

Analisis Pola Protein Globulin Darah untuk Menduga Jarak Genetik antar Populasi Itik Tegal, Magelang dan Mojosari

(Protein Pattern Analysis of Blood Globulin to Estimation of Genetic Distance among Population of Tegal, Magelang and Mojosari Duck)

A.T. Ari Sudewo

Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

Abstract

The research to estimation gene frequency on the protein pattern of blood globulin and to estimation genetic distance among population Tegal, Magelang and Mojosari duck. The material were blood samples from 30 heads of duck. Electroforesis technique was used Sodium Dedocyl Sulfate (SDS) Polyacrilamide gel electroforesis according to Deutcher (1990) method with instrument of polyacrilamide electroforesis vertical system (Mini-Protean II, Bio-Rad) was used for analysis protein of blood globulin. The gene frequency was estimated according to direct account method and tested for Hardy-Weinberg equilibrium, whereas the genetic distance was estimated by Nei (1972). Result the analysis of electroforesis showed that locus of globulin on the local duck population was controlled by three kinds of gene. The gene frequency of Glb^A , Glb^B and Glb^C was about 0.05 – 0.50, migration distance was about 23 – 60 mm. The genetic distance among Tegal, Magelang and Mojosari duck as 0.010. Result of the research was concluded that the Protein pattern of blood globulin is usable to estimate both genetic distance and the relationship among population of Tegal, Magelang and Mojosari duck and also it is estimated that the geographic location represents a factor that influences the genetic distance.

Key Words : Blood globulin, Genetic distance, Duck population

Pendahuluan

Berbagai jenis itik lokal diberi nama sesuai dengan lokasinya dan mempunyai ciri morfologi yang khas. Diduga itik ini merupakan keturunan dari persilangan beberapa itik lokal dengan itik impor sehingga diperoleh beraneka ragam nama itik (Hetzell, 1985 dan Wilson *et al.*, 1997 dalam Yuwanta *et al.*, 2001). Protein globulin merupakan protein utama plasma darah yang berperan dalam pengangkutan besi dalam bentuk ferri ke sumsum tulang sebagai tempat penyimpanan zat besi (Sofro, 1991).

Untuk mengetahui pertalian genetik atau hubungan kekerabatan antara itik Tegal, Magelang dan Mojosari dilakukan dengan menduga jarak genetiknya menggunakan prosedur kimiawi dengan teknik elektroforesis. Dengan diketahui jarak genetik antar populasi ternak itik tersebut, maka dapat

dilakukan pengaturan sistem perkawinan dan pelaksanaan seleksinya sesuai dengan program pemuliaan dan peningkatan mutu genetik yang diharapkan. Semakin kecil jarak genetik antar populasi ternak itik, menunjukkan semakin dekat pertalian genetiknya dengan kesamaan genetik yang besar. Semakin besar jarak genetik antar populasi ternak itik menunjukkan semakin jauh pertalian genetiknya dengan kesamaan genetik yang kecil.

Informasi genetik jenis itik lokal di Indonesia belum banyak dilakukan sehingga kajian mengenai masalah ini menjadi sangat penting dan mendasar dalam rangka penunjang program tersebut. Pokok permasalahannya adalah informasi jarak genetik antara itik Tegal, Magelang, dan Mojosari belum dikaji secara jelas, dengan demikian dikhawatirkan apabila ternyata antara jenis itik tersebut mempunyai jarak genetik yang kecil ($<0,025$) ini berarti

mempunyai pertalian genetik yang dekat, maka perkawinan antar jenis itik tersebut akan merusak susunan genetik dalam populasi tersebut yaitu dengan masuknya gen-gen resesif kembali. Berdasarkan pokok permasalahan tersebut, maka perlu dikaji keeratan pertalian genetik antar jenis itik lokal melalui analisis pola protein globulin untuk menduga jarak genetik antar populasi itik Tegal, Magelang dan Mojosari.

Penelitian ini bertujuan untuk menduga frekuensi gen pada pola protein darah globulin antar itik Tegal, Magelang, dan Mojosari, menguji keseimbangan Hardy-Weinberg pada pola protein darah globulin dengan menggunakan *Chi Kuadrate* dan menduga jarak genetik untuk mengetahui pertalian genetik antar populasi itik Tegal, Magelang, dan Mojosari.

Manfaat penelitian ini adalah diperoleh peta penyebaran genetik yang dapat digunakan sebagai standar baku untuk menentukan sistem perkawinan dan seleksi yang akan diterapkan pada peternakan itik lokal.

Teknik elektroforesis dengan gel poliakrilamid sistem vertikal digunakan pada analisis protein darah, frekuensi gen diestimasi berdasarkan metode perhitungan langsung dan diuji untuk keseimbangan Hardy-Weinberg, sedangkan jarak genetik diestimasikan dengan rumus Nei (1972) dalam Astuti (1997). Nilai jarak genetik menunjukkan bahwa pada populasi yang dipelajari memiliki pertalian genetik yang jauh atau dekat dengan kesamaan genetik yang besar atau kecil (Astuti, 1997).

Metode Penelitian

Materi

Tiga puluh ekor itik yang terdiri dari 10 ekor itik Tegal, 10 ekor itik Magelang dan 10 ekor itik Mojosari masing-masing terdiri dari 5 pejantan (P) dan 5 betina (B). Setiap jenis

itik diambil langsung dari daerah asalnya, untuk menjaga kemurnian genetiknya.

Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental di laboratorium, dengan mengamati fenotip pola protein darah yang berupa pita-pita (*band*) yang terbentuk dalam gel poliakrilamid atas dasar jarak migrasinya. Hasil pengukuran jarak migrasi dimasukkan dalam tabel frekuensi genotipe dan frekuensi gen, kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Uji Chi-Kuadrate* (Gomez dan Gomez, 1986).

Cara Kerja

1. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui vena sayap (*vena axillaries*), masing-masing individu itik diambil sebanyak ± 5 ml dengan menggunakan sput dan dimasukkan kedalam tabung, kemudian disentrifuge untuk mendapatkan serum darah sebagai sampel protein globulin darah melalui proses fraksinasi.
2. Analisis pola protein darah dengan metode elektroforesis menggunakan Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) Poliakrilamid Gel Elektroforesis menurut metode Deutcher (1990) dengan tahapan sebagai berikut : Pembuatan gel pemisah (*separation gel*), gel penggertak (*stocking gel*) dan larutan penyanga (*buffer*) untuk elektroforesis.
3. Elektroforesis dilakukan dengan mempergunakan perangkat elektroforesis poliakrilamide sistem vertikal (Mini-Protean II, Bio-Rad).
4. Larutan gel pemisah diisikan di antara dua kepingan kaca yang dipasang pada alat elektroforesis sampai 3 cm dari batas atas, ditunggu sampai menjadi padat kemudian diisi dengan gel penggertak. Setelah itu sisir dipasang di atas gel penggertak sebelum memadat. Setelah

padat sisir diangkat dan meninggalkan bekas seperti sumur (lubang kecil). Sampel yang berupa plasma (filtrat) dimasukkan ke dalam sumur (lubang) yang sudah tersedia. Alat elektroforesis dihubungkan dengan arus listrik tegangan 200 volt, kuat arus 400 mA, selama 30 menit. Selanjutnya gel diawetkan diantara kertas kaca dan dilakukan pengambilan foto untuk dokumentasi.

Peubah yang Diamati

1. Jarak migrasi, diukur dari arah anoda ke katoda, kemudian ditabulasi dan dihitung frekuensi genotipe dan frekuensi gennya untuk protein globulin.
2. Data frekuensi genotipe dan frekuensi gen di analisis dengan uji *Chi Kuadrat* (Gomez dan Gomez, 1986).
3. Jarak genetik antar populasi, diukur dengan rumus Nei (1972) dalam Astuti (1997).

Analisis Data

Penentuan lokus protein didasarkan pada kecepatan mobilitas relatif terhadap sampel yang dipakai sebagai standar. Lokus protein ditunjukkan dengan gambar pita. bila hanya satu pita maka diasumsikan bahwa protein adalah homosigot dengan gen kembar atau bergenotip sama. Bila terbentuk lebih dari satu pita diasumsikan bahwa protein tersebut adalah heterosigot dengan gen dan genotipe yang berbeda. Pita protein yang secara horizontal letaknya simetris diasumsikan bahwa protein tersebut mempunyai genotip atau gen yang sama

Jarak genetik antar populasi dihitung dengan rumus Nei (1972) dalam Astuti (1997) sebagai berikut :

$$D = \log_e I \text{ dan } I = \frac{\sum X_{ij} Y_{ij}}{\sqrt{(\sum X^2_{ij})(\sum Y^2_{ij})}}$$

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

Hasil dan Pembahasan

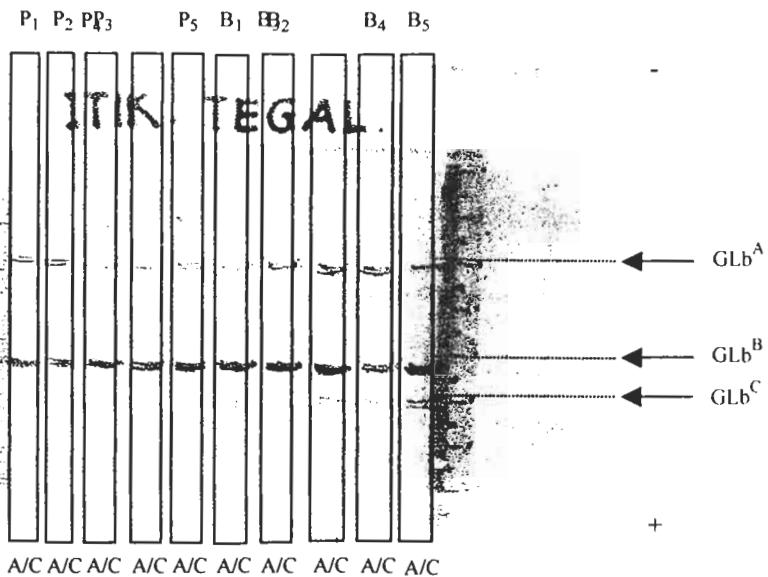
Pola Protein Globulin Darah

Hasil elektroforesis tertera pada Gambar 1, 2 dan 3. Gambar elektroforegram yang disajikan tersebut menunjukkan pola protein globulin darah yang berbentuk pita-pita lokus globulin pada populasi itik Tegal, Magelang, dan Mojosari yang diperoleh dari proses elektroforesis.

Berdasarkan gambar elektroforegram diperoleh petunjuk bahwa ketiga populasi itik lokal yaitu itik Tegal, Magelang, dan Mojosari mempunyai pola protein globulin darah yang berbeda dan menunjukkan adanya keragaman yang relatif bervariasi. Keragaman ini ditunjukkan dengan jarak migrasi yang berbeda antar populasi itik lokal tersebut. Berdasarkan Gambar 1, 2 dan 3 diperoleh petunjuk bahwa pola migrasi pita lokus globulin darah pada populasi itik lokal diklasifikasikan ke dalam tiga macam genotipe heterosigot yaitu Glb^{AB} , Glb^{AC} dan Glb^{BC} .

Pada populasi itik Tegal lokus globulin hanya tersusun dari satu macam genotipe heterosigot yaitu Glb^{AC} , dan pada populasi itik Magelang hanya tersusun dari satu macam genotipe heterosigot yaitu Glb^{BC} , sedangkan pada populasi itik Mojosari tersusun dari dua macam genotipe heterosigot yaitu Glb^{AB} dan Glb^{AC} . Dengan demikian, dapat dinyatakan bahwa secara genetik lokus globulin pada populasi itik lokal dikode oleh tiga macam gen yaitu gen Glb^A , Glb^B dan Glb^C , sehingga dapat digambarkan jumlah serta sifat gen-gen yang mengkodenya (Powell, 1997).

Individu :



Genotipe :

A/C A/C A/C A/C A/C A/C A/C A/C A/C A/C

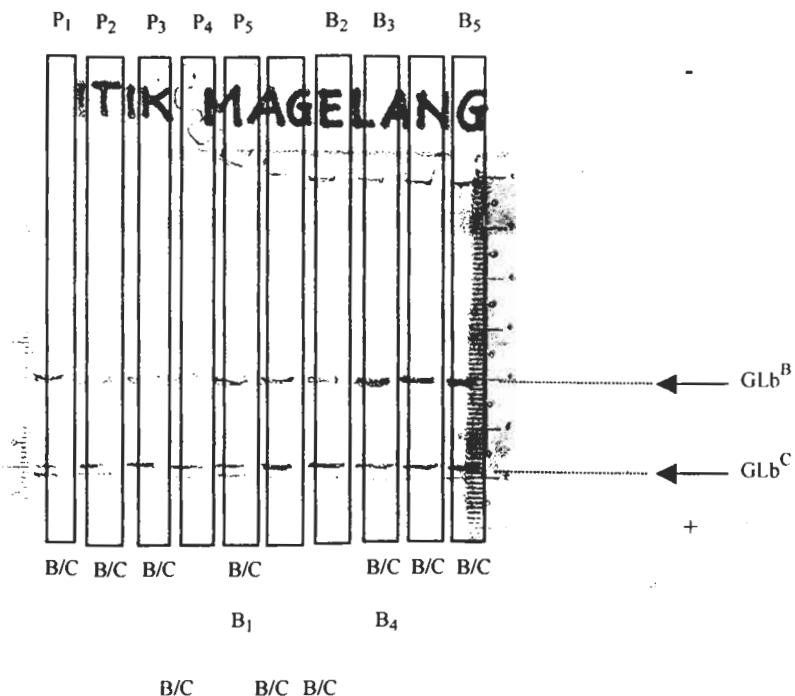
Gambar 1. Pola protein globulin darah pada populasi itik Tegal

Keterangan : GLb^A = Mempunyai jarak migrasi 23 mm.

GLb^B = Mempunyai jarak migrasi 45 mm.

GLb^C = Mempunyai jarak migrasi 52 mm.

Individu :



Genotipe :

B/C B/C B/C B/C B/C B/C B/C
B₁ B₄

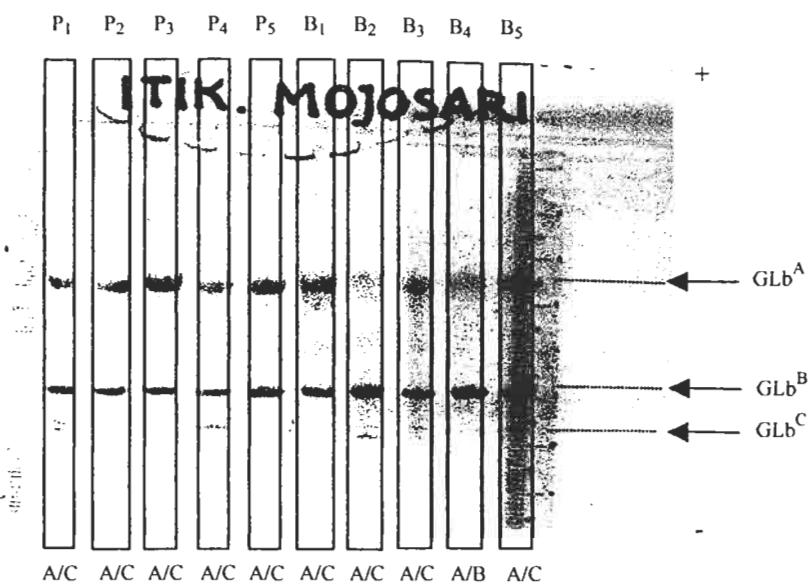
B/C B/C B/C

Gambar 2. Pola protein globulin darah pada populasi itik Tegal

Keterangan : GLb^B = Mempunyai jarak migrasi 44 mm.

GLb^C = Mempunyai jarak migrasi 60 mm.

Individu :



Gambar 3. Pola protein globulin darah pada populasi itik Mojosari

Keterangan : GLb^A = Mempunyai jarak migrasi 29 mm.
 GLb^B = Mempunyai jarak migrasi 53 mm.
 GLb^C = Mempunyai jarak migrasi 59 mm

Frekuensi Genotipe dan Frekuensi Gen Lokus Globulin

Hasil perhitungan frekuensi genotipe dan frekuensi gen lokus globulin pada populasi itik Tegal, Magelang dan Mojosari tertera pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 diperoleh petunjuk bahwa frekuensi genotipe GLb^{AB} hanya terdapat pada populasi itik Mojosari yaitu sebesar 0,10. Frekuensi GLb^{AC} tertinggi diperoleh pada populasi itik Tegal yaitu sebesar 1,00, sedangkan pada populasi itik Mojosari sebesar 0,90.

Frekuensi genotipe GLb^{BC} hanya ditemukan pada populasi itik Magelang yaitu sebesar 1,00. Ditemukannya frekuensi genotipe GLb^{BC} pada populasi itik Magelang yang spesifik tersebut merupakan pembeda utama populasi itik lokal dalam melakukan seleksi dan system perkawinan pada karakteristik produksi atau karakteristik lainnya.

Frekuensi gen GLb^A pada populasi itik Tegal dan Mojosari diperoleh hasil yang sama yaitu sebesar 0,50. Frekuensi gen GLb^B pada populasi itik Magelang dan Mojosari diper-

oleh hasil masing-masing sebesar 0,50 dan 0,05. Frekuensi gen GLb^C pada populasi itik Tegal dan Mojosari diperoleh hasil yang sama yaitu sebesar 0,50 sedangkan pada populasi itik Mojosari sebesar 0,45.

Beragamnya frekuensi genotipe dan frekuensi gen lokus globulin yang terdapat dalam dan antar populasi itik Tegal, Magelang dan Mojosari menggambarkan adanya keragaman genetic pada populasi itik lokal.

Uji Keseimbangan Hukum Hardy-Weinberg

Pengujian keseimbangan Hukum Hardy-Weinberg pada populasi itik Tegal, Magelang dan Mojosari berdasarkan analisis lokus Globulin dilakukan dengan menggunakan uji *Chi-kuadrat* untuk mengetahui apakah data pengamatan (observasi) yang diperoleh menyimpang atau tidak menyimpang dari nisbah yang diharapkan (*expected*) menurut Hukum Hardy-Weinberg secara kebetulan atau tidak secara kebetulan.

Tabel 1. Frekuensi genotipe dan frekuensi gen lokus globulin pada populasi itik Tegal, Magelang dan Mojosari

Itik Lokal	Jumlah (ekor)	Frekuensi Genotipik						Frekuensi Gen		
		Glb ^{AA}	Glb ^{AB}	Glb ^{AC}	Glb ^{BB}	Glb ^{BC}	Glb ^{CC}	Glb ^A (p)	Glb ^B (q)	Glb ^C (R)
Tegal	10	-	-	1,00	-	-	-	0,50	-	0,50
Magelang	10	-	-	-	-	1,00	-	-	0,50	0,50
Mojosari	10	-	0,10	0,90	-	-	-	0,50	0,05	0,45

Hasil uji *chi-kuadrat* pada keseimbangan Hardy-Weinberg berdasarkan lokus Globulin pada populasi itik Tegal, Magelang dan Mojosari diperoleh petunjuk bahwa lokus globulin yang diuji tidak menunjukkan penyimpangan dari nisbah keseimbangan Hardy-Weinberg ($\chi^2_{hitung} < \chi^2_{tabel}$), sehingga dapat dinyatakan bahwa lokus globulin pada populasi itik Tegal, Magelang dan Mojosari terdapat dalam keadaan keseimbangan Hardy-Weinberg.

Keseimbangan dimungkinkan karena adanya sistem perkawinan acak, dan tidak terjadi pemasukan gen baru (migrasi), mutasi serta tidak adanya seleksi, mengingat seleksi pada itik lokal ditingkat peternak jarang dilakukan.

Jarak Genetik antar Populasi Itik

Jarak genetik digunakan untuk menduga pertalian genetik atau hubungan kekerabatan antar populasi diestimasikan menurut Nei (1972). Jarak genetik berkisar antara 0 – 1, apabila jarak genetik sama dengan 0 (nol) berarti di antara populasi mempunyai hubungan genetik yang sangat dekat atau berkerabat dekat, sebaliknya apabila jarak

genetiknya sama dengan 1 (satu), maka diantara populasi tidak terdapat hubungan genetik sama sekali (Leary dan Booke, 1990).

Hasil pendugaan jarak genetik antar populasi itik Tegal, Magelang, dan Mojosari tertera pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2 diperoleh petunjuk bahwa jarak genetik antara populasi itik Tegal dengan Magelang, itik Magelang dengan Mojosari dan antara populasi itik Tegal dengan Mojosari adalah sama yaitu masing-masing sebesar 0,010. Dengan demikian, dapat dinyatakan bahwa antar populasi itik Tegal, Magelang, dan Mojosari mempunyai pertalian genetik yang relatif jauh dengan kesamaan genetik yang relatif kecil.

Apabila dilihat secara geografis, daerah Tegal terletak di Jawa Tengah bagian barat, daerah Magelang terletak di daerah Jawa Tengah bagian selatan dan daerah Mojosari terletak di daerah Jawa Timur. Letak geografis yang berbeda akan berpengaruh terhadap penampilan atau kemampuan populasi itik. Perbedaan kemampuan individu anggota populasi dipengaruhi oleh perbedaan susunan gennya, sehingga ekspresi gennya akan berbeda pada lokasi yang berbeda

Tabel 2. Pendugaan jarak genetik (D) berdasarkan analisis pola protein globulin darah pada populasi itik Tegal, Magelang, dan Mojosari

Populasi	Itik Tegal	Itik Magelang	Itik Mojosari
Itik Tegal	0,000	-	-
Itik Magelang	0,010	0,000	-
Itik Mojosari	0,010	0,010	0,000

Semakin jauh jarak lokasi pengembangan populasi itik, semakin berbeda keragaman genetiknya. Dengan demikian, diperoleh petunjuk bahwa adanya keragaman genetik antar populasi itik Tegal, Magelang, dan Mojosari dipengaruhi oleh faktor geografis, bukan karena adanya pemasukan gen baru (migrasi) maupun hasil persilangan dengan bangsa itik lain. Diduga antar populasi itik Tegal, Magelang, dan Mojosari berasal dari satu bangsa atau rumpun. Pendapat ini didukung pendapat Rasyaf (1993) yang menyatakan bahwa itik lokal merupakan itik *Indian runner* yang dipelihara di wilayah-wilayah tertentu dan diberi nama sesuai dengan nama wilayah pengembangannya.

Populasi itik Tegal dan Mojosari merupakan pasangan kekerabatan yang memiliki banyak kemiripan susunan gen yang mengontrol lokus globulin, sedangkan populasi itik Magelang susunan gen yang mengontrol lokus globulin relatif berbeda dibandingkan dengan populasi itik Tegal dan Magelang. Hal ini diduga berhubungan dengan performans produksi pada populasi itik lokal (Purwantini *et al.*, 2002).

Kesimpulan

Pola protein globulin darah dapat digunakan untuk menduga jarak genetik atau hubungan kekerabatan antar populasi itik Tegal, Magelang, dan Mojosari. Hubungan kekerabatan antar populasi itik Tegal, Magelang dan Mojosari relatif jauh, diduga karena perbedaan letak geografisnya yang bejauhan, sehingga tidak terjadi migrasi atau perpindahan antar populasi itik

Daftar Pustaka

- Astuti, M. 1997. Estimasi Jarak Genetik antar Populasi Kambing Kacang, Kambing Peranakan Etawah dan Kambing Lokal berdasar Polimorfisme Protein Darah. *Buletin Peternakan*. Vol 21 (1) : 1 - 9
- Deutcher, M.P. 1990. *Guide to Protein Purification*. Methods in Enzymology. Academic Press INC. Sandiego, New York.
- Gomez, K.A. and A.A. Gomez. 1986. *Statistical Procedure for Agriculture Research*. IRR. Los Banos. Philipine.
- Hetzell, D.J.S. 1985. Duck Breeding Strategies – the Indonesia Example. *Dalam* T. Yuwanta, Zuprizal, A. Musofie dan N. K. Wardhani. 2001. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Nei, M. 1972. Genetics Distance Bpopulation. *Am. Naturalist* 106:283-292. *Dalam* Astuti, M. 1997. Estimasi Jarak Genetik antar Populasi Kambing Kacang, Kambing Peranakan Etawah dan Kambing Lokal berdasar Polimorfisme Protein Darah. *Buletin Peternakan*. Vol 21 (1) : 1 - 9.
- Purwantini, D., Ismoyowati, Prayitno and Singgih, S.S. 2002. Polymorphism Blood Protein as Indicator for Production Characteristics of Indigenous Java Duck. *Proceeding of International Seminar and Conference on "Technology and Policy on Indonesia Resources Utilization"*, September 20 – 22, Hamburg. P 32 – 37.
- Purwantini, D., Ismoyowati and S.S. Santoso. 2002. Phenotypic Correlation between Production Characteristics as Base for Selection of Indigenous Java Duck. *Proceeding of International Seminar and Conference on "Empowerment of Small and Medium Enterprises through Environment Oriented Technology"*, October 4 – 6, Berlin. P128 – 137.
- Rasyaf, 1993. *Beternak Itik Komersial*, Penerbit Kanisius Yogyakarta.
- Setioko, A.R. 1997. Recent Study on Traditional System of Duck Layer Flock. Management in Indonesia. *Proceedings 11th Europ. Symp of Waterfowl*, Nantes, France. 491 – 498.
- Sofro, A.S.M. 1991. *Keanekaragaman Genetic*. PAU Bioteknologi, UGM, Yogyakarta
- Wilson, B.J., D.M. Martin and H. Nott. 1997. Future Genetics Improvement in Pekin Type Duck. *Dalam* T. Yuwanta, Zuprizal, A. Musofie dan N. K. Wardhani. 2001. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*. Universitas Diponegoro. Semarang.

Yuwanta, T., Zuprizal, A. Musofie dan N. K. Wardhani. 2001. Produksi dan Reproduksiltik Turi Bantul pada Sex-Ratio, Lama Campur dan Sistem Pemeliharaan

yang Berbeda. *Journal Pengembangan Peternakan Tropis.* Universitas Diponegoro. Semarang.