 90% dengan estimasi didomestikasi sekitar 10.000 tahun yang lalu dan menyebar ke berbagai penjuru dunia (Naderi *et al.*, 2007), termasuk hasil observasi rumpun kancing modern di Benua Amerika (selatan dan tengah) semua berasal dari keturunan *haplogroup* A (Amills *et al.*, 2009).

Haplogroup B dapat diamati pada kambing liar (*C. aegagrus*) dari Asia Barat (Naderi *et al.*, 2008). Menurut catatan *haplogroup* B dibagi menjadi *subhaplogroup* B1 dan *subhaplogroup* B2 (Chen *et al.* 2005). Wilayah distribusi dari *haplogroup* B dengan frekuensi 5,92% yang utama berada di bagian Asia Timur dan Asia Tenggara (Naderi *et al.*, 2007). Namun demikian, hasil observasi berikutnya dilaporkan garis keturunan B masih belum final, karena hasil kajian terhadap populasi kambing di Asia Timur dan Asia Tenggara telah terdeteksi populasi dari garis keturunan B dengan frekuensi tinggi, umumnya terdapat di dataran tinggi di Asia Tenggara (Lin *et al.*, 2013). Selanjutnya, dilaporkan hasil kajian terhadap fosil kambing yang berumur sekitar 2500 tahun yang lalu terdapat garis keturunan A, B, dan D dengan frekuensi masing-masing sebesar 70, 20, dan 10% yakni garis keturunan B terdiri *subhaplogroup* B1 dan *subhaplogroup* B2 dan diyakini sebagai kambing asli dari Cina (Han *et al.*, 2010). Pendapat ini menjadi lemah karena diketahui kambing liar (*Capra aegagrus*) distribusinya tidak sampai Asia Timur, kemungkinan populasi di Cina ini sebagai populasi sekunder (Nomura *et al.*, 2013). Hasil penelitian lain menunjukkan garis keturunan kambing Cina meliputi A, B, C, dan D yakni garis keturunan B (20,77%) dengan frekuensi moderat, sedangkan garis keturunan A (76,50%) dominan, sedangkan C dan D dengan frekuensi rendah, yaitu 1,64 dan 1,09% (Liu *et al.*, 2007). Hasil penelitian di *subcontinen* India diketahui terdapat garis keturunan A dengan frekuensi tinggi dan berikutnya adalah garis keturunan B (Luikart *et al.*, 2001), namun juga terdeteksi garis keturunan C dengan frekuensi rendah (Joshi *et al.*, 2004). Penelitian terhadap kambing Mongolia, Jepang, Korea, Indonesia, Bangladesh, dan Filipina diketahui terdapat 4 garis keturunan, yaitu A, B, C, dan D yakni *haplogroup* A dengan frekuensi tertinggi 46% berasal dari sampel Mongolia (asli kambing Mongolia), Jepang (Saanen Jepang), Korea (asli kambing Korea), Indonesia (keturunan etawa), dan Bangladesh (kambing bengal hitam) serta berkolerasi dengan dua individu kambing liar (*Capra aegagrus*). *Haplogroup* B1 terdeteksi pada sampel berasal dari Indonesia (kambing kacang dan peranakan etawa), Bangladesh (kambing bengal hitam), dan Filipina (asli kambing Filipina), sedangkan *haplogroup* C terdeteksi di Mongolia (asli kambing Mongolia), demikian juga *haplogroup* D berasal dari kambing asli Mongolia (Nomura *et al.* 2013). *Haplogroup* C dengan frekuensi 1,44% dengan distribusi utamanya di wilayah Eropa, dan *haplogroup* D (0,54%) dengan wilayah utama distribusinya di Asia Tengah dan Asia Selatan. Terdapat *haplogroup* dengan frekuensi lebih rendah yaitu *haplogroup* F (0,12%) di Sisilia dan *haplogroup* G (1,11%) di Asia Barat (Naderi *et al.*, 2007). Selain itu, telah memperlihatkan pohon filogeni yang menggambarkan hubungan kekerabatan *haplogroup* kambing berbasis urutan HVI daerah kontrol dari DNA mitokondria (Naderi *et al.*, 2007; Naderi *et al.*, 2008), sedangkan Nomura *et al.*

(2013) menunjukkan klasifikasi pohon filogeni monopiletik dari masing-masing *haplogroup* dengan dukungan nilai *bootstrap* yang relatif tinggi (>80%) kecuali untuk *haplogroup* A (46%).

Hasil kajian tersebut menunjukkan aliran gen yang terjadi pada distribusi kambing yang digambarkan dengan terdeteksinya berbagai *haplogroup* di semua wilayah Asia, dan sedikit terdapat di Afrika maupun Eropa. Rumpun kambing gembong berkembang dari garis keturunan B1 yang terdapat pada pada kambing liar yaitu *C. aegagrus* (Naderi *et al.*, 2008) yang didomestikasi di Asia Barat kemudian menuju Asia Selatan. Infiltrasi garis keturunan/*haplogroup* B di Asia tenggara terdeteksi dengan frekuensi tinggi terutama di dataran tinggi (Lin *et al.*, 2013). *Haplogroup* B1 kemudian terdeteksi di Indonesia, yaitu beberapa sampel kambing kacang dan peranakan etawa (Nomura *et al.*, 2013).

KESIMPULAN

Dari hasil Penelitian disimpulkan bahwa diversitas genetik kambing gembong dari populasi tersisa di Kabupaten Karangasem sangat rendah dan berasal dari garis keturunan/*haplogroup* B1 dengan frekuensi 100%.

DAFTAR PUSTAKA

- A Mills, M., O. Ramirez, A. Tomas, B. Badoui, and J. Marin. 2009. Mitochondrial DNA diversity and origins of South and Central American goats. *Anim. Genet.* 40:315-322.
- Board on Agriculture National Research Council. 1993. **Managing Global Genetic Resources. Livestock. Committee on Managing Global Resource: Agriculture Imperative.** National Academy Press, Washington DC, USA.
- FAO. Food and Agriculture Organization. 2000. **World Watch List for Domestic Animal Diversity.** 3rd ed. Food and Agriculture Organization. Roma.
- Han, L., H.X. Yu, D.W. Cai, H.L. Shi, H. Zhu, and H. Zhou. 2010. Mitochondrial DNA analysis provides new insights into the origin of the Chinese domestic goat. Elsevier. *Small Rum. Res.* 90:41-46.
- Joshi, M.B., P.K. Rout, A.K. Mandal, C.T. Smith, L. Singh, and K. Thangaraj. 2004. Phylogeography and origin of Indian domestic goat. *Mol Biol Evol.* 21(3):454-462.
- Lin, B.Z., S. Odahara, M. Ishida, T. Kato, S. Sasazaki, K. Nozawa, and H. Mannen. 2013. Molecular phylogeography and genetic diversity of East Asian goats. *Anim Genet.* 44(1):79-85.
- Liu, R.Y., C.Z. Lei, S.H. Liu, and G.S. Yang. 2007. Genetic diversity and origin of chinese domestic goats revealed by complete mtDNA D-loop sequence variation. *Asian. Aust. J. Anim. Sci.* 20(2):178-183.
- Luikart, G., L. Gielly, L. Excoffier, J.D. Vigne, J. Bouvet, and P. Taberlet. 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98(10):5927-5932.
- Naderi, S., H.R. Rezaei, F. Pompanon, M.G.B. Blum, and R. Regini. 2008. The goat domestication process inferred from large-scale mitochondrial DNA analysis of wild and domestic individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105:17659-17664.
- Naderi, S., H.R. Rezaei, P. Taberlet, S. Zundel, S.A. Rafat, H.R. Naghash, M.A.A. El-Barody, O. Ertugrul, and F. Pompanon. 2007. Large-scale mitochondrial DNA analysis of the domestic goat reveal six haplogroups with high diversity. *PLoS ONE* 2:Doi:10.1371/journal.pone.0001012.
- Nomura, K. T. Yonezawa, S. Mano, S. Kawakami, A.M. Shedlock, M. Hasegawa, and A. Takashi A. 2013. Domestication process of

- the goat revealed by an analysis of the nearly complete mitochondrial protein-encoding genes. **Plos One**: **8**(8):Doi:10.1371/journal.pone.0067775.
- Pidancier, N., S. Jordan, G. Luikart, and P. Tarbalet. 2006. Evolutionary history of the genus *Capra* (Mammalia, Artiodactyla): Discordance between mitochondrial DNA and Y-chromosome phylogenies. **Mol. Phylogenet. Evol.** 40:739-749.
- Porter, V. 1996. **Goats of the World**. Farming Press, Ipswich, UK.
- Takada, T., Y. Kikkawa, H. Yonekawa, S. Kawakami, and A. Amano. 1997. Bezoar (*Capra aegagrus*) is a matriarchal candidate for ancestor of domestic goat (*Capra hircus*): Evidence from mitochondrial DNA diversity. **Biochem. Genet.** 35(9-10):315-326.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipiński, and S. Kumar. 2013. MEGA 6: Molecular evolutionary genetic analysis version 6.0. **Mol. Biol. Evol.** 30:2725-2729.
- Zeder, M.A. and B. Hesse. 2000. The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros Mountains 10,000 years ago. **Science**. 287(5461):2254-2257.
- Zein, M.S.A. dan S. Sulandari. 2014. Sidik jari DNA dan fenotipe pada populasi kambing gembong dengan status kritis di Karangasem, Bali. **J. Vet.** 15(2):182-191.