

# IDENTIFIKASI VARIASI GENETIK KERBAU (*BUBALUS BUBALIS*) PACITAN DAN TUBAN BERBASIS MIKROSATELIT

Primadya Anantyarta

IKIP Budi Utomo, Jl. Simpang Arjuno No. 14B, 65112, Malang  
anantyarta@yahoo.co.id

**Abstrak**—kurangnya pelestarian kerbau dapat mengancam populasi, sehingga perlu usaha menjaga plasma nutfah dan upaya awal mengetahui variasi kerbau di daerah endemik. Pacitan dan Tuban merupakan daerah endemik di Jawa Timur. Penelitian deskriptif eksploratif ini bertujuan menjelaskan variasi fenotip dan genotip kerbau. Fenotip meliputi bentuk dan warna tubuh, warna mata, panjang tanduk, leher dan ekor, lingkaran dada, tinggi dan panjang badan, ukuran kepala. Penelitian genotip dilakukan menggunakan primer HEL09 dan INRA023 yang ditunjukkan adanya pita (alel) DNA homozigot maupun heterozigot. Penelitian diawali dengan pengambilan sampel darah, isolasi DNA dan elektroforesis gel agarose. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan untuk memperbanyak konsentrasi DNA, elektroforesis *Polyacrylamidegel* dan *silver staining* untuk mengetahui alel DNA. Analisis hasil penelitian menunjukkan nilai heterozigositas kerbau Pacitan dengan primer HEL09 sebesar 54%, PIC 42%, sedangkan dengan primer INRA023 nilai heterozigositas sebesar 88%, PIC 77%. Pada daerah Tuban, nilai heterozigositas dimunculkan primer HEL09 sebesar 55%, PIC 36%. Nilai heterozigositas dimunculkan primer INRA023 sebesar 60,96% PIC 53%. Nilai PIC dimunculkan primer INRA023 lebih besar daripada nilai PIC HEL09, sehingga primer INRA023 lebih polimorfik daripada primer HEL09 dan lebih dapat menjelaskan tentang variasi dalam suatu populasi.

**Kata kunci:** Kerbau, Variasi fenotip, Variasi Genetik, Mikrosatelit, polimorfik.

## PENDAHULUAN

Kerbau (*Bubalus bubalis*) merupakan salah satu hewan ternak ruminansia besar yang dimanfaatkan oleh manusia untuk membantu kegiatan sehari-hari. Keuntungan yang diperoleh dengan memanfaatkan tenaga kerbau, antara lain membantu membajak sawah, produksi susu kerbau sebagai minuman alternatif yang bergizi selain susu sapi dan kambing, serta daging yang dimanfaatkan sebagai salah satu sumber makanan alternatif protein hewani karena mempunyai potensi tinggi dalam penyediaan daging (Susilawati dan Bustami, 2008). Berternak kerbau perah bukan hanya mengharapkan air susu dan daging, melainkan hasil lain berupa kulit, tulang, tanduk, dan kotoran yang semuanya dapat dimanfaatkan dan bernilai ekonomis (Ibrahim, 2008). Di Indonesia, tingginya pemanfaatan hewan ternak kerbau tidak diimbangi dengan pelestarian yang baik. Sangat jarang

pihak yang berternak kerbau, sehingga dikhawatirkan keberadaan kerbau mengalami penurunan setiap tahunnya baik jumlah maupun kualitasnya (Riyanto, 2010). Dudi (2007) melaporkan bahwa penurunan populasi kerbau di Pulau Jawa pada kurun waktu tahun 1995 sampai dengan tahun 2000 sekitar 6,48%. Jumlah pemotongan kerbau di Indonesia selama tahun 2005 adalah sebanyak 164 ribu ekor, dengan produksi daging sekitar 38 ribu ton (DitJenNak, dalam Dudi (2007), kondisi ini merupakan salah satu penyebab menurunnya populasi kerbau karena tidak ditunjang oleh performa reproduksi yang bagus.

Berbagai daerah di Indonesia memiliki hewan yang termasuk mamalia dengan ciri khas masing-masing sesuai dengan kondisi daerah tertentu. Karakteristik tertentu dapat dijadikan sebagai sumber plasma nutfah bagi daerah tertentu di Indonesia. Perbedaan yang dimiliki oleh

kerbau pada setiap daerah disebabkan kondisi lingkungan daerah yang berbeda sehingga memunculkan adanya variasi (Riyanto, 2010). Kerbau yang berada di pulau jawa memiliki karakteristik seperti warna kelabu tua, memiliki rambut pendek, kasar dan jarang. Tinggi bahu kerbau mencapai sekitar 1,5 meter hingga 1,8 meter. Rata-rata kerbau dewasa dapat mencapai berat sekitar 500-900 kilogram. Kerbau jantan lebih besar daripada kerbau betina. Selain ukurannya, karakteristik utama yang membedakan kerbau jantan dan kerbau betina adalah adanya lekuk-lekuk dalam pada badannya dan tanduk berbentuk bulan sabit yang melengkung panjang ke belakang. Meskipun kerbau betina juga bertanduk, tanduknya lebih kecil daripada tanduk kerbau jantan (Nopri, 2013).

Riyanto, 2010 mengungkapkan, bahwa variasi yang ada dapat dilihat secara fenotip, namun lebih jelasnya adalah dengan mengetahui variasi tingkat genetik atau mengetahui perbedaan genotipnya. Mengetahui perbedaan tingkat fenotip tentu dengan melakukan pengamatan terhadap morfologi kerbau serta melakukan pencatatan mengenai karakteristik yang dimiliki. Mengetahui perbedaan karakteristik dari kerbau harus menggunakan teknik yang lebih modern dan dapat memudahkan pengamat/peneliti.

Sistem pemeliharaan kerbau di Indonesia umumnya masih tradisional dengan skala 2-3 ekor per peternak serta kurang mendapat perhatian pemerintah dari segi pemuliaan, makanan dan manajemen (*breeding, feed, and management*), sehingga produktivitasnya masih rendah. Perkawinan kerbau berkerabat dekat (*inbreeding*) pada sistem pemeliharaan kerbau secara ekstensif diduga sebagai penyebab lain menurunnya performa kerbau. Oleh sebab itu perlu adanya upaya peningkatan produktivitas

kerbau melalui program pemuliaan yang berkelanjutan (Dudi, 2007).

Di Pulau Jawa, terutama Jawa Timur, terdapat populasi kerbau yang turut menyumbang jumlah keberadaan kerbau nasional. Wilayah Tuban dan Pacitan merupakan contoh dari wilayah yang perlu dilakukan pemuliaan dan pelestarian melalui upaya pengembangbiakan. Upaya pelestarian ini diharapkan dapat memiliki kualitas yang baik, seimbang antara kebutuhan akan daging kerbau dengan pengembangbiakannya, serta tercipta dan dipertahankannya performa reproduksi dengan mengantisipasi adanya *inbreeding*.

Wilayah Pacitan dan Tuban merupakan wilayah endemik yang terdapat populasi kerbau yang dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar di Jawa Timur. Keinginan pemerintah, dalam upaya pelestarian serta menciptakan individu kerbau yang berkualitas, diperlukan identifikasi sebagai langkah awal untuk mengetahui informasi mengenai variasi genetik yang dimiliki oleh kerbau di daerah tersebut. *Outbreeding* atau perkawinan silang kerbau dapat memunculkan bangsa kerbau baru dengan kualitas yang tinggi sangat diharapkan untuk berhasilnya usaha pemuliaan kerbau (Riyanto, 2010).

Salah satu cara untuk melindungi kelestarian kerbau dan memelihara keragaman genetiknya ialah dengan pengelolaan plasma nutfah yang baik, sehingga dapat mencegah kehilangan plasma nutfah yang potensial untuk pemuliaan jenis kerbau di masa depan. Martojo dalam Dudi, (2007) mengungkapkan bahwa upaya perubahan genetik hewan sejak dulu tidak menunjukkan hasil yang memadai, karena upaya pemuliaan ditekankan pada impor bahan genetik dari luar untuk dipelihara sebagai hewan murni atau persilangan. Ketika arus bioteknologi melanda dunia,

Indonesia harus sanggup melaksanakan penelitian yang memanfaatkan perkembangan bioteknologi tersebut. Hal ini dapat pula dimanfaatkan sebagai cara untuk melaksanakan pemuliaan dan pelestarian kerbau di Indonesia yang semakin menurun tiap tahun.

Perkembangan teknologi mengiringi perkembangan ilmu, termasuk teknik-teknik analisis berbasis DNA. Berbagai macam teknik telah dikembangkan untuk memvisualisasi *polimorfisme*/keragaman pada DNA. Salah satu teknik yang digunakan untuk mengetahui variasi genetik guna memetakan secara genetik adalah menggunakan teknik penanda DNA mikrosatelit. Umumnya penanda DNA diklasifikasikan dalam dua kelompok, yaitu penanda berbasis hibridisasi dan penanda berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Penanda berbasis PCR melibatkan amplifikasi *in vitro* dari sekuen DNA tertentu atau lokus-lokus tertentu dengan bantuan primer dan enzim *polymerase* yang termostabil. Fragmen yang diamplifikasi dipisahkan dengan elektroforesis dan dideteksi dengan pewarnaan tertentu (Nuraida, 2012).

Mikrosatelit atau *simple sequence repeats* (SSR) merupakan salah satu penanda genetik molekuler yang didasarkan pada urutan DNA pendek yang tiap unit ulangnya terdiri dari satu sampai enam nukleotida. Penanda mikrosatelit ini banyak digunakan sebagai alat dalam program pemuliaan atau studi evolusi. Penggunaan penanda mikrosatelit relatif mudah karena menggunakan teknik PCR, terdistribusi pada seluruh kromosom, sehingga diharapkan semakin tinggi kemungkinannya untuk mendapatkan penanda yang terpaut dengan sifat tertentu (Nuraida, 2012).

Penanda mikrosatelit saat ini merupakan penanda yang banyak dipilih pada banyak area genetika molekuler,

karena mikrosatelit sangat polimorfik bahkan untuk spesies atau galur yang berkerabat dekat, serta memerlukan DNA dalam jumlah kecil. Sifat polimorfik sangat diperlukan pada sebuah penanda genetik, agar bisa membedakan individu-individu dalam populasi yang diteliti. Penanda mikrosatelit juga bersifat kodominan, oleh karena itu penanda ini dapat mendeteksi baik homozigot maupun heterozigot (Sumantri dkk, 2008).

Searah dengan berkembangnya teknologi DNA ini, maka kelemahan identifikasi dengan penanda morfologi dapat didukung oleh pendekatan secara molekuler. Penggunaan penanda genetik seperti isozim memiliki kelebihan karena bersifat kodominan. Keterbatasan penanda ini adalah rendahnya kemampuan untuk mendeteksi polimorfisme. Untuk menunjukkan hal ini, sejumlah penanda molekuler yang sering digunakan untuk deteksi polimorfisme adalah: (1) *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), (2) reaksi rantai *polymerase* dengan menggunakan sekuen nukleotida sebagai primer, seperti *Randomly Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) dan *Simple Sequence Repeat* (SSR) atau mikrosatelit. Sebagian kecil fragmen DNA dari genom tumbuhan dapat diamplifikasi dengan PCR untuk mendapatkan sejumlah besar fragmen DNA. Teknik elektroforesis pada gel agarose pemunculan fragmen DNA tersebut dapat dideteksi secara konsisten dan menjadi data bukti taksonomi (Judd *et al.*, dalam Azrai, 2005).

Menurut Powell *et al* dalam Azrai (2005), beberapa pertimbangan untuk penggunaan penanda mikrosatelit dalam studi genetik diantaranya: (1) penanda terdistribusi secara melimpah dan merata dalam genom, variabilitasnya sangat tinggi (banyak alel dalam lokus), sifatnya kodominan dan alokasi genom dapat diketahui, (2) merupakan alat uji

yang memiliki reproduksibilitas dan ketetapan yang tinggi, (3) merupakan alat bantu yang sangat akurat untuk membedakan genotip dari individu yang mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat, dan (4) studi genetik populasi dan analisis keragaman genetik yang sulit dikelompokkan berdasarkan fenotipnya.

Penelitian mengenai identifikasi variasi genetik menggunakan marka mikrosatelit sangat penting untuk mendapatkan informasi mengenai keragaman genetik kerbau di berbagai daerah, serta dapat memelihara plasma nutfah dan kelestarian kerbau. Beberapa penelitian berkaitan dengan penggunaan mikrosatelit serta upaya identifikasi variasi genetik kerbau berbagai daerah pernah dilakukan oleh: (1) Riyanto, (2010) yang menyebutkan bahwa variasi genetik kerbau Blitar lebih tinggi daripada populasi kerbau Banyuwangi dilihat dari rata-rata nilai informasi polimorfik alel; (2) Rukmini, (2010) menyebutkan bahwa variasi genotip populasi kerbau lumpur Seulimum lebih tinggi dibandingkan dengan populasi kerbau lumpur Jantho, populasi kerbau lumpur Indrapuri dan populasi kerbau lumpur Masjid Raya; serta (3) Sukri, (2011) menyebutkan bahwa

terdapat variasi genetik pada kedua populasi kerbau Lombok Tengah yang meliputi frekuensi alel, heterozigositas, dan *Polymorphism Information Content* (PIC). Beberapa penelitian yang telah ada tersebut menunjukkan bahwa penggunaan mikrosatelit mulai sering diterapkan serta upaya untuk pelestarian plasma nutfah kerbau mulai ditingkatkan.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Negeri Malang (UM) dan Laboratorium Genetika Universitas Islam Negeri MaulanaMaliki Ibrahim (UIN Maliki) Malang pada bulan Januari sampai dengan Juni 2013.

### 1. Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini menggunakan populasi kerbau yang berada di daerah Pacitan dan Tuban, Jawa Timur. Sedangkan sampel yang digunakan adalah 8 ekor kerbau dari Pacitan dan 8 ekor kerbau dari Tuban. Pengambilan sampel dilakukan secara *random sampling* oleh tenaga teknis Dinas Peternakan.

### 2. Alat dan Bahan

Tabel 1. Alat dan Bahan Isolasi DNA

Alat	Bahan
- <i>Centrifuge</i>	- 500 µl darah kerbau,
- Tabung <i>ependorf</i> 1,5 ml	- Larutan I (10 mM Tris pH 7,6, 10 M KCl, 10 mM
- <i>Micropipet</i> "soccorex" 1-10 µl, 10-100 µl, dan 100-1000 µl,	MgCl <sub>2</sub> ), Larutan II (Larutan I + NaCl, SDS, EDTA)
- Tip/ujung pipet (putih, kuning dan biru),	- Chloroform,
- Rak tabung <i>efendorf</i>	- Ethanol absolute (96%),
- <i>Freezer</i>	- Nonidet P40 (NP40),
- <i>Vortex</i>	- 25 µl TE (10 mM Tris-HCl pH 8 dan 1 mM NaED- TA pH 8)

Tabel 2. Alat dan Bahan Elektroforesis

Alat	Bahan
- <i>Glove</i>	- Agarose,
- Tisu	- TBE 1 X,
- Parafilm	- BPB ( <i>Bromophenol blue</i> ) atau <i>Loading Dye</i> ,
	- Ethidium bromide (EtBr),
	- Sampel DNA

Tabel3. Alat dan Bahan PCR

Alat	Bahan
- <i>Tube</i> PCR,	- Primer mikrosatelit masing-masing Reverse dan Forward sebanyak 2,5 µl,
- <i>Micropipet</i> “soccores” 1-10 µl dan tip,	- 12,5 µl PCR mix (dNTP, Taq Polimerase, buffer),
- Rak <i>tube</i> ,	- 5 µl dH <sub>2</sub> O,
- <i>Centrifuge</i> ,	- 2,5 µl sampel DNA
- <i>Ice box</i> ,	
- Satu set mesin PCR “Biometra”.	

Tabel 4. Alat dan Bahan Elektroforesis *Polyacrilamide*

Alat	Bahan
- Satu set elektroforesis vertikal “biometra”,	- NaOH, NH <sub>3</sub> ,
- <i>Shaker</i> ,	- Acrylamid, Bisacrylamid,
- Timbangan analitik,	- Temed, APS, TBE 10x,
- <i>Micropipet</i> “soccores” 1-10 µl, 10-100 µl dan 100-1000 µl dan tip,	- Formalin, Sodium Karbonat,
- Tabung Erlenmeyer	- Silver nitrat, NH <sub>4</sub> OH,
- Parafilm	- DNA Marker 100bp,
	- Gliserol, CTAB, Acetid Acid,
	- Aquades, BPB.

### 3. Metode dan Desain Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Deskriptif Eksploratif untuk mengetahui variasi fenotip dan genotip dari kerbau.

#### Teknik Pengumpulan Data

Metode pengambilan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode observasi dengan pendekatan laboratorium, yaitu teknik pengumpulan data dimana peneliti mengadakan pengamatan secara langsung terhadap gejala subjek yang diteliti, baik pengamatan itu dilakukan pada situasi sebenarnya maupun dilakukan didalam situasi yang khusus diadakan (Rofieq, 2002).

### 4. Analisis dan Interpretasi Data

- Hasil pengamatan pada pita DNA (*band*) dianalisis menggunakan GENOPOP ver 3.1d option 3-1 dan 3-3. Selain menggunakan GENEPOP, dapat pula dianalisis secara manual dengan menggunakan pita (*band*) DNA produk PCR dengan primer DNA mikrosatelit yang ukurannya ditentukan berdasarkan jumlah pasangan basa (bp) serta dicari nilai rata-rata, kemudian hasil rata-rata dideskripsikan mengenai pola DNA kerbau.
- Menghitung Frekuensi Alel Jumlah setiap alel pada keadaan

homozigot dapat dihitung dalam suatu cuplikan individu-individu dari populasi dan diekspresikan sebagai suatu prosentase dari jumlah alel total dalam cuplikan tersebut. jika cuplikan itu dapat mewakili seluruh populasi (artinya mengandung jumlah genotip yang sama seperti yang terdapat dalam seluruh populasi) maka dapat diperoleh suatu perkiraan dari frekuensi alel. Sesuai dengan Hartl (1998), frekuensi alel setiap lokus mikrosatelit dapat dihitung dengan rumus:

$$f(A) = \frac{A}{2n}$$

dimana :

f(A) = frekuensi alel ke-i

A = jumlah alel ke-i dalam lokus

n = jumlah individu yang diteliti (Hartl, 1998)

- c. Menghitung Nilai Heterozigositas  
Nilai keragaman genetik diukur dengan nilai rata-rata heterozigositas (h) pada semua lokus. Menurut Nei (1987), lokus polimorfik apabila frekuensi alel yang diperoleh adalah sama atau kurang dari 0,99. Nilai heterozigositas tersebut dihitung berdasarkan rumus:

$$h = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{k=1}^k P_i^2\right)$$

dimana :

h = heterozigo sitas lokus

P(i) = frekuensi alel lokus ke-i

n = jumlah individu yang diteliti

- d. Menghitung Nilai Polimorfisme (PIC) dalam setiap lokus  
Adapun rumusnya, yaitu :

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2 - \sum_{i=1}^k 2P_i^2 P_j^2$$

dimana :

Pi dan Pj = heterozigo sitas lokus

P(i) = frekuensi alel lokus ke-i

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap (tahap I dan II). Tahap I merupakan penelitian eksperimen untuk mengetahui variasi fenotip dan genotip dari kerbau. Penelitian tahap II, yaitu pengembangan multimedia yang berisimateri yang berhubungan dengan teknik yang dilakukan dalam penelitian tahap I.

### 1. Penelitian Tahap I (Deskriptif Eksploratif)

Hasil penelitian ini dibagi menjadi bagian, yaitu tentang variasi fenotip dan variasi genotip.

#### a. Variasi Fenotip

Sampel kerbau yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 16 ekor kerbau Jawa Timur yang terdiri dari 8 ekor kerbau Tuban dan 8 ekor kerbau Pacitan. Penentuan sampel kerbau dilakukan dengan teknik *random sampling*. Pengambilan sampel darah dilakukan oleh dokter hewan, sedangkan pengamatan fenotip dilakukan oleh sejawat peneliti dengan data fenotip yang dimiliki. Berikut hasil pengamatan terhadap fenotip yang dimiliki kerbau daerah Tuban disajikan pada Tabel 5 dan Tabel 6.

Tabel 5. Ciri Fenotip I Kerbau Tuban

Sampel kerbau	Bentuk Tubuh	Warna Tubuh	Warna mata
1	Gempal	Cokelat	Hitam
2	Gempal	Cokelat hitam	Hitam
3	Kurus	Cokelat	Hitam
4	Gempal	Cokelat hitam	Hitam
5	Gempal	Cokelat hitam	Hitam
6	Kurus	Cokelat hitam	Hitam
7	Kurus	Putih	Hitam
8	Gempal	Cokelat	Hitam

Berdasarkan Tabel 5 diketahui bahwa terdapat 5 kerbau yang memiliki bentuk tubuh gempal, dan 3 kerbau memiliki bentuk tubuh kurus. Warna tubuh yang dimiliki kerbau sampel juga berbeda. Terdapat 3 kerbau

memiliki warna tubuh cokelat, 4 kerbau memiliki warna tubuh cokelat kehitaman dan 1 kerbau memiliki warna putih. Sedangkan pada warna mata, seluruh sampel memiliki warna matahitam.

Tabel 6. Ciri Fenotip II Kerbau Tuban

Sampel Kerbau	UKURAN (Cm)						
	Panjang tanduk	Lingkar Dada	Tinggi Badan	Panjang Badan	Ukuran Kepala	Panjang Leher	Panjang Ekor
1	13	183	113	168	59	43	82
2	21	162	120	130	39	37	76
3	13	183	113	168	49	43	82
4	17	190	116	140	50	42	76
5	17	168	125	149	48	42	76
6	21	152	120	130	41	35	71
7	12	146	112	127	31	34	68
8	14	148	115	149	37	38	79

Berdasarkan Tabel 6, diketahui bahwa panjang tanduk kerbau berkisar antara 12 cm hingga 21 cm. Lingkar dada yang dimiliki kerbau berkisar antara 146 cm hingga 190 cm, tinggi badan yang dimiliki kerbau berkisar antara 112 cm hingga 125 cm, ukuran kepala sampel kerbau berkisar

31 cm hingga 59 cm, panjang leher kerbau berkisar 34 cm hingga 43 cm, sedangkan panjang ekor sampel kerbau berkisar antara 68 cm hingga 82cm. Hasil pengamatan terhadap fenotip yang dimiliki kerbau daerah Pacitan disajikan pada Tabel 7 dan Tabel 8.

**Tabel 7. Ciri Fenotip I Kerbau Pacitan**

Sampel Kerbau	UKURAN (cm)						
	Panjang tanduk	Lingkar Dada	Tinggi Badan	Panjang Badan	Ukuran Kepala	Panjang Leher	Panjang Ekor
1	17	220	145	193	41	50	92
2	13	220	140	124	50	52	89
3	17	223	135	166	56	31	78
4	8	180	110	141	54	41	73
5	17	220	145	176	50	50	82
6	6	202	114	187	44	59	72
7	13	220	140	134	48	52	80
8	11	172	128	134	45	54	77

Berdasarkan Tabel 7, diketahui ukuran panjang tanduk sampel kerbau pacitan berkisar antara 6 cm hingga 17 cm, lingkar dada berkisar antara 172 cm hingga 220 cm, tinggi badan berkisar antara 110 cm hingga 145 cm, panjang

badan berkisar antara 124 cm hingga 193 cm, ukuran kepala berkisar antara 41 cm hingga 56 cm, panjang leher berkisar antara 31 cm hingga 59 cm dan panjang ekor berkisar antara 72 cm hingga 92 cm.

**Tabel 8. Ciri Fenotip II Kerbau Pacitan**

Sampel Kerbau	Bentuk Tubuh	Warna Tubuh	Warna Mata
1	Gempal	Cokelat kekuningan	Hitam
2	Gempal	Cokelat Hitam	Hitam
3	Gempal	Cokelat	Hitam
4	Gempal	Cokelat kehitaman	Hitam
5	Gempal	Cokelat kekuningan	Hitam
6	Gempal	Cokelat hitam	Hitam
7	Gempal	Cokelat Hitam	Hitam
8	Kurus	Hitam	Hitam

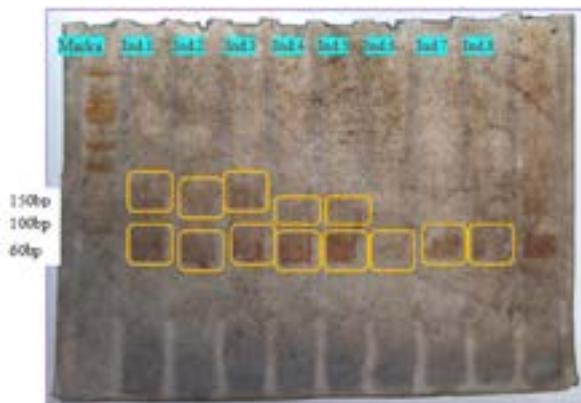
Berdasarkan Tabel 8, diketahui bahwa 7 kerbau pacitan memiliki bentuk tubuh gempal dan 1 kerbau memiliki bentuk tubuh kurus, 2 kerbau memiliki warna tubuh cokelat kekuningan, 4 kerbau memiliki warna cokelat kehitaman, 1 kerbau memiliki warna cokelat dan 1 kerbau memiliki warna hitam. Sedangkan warna mata yang dimiliki oleh kerbau seluruhnya memiliki warna mata hitam.

#### **b. Variasi Genotip**

##### 1) Hasil PCR dan Mikrosatelit

Data hasil penelitian didapatkan dari munculnya pita DNA mikrosatelit dari hasil PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada populasi kerbau Jawa Timur. Proses PCR dilakukan dengan menggunakan 2 jenis primer, yaitu HEL09 dan INRA023 dengan ukuran marka 100 bp. Hasil dari PCR kemudian di elektroforesis

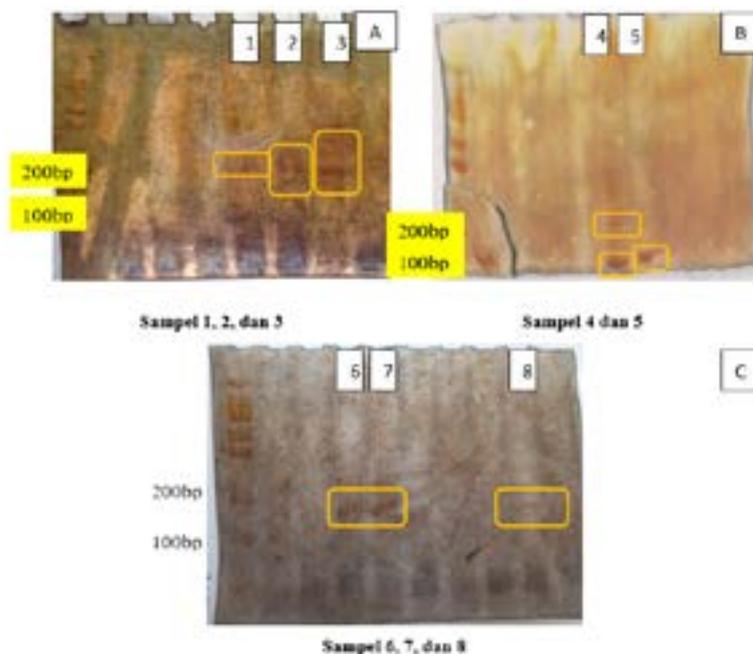
dengan menggunakan gel polyacrilamide serta dilanjutkan dengan pewarnaan *silver staining* untuk mengetahui munculnya pita DNA tersebut. Pita DNA yang muncul disebut dengan alel dari DNA. Berikut pita DNA yang muncul hasil dari pewarnaan *Silver Staining* dari sampel kerbau yang digunakan dalam penelitian.



Gambar 1. Pita (Alel) DNA hasil PCR dari 8 sampel kerbau daerah Pacitan dengan Primer 1 HEL09

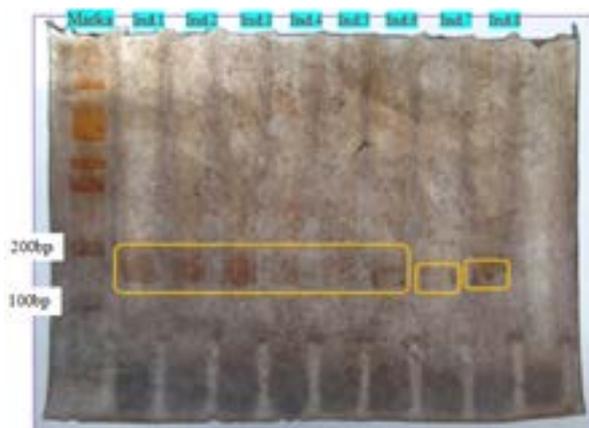
Berdasarkan Gambar 1, mengenai hasil pengamatan pada Gel polyacrilamide hasil pewarnaan *Silver Staining*, terlihat bahwa pada populasi kerbau daerah Pacitan dengan primer HEL09 pada kerbau sampel 1, 2, dan 3 memiliki alel heterozigot, dimana terdapat 2 alel yang nampak dengan ukuran masing-masing 60bp dan 150bp (ditunjukkan dengan garis kuning). Pada sampel 4 dan 5 juga heterozigot, tetapi memiliki ukuran masing-masing 60 bp dan 80 bp. Sedangkan pada sampel 6, 7, dan 8 merupakan alel homozigot, yang hanya nampak 1 alel dengan ukuran masing-masing 60 bp.

Sampel kerbau daerah Pacitan dengan primer 2, yaitu INRA 023, hasil elektroforesis ditunjukkan pada 3 gel polyacrilamide (A, B, dan C) Gambar 4.2 berikut.



Gambar 2. Pita (Alel) DNA hasil PCR dari 8 sampelkerbaudaerahPacitandengan Primer 2 INRA023

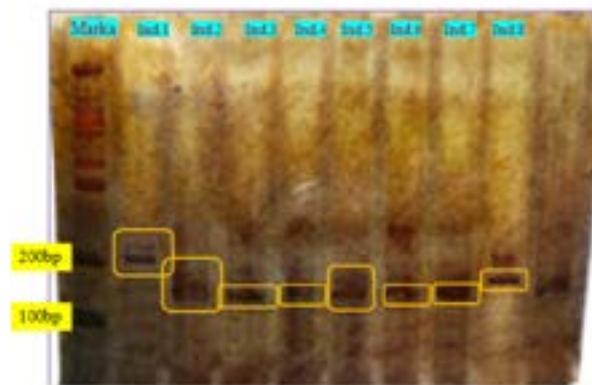
Berdasarkan Gambar 2 diketahui bahwa sampel kerbau dari daerah pacitan dengan primer 2 (INRA023), menunjukkan pada sampel 1 memiliki alel homozigot dengan ukuran 200 bp, sampel 2 dan 3 memiliki alel heterozigot dengan ukuran masing-masing 180 bp dan 200 bp. Pada sampel 4 memiliki alel heterozigot dengan ukuran 100 bp dan 200 bp, sedangkan sampel 5 memiliki alel homozigot dengan ukuran 100 bp. Pada sampel 6 dan 7 masing-masing memiliki alel heterozigot dengan ukuran 150 bp dan 160 bp, sedangkan sampel 8 memiliki alel homozigot dengan ukuran 150 bp. Sampel kerbau daerah Tuban dengan primer 1 (HEL09), hasil elektroforesis ditunjukkan pada Gambar 3 berikut



**Gambar 3** Pita (Alel) DNA hasil PCR dari 8 sampel kerbau daerah Tuban dengan Primer 1 (HEL09)

Berdasarkan gambar 3 diketahui bahwa sampel kerbau daerah Tuban dengan primer 1 (HEL09), sampel

1 hingga 6 memiliki alel heterozigot yang sangat rapat pada gel polyacrilamide dengan ukuran 150 bp dan 160 bp, sedangkan pada sampel 7 dan 8 memiliki alel homozigot dengan ukuran masing-masing 150 bp. Sampel kerbau daerah Tuban dengan Primer 2 (INRA023), hasil elektroforesis ditunjukkan pada Gambar 4 berikut.



**Gambar 4** Pita (Alel) DNA hasil PCR dari 8 sampel kerbau daerah Tuban dengan Primer 2 INRA023.

Berdasarkan Gambar 4, diketahui bahwa sampel kerbau daerah Tuban dengan Primer 2 (INRA023), pada sampel 1 dan 2 memiliki alel heterozigot dengan ukuran berturut-turut 200 bp dan 210 bp; 150 bp dan 160 bp. Pada sampel 3 dan 4 memiliki alel homozigot dengan ukuran masing-masing 150 bp, pada sampel 5 memiliki alel heterozigot dengan ukuran 150 bp dan 160 bp. Pada sampel 6, 7, dan 8 memiliki alel homozigot dengan sampel 6 dan 7 memiliki ukuran 150 bp, sedangkan sampel 8 memiliki ukuran 160 bp.

**c. Ekspresi Genotip**

1) Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil pengamatan produk PCR berupa pita (alel) DNA mikrosatelit pada populasi

kerbau Jawa Timur (*Bubalus bubalis*) dari wilayah Pacitan dan Tuban, maka diperoleh data yang disajikan pada Tabel 9.

**Tabel 9. Jumlah Alel Setiap Lokus Mikrosatelit Pada Populasi Kerbau Pacitan**

Wilayah	LOKUS	KERBAU	
		Jumlah Sampel yang di Uji	Jumlah Alel
Pacitan	HEL09	8	2
	INRA023	8	2
Tuban	HEL09	8	1
	INRA023	8	2

Berdasarkan Tabel 9 dapat dijelaskan bahwa sampel darah kerbau yang digunakan dari tiap daerah menggunakan 8 sampel kerbau. Pada pengamatan, diketahui kerbau daerah Pacitan memiliki 2 alel untuk masing-masing penggunaan primer HEL09 dan INRA023. Sedangkan pada sampel kerbau daerah Tuban menunjukkan adanya 1 alel yang muncul dari penggunaan primer HEL09, sedangkan

penggunaan primer INRA023 menunjukkan 2 alel.

**2. Hasil Analisis Data**

**a. Frekuensi Alel Lokus Mikrosatelit**

Penghitungan frekuensi alel tiap daerah dengan masing-masing primer secara lengkap disajikan pada Lampiran 4. Hasil analisis frekuensi alel pada populasi kerbau Pacitan dan Tuban secara ringkas disajikan pada Tabel 10.

**Tabel 10. Nilai Frekuensi Alel Setiap Lokus Mikrosatelit Pada Populasi Kerbau Pacitan dan Tuban.**

Lokus	Alel ( <i>Base pairs</i> )	Population	
		Pacitan	Tuban
HEL 9 (1)	60	0,69	0,00
	80	0,12	0,00
	150	0,19	0,625
	160	0,00	0,375
	100	0,19	0,00
INRA 023 (2)	150	0,25	0,63
	160	0,125	0,25
	180	0,125	0,00
	200	0,31	0,06
	210	0,00	0,06

Berdasarkan Tabel 10 di atas, didapat nilai frekuensi alel

kedua lokus mikrosatelit dari wilayah Pacitan berkisar antara

0,12 sampai 0,69, sedangkan nilai frekuensi alel kedua lokus mikrosatelit dari wilayah Tuban berkisar antara 0,06 sampai 0,63. Nilai frekuensi alel ini kemudian digunakan untuk menghitung nilai heterozigositas.

#### b. Heterozigositas Alel Mikrosatelit

Setelah diketahui nilai frekuensi alel, maka analisis dilanjutkan dengan penentuan nilai serta rata-rata heterozigositas. Nilai dan rata-rata heterozigositas populasi kerbau Pacitan disajikan pada Tabel 11.

**Tabel 11. Nilai dan Rataan Heterozigositas Populasi Kerbau Pacitan**

Lokus	Heterosigositas (h)%	
	<i>Observed</i> (pengamatan)	<i>Expected</i> (harapan)
HEL 09 (1)	62,5%	54%
INRA 023(2)	62,5%	88,4%
Rata-rata	62,5%	71,2%

Berdasarkan Tabel 11 menunjukkan adanya kesamaan nilai heterozigositas yang dimiliki hasil pengamatan (*observed*) alel pada gel dari populasi kerbau Pacitan dengan primer HEL09 dan INRA023. Nilai *observed heterozygosity* kedua lokus tersebut masing-masing sebesar, yaitu 62,5%. Sedangkan nilai harapan (*Expected*) terdapat perbedaan yaitu 54% untuk nilai dari lokus HEL09 dan 88,4% untuk nilai dari INRA023. Selanjutnya dilakukan pula analisis terhadap nilai dan rata-rata heterosigositas populasi kerbau Tuban. Ringkasan hasil analisis nilai dan rata-rata heterozigositas populasi kerbau Tuban disajikan pada Tabel 12.

**Tabel 12. Nilai Heterosigositas dan Rataan Heterosigositas Populasi Kerbau Tuban.**

Lokus	Heterosigositas (h)%	
	<i>Observed</i> (pengamatan)	<i>Expected</i> (harapan)
HEL 9 (1)	75%	55%
INRA 023 (2)	37,5%	60,96%
Rata-rata	56,25%	57,98%

Dari Tabel 12 menunjukkan adanya variasi nilai heterozigositas *observed* alel dalam populasi kerbau di Tuban. Nilai *observed heterozygosity* lokus HEL09 memiliki nilai heterozigositas tertinggi yaitu 75%, sedangkan lokus INRA023 memiliki nilai *observed heterozygosity* terendah sebesar 37,5% dan nilai rata-rata *observed heterozygosity* dari kedua lokus sebesar 56,25%. Nilai *expected* dari

lokus HEL09 didapatkan sebesar 55% sedangkan lokus INRA023 sebesar 60,96%. Nilai rata-rata *expected heterozygosity* dari kedua lokus sebesar 57,98%, sehingga terdapat keragaman genetik populasi kerbau lokal di daerah Tuban.

#### 3. Nilai PIC (*Polymorphic information content*)

Untuk mengetahui nilai polimorfisme dalam lokus maka

dapat dilakukan perhitungan nilai *polymorphisme information content*

(PIC). Nilai uji PIC populasi kerbau Pacitan disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil Uji PIC Populasi Kerbau Pacitan

Lokus	Persentase nilai PIC sampel ker-		Rata-rata
	Pacitan	Tuban	
HEL09	42%	36%	39%
INRA023	77%	53%	65%

Dari Tabel 13, nilai informasi polimorfik pada populasi kerbau Pacitan yang tertinggi pada lokus HEL09 (42%), sedangkan nilai informasi polimorfik terendah pada lokus INRA023 (77%), hal ini menunjukkan, bahwa lokus INRA023 lebih polimorfik dibandingkan lokus HEL09 untuk populasi kerbau daerah Pacitan. Sedangkan nilai informasi polimorfik populasi kerbau Tuban memiliki nilai 36% untuk lokus HEL09 dan memiliki nilai 53% untuk lokus INRA023. Hal ini menunjukkan, bahwa lokus INRA 023 lebih polimorfik dibandingkan lokus HEL09 dan rata-rata nilai informasi polimorfik dari kedua lokus tersebut adalah 39% untuk primer HEL09 dan 65% untuk Primer INRA023. Nilai informasi polimorfik berbanding lurus dengan jumlah alel dalam setiap lokusnya, semakin tinggi jumlah alel, maka nilai informasi polimorfik juga semakin tinggi.

Pembahasan hasil penelitian dibagi menjadi 2 bagian, yaitu tentang variasi fenotip dan genotip pada sampel kerbau yang digunakan dalam penelitian. Hasil penelitian tersebut adalah.

#### 4. Variasi Fenotip

Berdasarkan analisis data pada mengenai fenotip kerbau daerah Tuban (Tabel 4.1 dan 4.2) diketahui

bahwa terdapat 5 kerbau yang memiliki bentuk tubuh gempal, dan 3 kerbau memiliki bentuk tubuh kurus. Warna tubuh yang dimiliki kerbau sampel juga berbeda. Terdapat 3 kerbau memiliki warna tubuh cokelat, 4 kerbau memiliki warna tubuh cokelat kehitaman dan 1 kerbau memiliki warna putih. Pada warna mata, seluruh sampel memiliki warna mata hitam. Panjang tanduk kerbau berkisar antara 12 cm hingga 21 cm. Lingkar dada yang dimiliki kerbau berkisar antara 146 cm hingga 190 cm, tinggi badan yang dimiliki kerbau berkisar antara 112 cm hingga 125 cm, ukuran kepala sampel kerbau berkisar 31 cm hingga 59 cm, panjang leher kerbau berkisar 34 cm hingga 43 cm, sedangkan panjang ekor sampel kerbau berkisar antara 68 cm hingga 82 cm.

Sampel dari populasi kedua adalah Pacitan. Ukuran panjang tanduk sampel kerbau pacitan berkisar antara 6 cm hingga 17 cm, lingkar dada berkisar antara 172 cm hingga 220 cm, tinggi badan berkisar antara 110 cm hingga 145 cm, panjang badan berkisar antara 124 cm hingga 193 cm, ukuran kepala berkisar antara 41 cm hingga 56 cm, panjang leher berkisar antara 31 cm hingga 59 cm dan panjang ekor berkisar antara 72 cm hingga 92 cm. Hal ini membuktikan, bahwa pada setiap

individu terdapat perbedaan yang memunculkan adanya karakteristik tertentu sehingga disebut variasi.

Variasi merupakan ciri-ciri umum yang terdapat di dalam suatu populasi. Keragaman terjadi tidak hanya antar bangsa tetapi juga di dalam satu bangsa yang sama, antar populasi maupun di dalam populasi, di antara individu tersebut. Keragaman pada kerbau dapat dilihat dari ciri-ciri fenotip yang dapat diamati atau terlihat secara langsung, seperti tinggi, berat, warna dan pola warna tubuh, pertumbuhan tanduk dan sebagainya (Handiwirawan, 2010).

Riyanto (2010), mengungkapkan bahwa variasi yang ada dapat dilihat secara fenotip, namun lebih jelasnya adalah dengan mengetahui variasi tingkat genetik atau mengetahui perbedaan genotipnya. Untuk mengetahui perbedaan tingkat fenotip tentu dengan melakukan pengamatan terhadap morfologi kerbau serta melakukan pencatatan mengenai karakteristik yang dimiliki.

## 5. Variasi Genotip

Perbedaan karakteristik dalam setiap individu dimunculkan karena adanya sesuatu yang mengatur, baik dari dalam tubuh maupun yang mempengaruhi dari luar tubuh. Kerbau sampel memiliki perbedaan secara morfologi sehingga perbedaan tersebut juga terdapat pada karakteristik tingkat genotip. Penelitian mengenai variasi pada kerbau memanfaatkan primer yang memiliki sekuens tertentu dan sudah diketahui yang dimanfaatkan sebagai penanda. Salah satu penanda molekuler yang dapat dimanfaatkan dalam kegiatan identifikasi genetik adalah mikrosatelit (Andres, 2011).

Dalam penelitian ini digunakan dua lokus mikrosatelit, yaitu HEL09 dan INRA023. Lokus HEL 09 memiliki alel yang berbeda dengan primer INRA023. Secara keseluruhan, primer HEL09 memunculkan 1 alel untuk sampel kerbau daerah Tuban, sedangkan pada daerah Pacitan memunculkan 2 alel. Primer INRA023 memunculkan 2 alel untuk sampel kerbau dari daerah Pacitan serta Tuban. Berdasarkan nilai frekuensi alel yang diketahui, menunjukkan bahwa primer INRA023 memiliki variasi alel yang lebih tinggi daripada primer HEL09. Hal ini ditunjukkan dengan lebih banyaknya variasi ukuran alel yang nampak pada gel. Alel yang diketahui dari hasil penelitian ini menunjukkan adanya variasi alel. Jumlah alel pada gel poliacrylamide menunjukkan adanya heterozigositas dari tiap individu satu dengan yang lain yang kemungkinan diturunkan dari individu sebelumnya. Penurunan variasi genetik ditentukan oleh lokus polimorfik, heterozigositas dan jumlah alel perlokus (Permana, 2001).

Individu sampel disebut homozigot jika pita DNA atau alel yang nampak pada gel polyacrilamide hanya satu, dan individu sampel disebut heterozigot jika muncul dua pita DNA dalam satu sumuran. Hal ini sejalan dengan (Meiga dan Djuita, 2010), bahwa jumlah satu pita menunjukkan alel homozigot, sedangkan jika berjumlah dua pita, maka menunjukkan alel heterozigot. Hal ini tergantung dari penanda atau lokus yang digunakan. Suatu penanda sangat informatif untuk mempelajari kekerabatan jika terdapat individu yang dipilih secara acak dan cenderung heterozigot untuk suatu penanda tersebut (Hildebrand *et al*, 1992).

Variasi kerbau dalam penelitian ini ditunjukkan dari jumlah alel yang muncul serta ukuran alel yang berbeda. Penanda bersifat dominan, yaitu tidak dapat membedakan individu yang homozigot dan heterozigot, sedangkan penanda kodominan dapat membedakan individu yang homozigot dan heterozigot. Interpretasi alel terletak pada pemunculan atau tidak munculnya pita DNA (IPB, 2011).

Berdasarkan Tabel 4.6 di atas, didapat nilai frekuensi alel kedua lokus mikrosatelit dari wilayah Pacitan berkisar antara 0,12 sampai 0,69, sedangkan nilai frekuensi alel kedua lokus mikrosatelit dari wilayah Tuban berkisar antara 0,06 sampai 0,63.

Nilai heterozigositas hasil pengamatan (*observed*) alel dari populasi kerbau Pacitan dengan primer HEL09 dan INRA023 memiliki kesamaan, nilai kedua lokus tersebut masing-masing sebesar 62,5%. Nilai harapan (*expected*) terdapat perbedaan yaitu 54% untuk nilai dari lokus HEL09 dan 88,4% untuk nilai dari INRA023. Nilai *observed heterozigositas* alel dari populasi kerbau Tuban lokus HEL09 memiliki nilai heterozigositas tertinggi yaitu 75%, sedangkan lokus INRA023 memiliki nilai *observed heterozigositas* terendah sebesar 37,5%. Nilai *expected* dari lokus HEL09 didapatkan sebesar 55%, sedangkan lokus INRA023 sebesar 60,96%. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat keragaman genetik populasi kerbau lokal di daerah Tuban.

Nilai informasi polimorfik pada populasi kerbau Pacitan yang tertinggi pada lokus INRA023 (77%), sedangkan nilai informasi polimorfik terendah pada lokus HEL09 (42%). Hal ini menunjukkan, bahwa

lokus INRA023 lebih polimorfik dibandingkan lokus HEL09 untuk populasi kerbau daerah Pacitan. Nilai informasi polimorfik populasi kerbau Tuban memiliki nilai 36% untuk lokus HEL09 dan memiliki nilai 53% untuk lokus INRA023. Hal ini juga menunjukkan, bahwa lokus INRA023 lebih polimorfik dibandingkan lokus HEL09 pada daerah Tuban. Rata-rata nilai informasi polimorfik dari kedua lokus tersebut adalah 39% untuk primer HEL09 dan 65% untuk Primer INRA023. Nilai informasi polimorfik berbanding lurus dengan jumlah alel dalam setiap lokusnya, semakin tinggi jumlah alel, maka nilai informasi polimorfik juga semakin tinggi. Penanda dengan jumlah alel yang sangat besar cenderung memiliki nilai PIC lebih tinggi, sehingga akan lebih bersifat informatif (Robert, 2005).

*Polimorfisme Information Content* dari marker adalah kemungkinan bahwa penanda genotip dari keturunan orang tua heterozigot yang dipengaruhi oleh penyakit dominan yang memungkinkan seseorang untuk menyimpulkan penanda alel mana yang diwariskan dari orang tua pada keturunannya. PIC juga dapat dikatakan sebagai ukuran dari kegunaan penanda untuk analisis kekerabatan (Robert, 2005). PIC biasanya digunakan dalam genetika sebagai ukuran polimorfisme untuk penanda yang digunakan dalam analisis hubungan atau keterkaitan (Shete *et al*, 2000).

Berdasarkan kedua populasi serta kedua lokus yang digunakan dalam penelitian diketahui, bahwa nilai PIC selalu dibawah atau lebih rendah dari nilai heterozigositas (Lampiran 4). Heterozigositas merupakan kemungkinan bahwa setiap individu yang dipilih secara acak adalah

heterozigot untuk setiap 2 alel pada lokus penanda yang memiliki frekuensi alel. Nilai PIC akan selalu lebih rendah dari heterozigositas dan dapat dianggap sebagai heterozigositas yang dikoreksi dari sebagian informasi perkawinan (Robert, 2005).

Suatu lokus harus bersifat polimorfik, sehingga dapat menunjukkan variasi genetik. Suatu informasi dapat dihitung secara kualitatif dengan statistik atau perhitungan yang disebut dengan PIC (*Polimorphisme Information Content*). Perhitungan ini dapat mendefinisikan secara relatif jenis silsilah tertentu. Suatu keturunan dikatakan informatif jika kita dapat menyimpulkan dari genotip, dimana alel penanda dihubungkan pada kromosom yang sama (Hildebrand, 1992).

Munculnya fenotip kerbau berhubungan dengan genotip yang dimiliki. Fenotip yang muncul tidak seluruhnya ditentukan oleh genotip karena dipengaruhi banyak faktor, salah satunya adalah lingkungan. Pada dasarnya setiap individu makhluk hidup memiliki perbedaan meskipun terlihat sama. Khususnya pada penelitian ini menggunakan hewan berupa kerbau (*Bubalus bubalis*). Perbedaan yang dimiliki oleh kerbau tiap daerah disebabkan kondisi lingkungan daerah yang berbeda sehingga memunculkan adanya variasi (Riyanto, 2010).

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data serta pembahasan dalam penelitian ini didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat variasi atau perbedaan fenotip pada kerbau Jawa Timur, antara populasi Kerbau Pacitan dan

populasi Kerbau Tuban berdasarkan ciri morfologi yang memiliki perbedaan dalam pengamatan. Perbedaan tersebut meliputi bentuk tubuh, warna tubuh, warna mata, panjang tanduk, lingkaran dada, tinggi badan, panjang badan, ukuran kepala, panjang leher, serta panjang ekor.

2. Terdapat variasi genetik atau perbedaan genotip pada Kerbau Pacitan dan Tuban berdasarkan munculnya pita (alel) DNA yang bervariasi pada gel polyacrilamide setelah pewarnaan *Silver Staining* serta perhitungan meliputi frekuensi alel, nilai heterozigositas, dan *Polimorphic Information Content* (PIC).
3. Nilai frekuensi alel untuk kedua lokus, yaitu HEL09 (primer1) dan INRA023 (Primer2) terdapat perbedaan. Primer 1 menunjukkan nilai 0,12 sampai 0,69, sedangkan primer 2 menunjukkan nilai 0,06 sampai 0,63.
4. Nilai rata-rata heterozigositas hasil pengamatan pada kedua lokus HEL09 dan INRA 023 pada populasi Kerbau Pacitan sebesar 63% sedangkan pada populasi Kerbau Tuban sebesar 56,25%.
5. Nilai PIC untuk daerah Pacitan dengan primer HEL09 sebesar 42% dan Primer INRA023 sebesar 77%. Sedangkan untuk daerah Tuban dengan primer HEL09 sebesar 36% dan primer INRA023 sebesar 53%, sehingga primer INRA023 lebih

polimorfik daripada HEL09 dan dapat menjelaskan adanya variasi.

## SARAN

Saran yang dapat diberikan setelah dilaksanakan penelitian ini antara lain:

1. Pemilihan sampel uji sebaiknya benar-benar ditentukan jumlah minimal untuk bisa dijadikan perhitungan dalam rumus.
2. Pengenalan dan pelatihan serta pembimbingan berbagai teknik yang sangat tinggi diperlukan sebelum benar-benar melaksanakan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Andres, J. 2011. *Identifikasi Keragaman Genetik Kerbau (Bubalus bubalis) Lokal Madiun berbasis Mikrosatelit sebagai Bahan Penyusunan Bahan Ajar Biologi di Sekolah Menengah Atas (SMA)* (Tesis). Malang: Universitas Negeri Malang. Program Pascasarjana. Program Studi Pendidikan Biologi.

Azrai, M. 2005. Pemanfaatan Markah Molekuler dalam Proses Seleksi Pemuliaan tanaman, *AgroBiogen* 1(1): 26-37.

Dudi, 2007. *Peningkatan Produktivitas Kerbau Lumpur (Swamp Buffalo) di Indonesiamelalui Kegiatan Pemuliaan Ternak Berkelanjutan* (Online), (<http://www.google.com/l?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=7&cad=rja&sqi=2&ved=0CFAQFjAG&url=http%3A%2F%2F>

[www.nuffieldbioethics.org/report/pdf/ei=7WHjUejpL8TwrQfl\\_YGoDw&usq=AFQjCNFJ\\_FNmWKew&bvm=bv.48705608,d.bmk](http://www.nuffieldbioethics.org/report/pdf/ei=7WHjUejpL8TwrQfl_YGoDw&usq=AFQjCNFJ_FNmWKew&bvm=bv.48705608,d.bmk), diakses Juli 2013).

Hartl, D.L. 1998. *A primer Of Population Genetics, Second Edition*. USA: Sinauer Associate, inc.

Hasinah, H. & Handiwirawan, E. 2010. *Keragaman Genetik Ternak Kerbau di Indonesia*. Makalah disajikan dalam Lokakarya Nasional Usaha Ternak Kerbau Mendukung Program Kecukupan Daging Sapi. Bogor 2006.

Hidayati, Nurkhairo. 2001. *Perbandingan Variasi Genetik Kerbau Lokal Riau dan Kerbau Lokal Sumatera Barat Berbasis Mikrosatelit Sebagai Bahan Ajar Mata Kuliah Genetika*. Tesis tidak diterbitkan.

Hildebrand, Carl E., Torney, David C., and Wagner, Robert P. 1992. *Mapping the Genome: Informativeness of Polymorphic DNA Markers*, 20: 100-102.

Ibrahim, L. 2008. Produksi Susu, Reproduksi dan Manajemen Kerbau Perah Sumatera Barat, *Jurnal Peternakan* 5(1): 1-9.

IPB, 2009. *Kerbau*. (Online), ([http://www.google.com/l?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&ved=0CEMQFjAC&url=http%3A%2F%2Frepository.ipb.%2Fdaftar%2520Pustaka.g=AFQjCNEXfm1bkR7hcf\\_R\\_sRORB-](http://www.google.com/l?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&ved=0CEMQFjAC&url=http%3A%2F%2Frepository.ipb.%2Fdaftar%2520Pustaka.g=AFQjCNEXfm1bkR7hcf_R_sRORB-)

- Um3bUw&bvm=bv.42553238,d.bmk, diakses Desember 2012).
- Meiga, R. & Djuita, N. R. 2010. *Deteksi Integritas Genomik Pisang Hasil Iradiasi In Vitro berdasarkan Penanda Mikrosatelit*. Makara, Sains Vol. 14 No. 2: (151-157).
- Nopri, H. 2013. *Gambaran Umum Kerbau*. (Online), (<http://peternakan-domba-kambing-sapi-kerbau.blogspot.com/2010/03/gambaran-umum-kerbau.html>, diakses Maret 2013).
- Nuraida, D. 2012. *Analisis Variasi Genetik Varietas Unggul Kapas Gossypium hirsutum sebagai Materi Penyusun Buku Pengayaan Biologi*. Disertasi, Program Studi Pendidikan Biologi, Program Pascasarjana Universitas Negeri Malang.
- Permana. 2001. *Teknik Analisis Biologi Molekuler*. UB: Malang.
- Riyanto. 2010. *Identifikasi Variasi Genetik Kerbau Lokal Jawa Timur (Bubalus Bubalis) dari Wilayah yang Berbeda berbasis Mikrosatelit sebagai Pengembangan Bahan Ajar Mata Kuliah Genetika*. Tesis tidak diterbitkan.
- Roefiq, A. 2002. *Metodologi Penelitian*. FKIP UMM Press, Malang.
- Robert, C. Elston. 2005. *Encyclopedia of Biostatistics*. (Online), (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0470011815.b2a05078/abstract> diakses Juli, 2013)
- Rukmini. 2010. *Identifikasi Variasi Genetik Kerbau (Bubalus bubalis) Lokal Aceh Besar Berbasis Mikrosatelit sebagai Petunjuk Praktikum Matakuliah Teknik Analisis Biologi Molekuler*. Tesis, tidak diterbitkan.
- Shete S., Tiwari H., Elston RC. 2000. *On Estimating the heterozigosity and polymorphism information content value*. (Online), (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10828218>, diakses Juli 2013).
- Sukri, Akhmad. 2011. *Identifikasi Variasi Genetik Kerbau Lokal (Bubalus Bubalis) Lombok Tengah Nusa Tenggara Barat, Berbasis Mikrosatelit sebagai Bahan Ajar Mata Kuliah Genetika*. Tesis tidak diterbitkan.
- Sumantri, C., Farajallah A., Fauzi, U., dan Salamena, J. F. 2008. *Keragaman Genetik DNA Mikrosatelit dan Hubungannya dengan Performa Bobot Badan pada Domba Lokal*. *Media Peternakan* (31)1 : 1-13.
- Susilawati, E. & Bustami. 2008. *Pengembangan Ternak Kerbau di Provinsi Jambi*. Makalah disajikan dalam Seminar dan Lokakarya Nasional Usaha Ternak Kerbau. Jambi 2008.