

TEKNOLOGI ANALISIS DNA DALAM PENGUATAN STRATEGI KONSERVASI GENETIK SAPI LOKAL INDONESIA

Aris Winaya

Invited Speaker

Fakultas Pertanian Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang

Corresponding Author Email: winaya@umm.ac.id

Abstrak. Konservasi genetik berfokus pada keragaman genetik dan keragaman filogenetik yang mengacu pada kelompok gen atau sumber keragaman genetik lainnya. Identifikasi dan rekaman keragaman genetik sapi lokal Indonesia masih belum secara umum mendasarkan pada teknologi DNA ini. Padahal teknik ini diakui mampu secara ketat mendiskriminasi perbedaan sekuen DNA. Hasil penelitian sebelumnya dengan menggunakan penciri DNA mikrosatelit, gen *cyt b*, maupun SNIP's mampu menunjukkan adanya variasi genetik maupun hubungan filogenetik sapi-sapi lokal Indonesia. Jadi, jika aplikasi teknologi analisis DNA dilakukan secara terstruktur dan terorganisir dengan baik, maka akan sangat membantu dalam upaya merekam variasi genetik sapi-sapi lokal Indonesia dan sekaligus dapat dimanfaatkan untuk strategi konservasi secara *in-situ*.

Kata kunci: *cyt b*, DNA, genetik, konservasi, sapi

TECHNOLOGY OF ANALYSIS DNA IN STRENGTHENING GENETIC CONSERVATION STRATEGY ON INDONESIA LOCAL CATTLE

Abstract. Genetic conservation focuses on genetic diversity and phylogenetic diversity that refers to groups of genes or other sources of genetic diversity. The identification and recording of the genetic diversity of Indonesia local cattle are still not based on this DNA technology. While this technique is acknowledged to be able to discriminate of the differences in DNA sequences strictly. The previous study by using microsatellite DNA marker, *cyt b* gene, and SNIP's can show the genetic variation and phylogenetic relationship of Indonesia local cattle. Thus, if the application of DNA analysis technology is structured and well organized, it will be helpful in recording the genetic variation of Indonesia local cattle as well as utilized for in-situ conservation strategies

Keywords: conservation, cattle, *cyt b*, DNA, genetics

PENDAHULUAN

Keragaman dan jumlah populasi sumberdaya hayati (SDGH) Indonesia telah dikenal dunia, bahkan luas hutan hujan tropis Indonesia sebagai habitat utama biota menduduki urutan ke 3 dunia setelah Amazon di Amerika Selatan dan Congo Basin di Afrika. Meskipun luas wilayah Indonesia hanya sekitar 1 % dari total luas daratan di bumi, namun memiliki kekayaan sekitar 10 % spesies tanaman, 12 % spesies mamalia dan 17 % spesies burung terkenal di dunia (RAN, 2017). Khusus kekayaan hayati fauna, di Indonesia terdapat salah satu tetua atau nenek moyang spesies hewan sapi (*bovidae*) di dunia, yakni Banteng (*Bos javanicus* d'Alton, 1823). Banteng saat ini juga telah masuk dalam daftar hewan yang rawan punah sehingga harus dilindungi dalam status daftar merah (*red list*) IUCN (2005). Dari hasil domestikasi Banteng inilah maka diduga beberapa sapi lokal Indonesia berkembang menjadi beberapa rumpun bangsa sapi asli Indonesia, seperti sapi Bali yang diduga kuat merupakan hasil domestikasi dari Banteng. Selain sapi Bali yang diduga keturunan terdekat Banteng, di Indonesia terdapat pula beberapa rumpun bangsa sapi lain yang diduga merupakan keturunan dari berbagai bangsa sapi terkenal di dunia, yakni keturunan dari bangsa *Bos Indicus* maupun *Bos Taurus*, seperti sapi Peranakan Ongole (PO) maupun sapi Madura yang

membawa gen pada kromosom Y dari bangsa sapi zebu. Sehingga, sapi-sapi lokal Indonesia menjadi menarik untuk dipelajari secara genetik karena diduga merupakan campuran (*admixture*) gen dari beberapa bangsa sapi yang ada di dunia.

Tahun 2010 telah dinyatakan sebagai Tahun Internasional Keanekaragaman Hayati oleh Organisasi Pangan dan Pertanian Dunia (FAO). Pada tahun tersebut, ditandai upaya untuk meningkatkan kesadaran akan peran manusia dalam mempertahankan kehidupan di bumi serta kontribusi mata pencaharian dan budaya manusia di seluruh dunia sebagai sarana untuk pengelolaan keanekaragaman hayati di sektor peternakan secara berkelanjutan. Pada tahun 2010 itu pula merupakan tahun ketiga sejak diadopsinya Rencana Aksi Global untuk Sumber Daya Genetik Hewan (SDGH) atau *Global Plan of Action for Animal Genetic Resources*. Kegiatan yang diselenggarakan oleh FAO ini ditetapkan pula adanya aksi dengan 4 bidang prioritas strategi dalam kerangka kerja manajemen yang disetujui secara internasional untuk SDGH (*Animal Genetic Resources / AnGR*). Empat bidang prioritas strategis tersebut diantaranya : 1) Karakterisasi, inventarisasi dan pemantauan kecenderungan (*trend*) serta resiko yang terkait. Kegiatan ini menyediakan pendekatan yang konsisten, efisien dan efektif untuk pelaksanaan klasifikasi SDGH dan untuk mengetahui hal-hal yang sedang tren dan resiko yang ditimbulkan terkait dengan SDGH; 2) Pemanfaatan berkelanjutan dan pembangunan. Kegiatan ini dilakukan untuk memastikan keberlanjutan sistem produksi ternak dengan fokus pada keamanan pangan dan pembangunan pedesaan; 3) Konservasi. Kegiatan ini difokuskan pada langkah-langkah yang diperlukan untuk melakukan preservasi keragaman genetik dan integritas untuk keuntungan bagi generasi sekarang dan masa mendatang; dan 4) Kebijakan, kelembagaan dan pengembangan kapasitas. Kegiatan ini ditujukan langsung pada pertanyaan kunci dari pelaksanaan praktis melalui pembangunan yang saling berhubungan dan bersinergi antar kelembagaan tertentu dan kapasitas yang tersedia (Hoffmann & Scherf, 2010).

Beberapa negara telah atau sedang dalam proses peninjauan dan menyelaraskan kerangka legislatif mereka untuk diwujudkan dalam Rencana Aksi Global, seperti Bangladesh, Belgia, China, Kroasia, Republik Cheska, Jerman, Yunani, Hungaria, India, Italia, Montenegro, Filipina, Serbia, Slowakia, Slovenia, Spanyol, Swiss, Thailand, Ukraina dan Inggris. Bahkan Cina telah menyusun rencana nasional lima tahunan ke-12 (2011-2015), yang mencakup rencana strategis untuk konservasi dan pemanfaatan berkelanjutan SDGH (Hoffmann & Scherf, 2010).

Evaluasi terbaru tentang status SDGH untuk pangan dan pertanian secara global menunjukkan bahwa 9 % dari bangsa sapi yang dilaporkan ke Organisasi Pangan dan Pertanian dunia (FAO) sudah punah dan 21 % diklasifikasikan berisiko (FAO, 2009). Sekitar 36 % dari bangsa sapi di dunia memiliki status risiko yang tidak jelas karena kurangnya data populasi. Karena peran yang banyak dan nilai strategis dari SDGH serta kontribusinya dalam ketahanan pangan, mata pencaharian, pembangunan pedesaan, serta struktur budaya, sosial dan keagamaan masyarakat pedesaan, maka pencegahan terhadap erosi SDGH ini memerlukan tindakan segera. Pentingnya mempertahankan keragaman hayati hewan ini ditekankan dalam Rencana Aksi Global untuk Sumber Daya Genetik Hewan (*Global Plan of Action for Animal Genetic Resources*), yang diadopsi oleh negara-negara anggota FAO pada tahun 2007 (FAO, 2007).

Indonesia sebagai salah satu negara yang juga mengadopsi Deklarasi Interlaken ini, maka telah dituangkan juga kebijakan dan program pembangunan sub sektor peternakan secara berkelanjutan dalam suatu bentuk *draft* atau konsep tentang Strategi Nasional dan Rencana Aksi (SNRA) dari SDGH untuk Pangan dan Pertanian Nasional (Balitbangtan, 2014). Konsep SNRA secara umum juga mengadopsi empat bidang prioritas utama dari Deklarasi Interlaken

tersebut. Empat bidang prioritas utama SNRA yang menjadi pertimbangan SDGH di Indonesia meliputi: (1) Karakterisasi, inventarisasi dan monitoring perkembangan terkait dengan risiko kepunahan SDGH; (2) Pemanfaatan berkelanjutan dan pengembangan; (3) Konservasi; serta (4) Kebijakan, kelembagaan dan pengembangan kapasitas.. Oleh karena itu, upaya memanfaatkan keanekaragaman hayati hewan untuk meningkatkan produksi dan ketahanan pangan saat ini telah menjadi hal yang mendesak. Sebab, banyak bangsa (*breed*) hewan yang berharga terus beresiko menurun populasinya, bahkan punah. Sehingga, diperlukan usaha yang lebih keras dan strategi yang tepat untuk penggunaan SDGH yang berkelanjutan.

PENTINGNYA KEANEKARAGAMAN HAYATI HEWAN

Keanekaragaman genetik hewan atau ternak adalah suatu syarat atau kondisi yang diperlukan dalam menghadapi tantangan di masa depan. Sebab, di masa mendatang kondisi lingkungan global bukanlah bertambah baik, melainkan cenderung semakin memburuk. Oleh karena itu, keanekaragaman SDGH akan berfungsi dalam menyediakan sumberdaya genetik agar mampu menyesuaikan atau beradaptasi terhadap perubahan dan tantangan lingkungan yang makin memburuk tersebut. Disamping adanya tuntutan lain, seperti permintaan konsumen dalam hal kebutuhan pangan yang aman. Tantangan lain yang juga diperkirakan akan muncul di kondisi mendatang diantaranya adalah kemunculan penyakit baru, cekaman tinggi pada tanah dan air, serta pergeseran permintaan pasar yang cenderung ketat terhadap mutu. Oleh karenanya, sangat penting untuk memastikan tentang model pelestarian SDGH dan penggunaannya yang secara berkelanjutan. Pemerintah Indonesia dalam hal ini selaku penentu kebijakan, hendaknya secara terintegrasi harus terus menerus meningkatkan upaya-upaya strategis dalam menghentikan erosi genetik dan mengelola plasma nutfah ternak nasional secara berkelanjutan.

Indonesia maupun negara-negara Asia sebenarnya telah memiliki pengalaman beternak sapi selama ribuan tahun. Sehingga peternak sapi di Asia telah dikenal memiliki peranan yang sangat penting dalam proses domestikasi maupun ekologi pertanian di permukaan bumi ini. Hal ini dapat dibuktikan dengan banyaknya *breed* sapi yang berkembang di wilayah Asia. Misal India, hingga saat ini masih merupakan negara yang memiliki populasi sapi terbesar di Asia bahkan dunia (Tabel1). Populasi sapi di India per tahun 2017 mencapai 68,7 juta ekor dan Cina di peringkat kedua sebanyak 50,9 juta ekor. Sedangkan peringkat ke 3 dan 4 diduduki Brazil (49,5 juta) dan Amerika Serikat (37,1 juta) (Indexmundi, 2017).

Tabel 1. Peringkat jumlah populasi sapi dunia

No.	Negara	Produksi (1000 ekor)
1	<u>India</u>	68,700.00
2	<u>China</u>	50,900.00
3	<u>Brazil</u>	49,500.00
4	<u>United States</u>	37,100.00
5	<u>EU-27</u>	30,080.00
6	<u>Argentina</u>	14,800.00
7	<u>Australia</u>	10,000.00
8	<u>Mexico</u>	7,580.00
9	<u>Russian Federation</u>	6,400.00
10	<u>New Zealand</u>	4,900.00

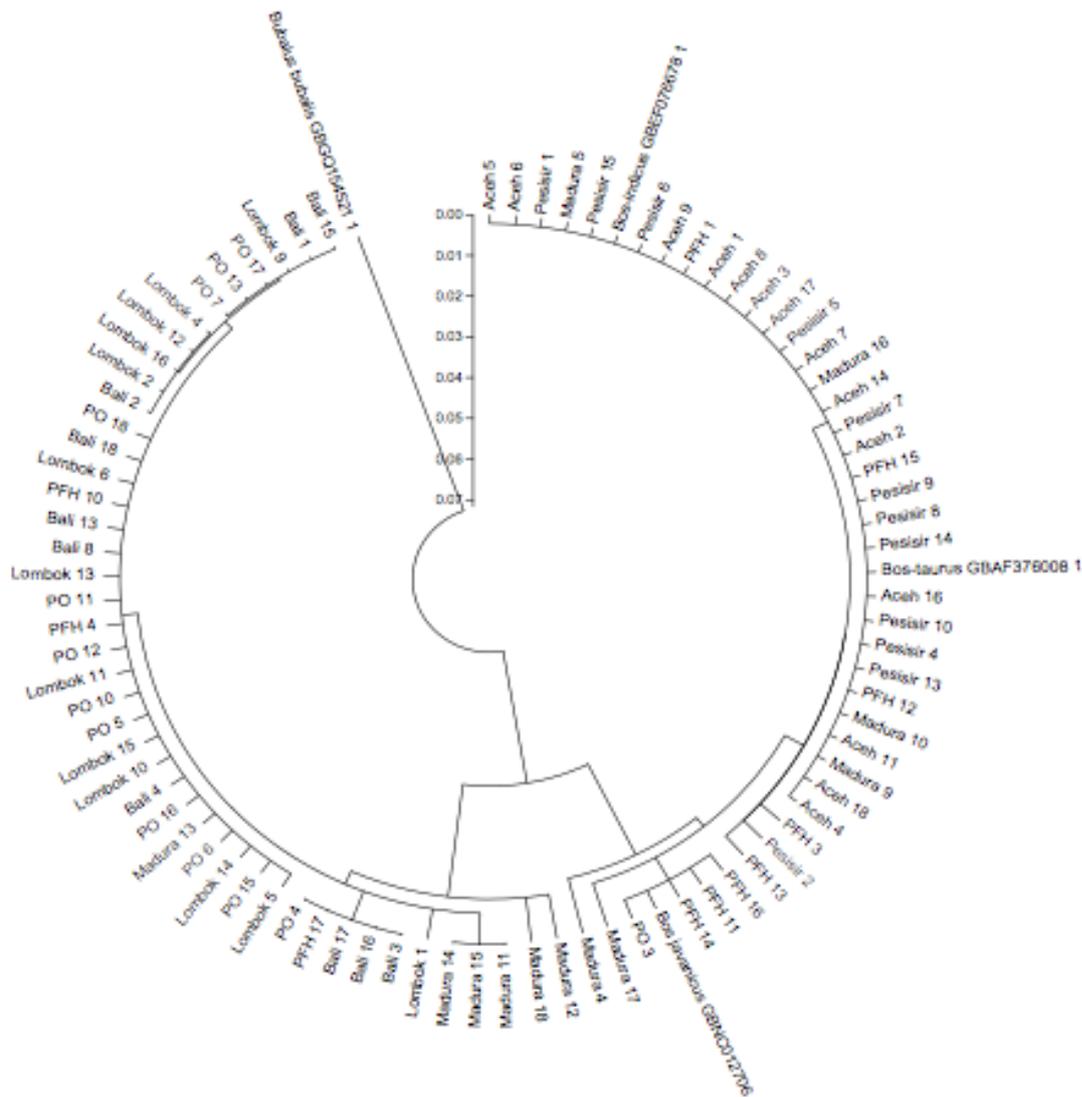
Sumber : indexmundi (2017) <http://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=cattle>

Jadi, sangat wajar jika keanekaragaman genetik merupakan salah satu kemampuan dari suatu bangsa (*breed*) atau populasi bangsa ternak untuk dapat beradaptasi terhadap variasi kebutuhan hidup manusia. Sehingga, adanya variasi genetik pada sapi-sapi lokal, termasuk sapi lokal Indonesia akan mengarah pula pada kemampuan *breed* beradaptasi terhadap lingkungannya. Lebih jauh lagi, keanekaragaman genetik SDGH akan memberikan kontribusi terhadap sifat-sifat heterosis pada sapi-sapi lokal tersebut. Hal ini penting karena kebutuhan sumber genetik di masa depan tidak terduga, sehingga perlu digunakan kriteria-kriteria khusus atau khas sebagai penciri bangsa sapi. Demikian pula untuk sapi lokal Indonesia, maka penciri atau penanda genetik ini akan dapat digunakan sebagai model konservasi genetik *in-situ* sebagai pembeda dalam penentuan taksonominya. Beberapa strategi konservasi sapi-sapi lokal Indonesia sudah diterapkan oleh pemerintah, namun hampir semua menggunakan pendekatan kuantitatif maupun *ex-situ*. Oleh karenanya, perlu pendekatan strategi konservasi yang dapat disnergikan dengan strategi kuantitatif, yakni strategi kualitatif yang menggunakan teknik molekuler atau teknologi DNA. Sebab, hingga saat ini teknologi ini diakui memiliki keakuratan dan tingkat diskriminasi yang lebih baik.

Beberapa studi sebelumnya yang mempelajari keanekaragaman hayati sapi Indonesia juga telah dilakukan. Hasil studi diantaranya menunjukkan bahwa leluhur atau nenek moyang sapi-sapi di Indonesia dapat ditelusur dengan menggunakan beberapa teknik pendekatan kualitatif atau berbasis DNA. Namun, teknik pendekatan ini masih jarang dilakukan untuk studi spesifikasi bangsa sapi-sapi asli maupun lokal yang ada di Indonesia. Beberapa studi awal analisis genetik sapi-sapi lokal Indonesia dengan menggunakan marker biokimia yang telah dipublikasikan oleh Namikawa *et al.*, (1980), berdasarkan golongan darah dan protein, kemudian protein darah dan enzim (Namikawa *et al.*, 1982a), serta berdasarkan komposisi

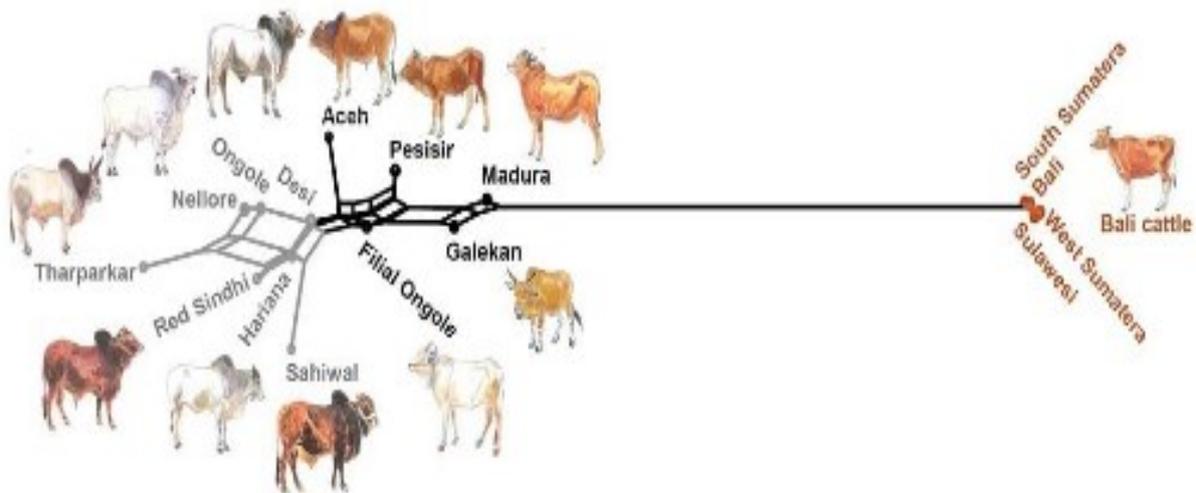
asam amino rantai β dari haemoglobin X (Namikawa *et al.*, 1982b). Hasilnya menunjukkan bahwa sapi Bali memiliki spesifikasi, yakni adanya alel HbX pada golongan darahnya sedangkan sapi lokal lain tidak. Pada sapi Peranakan Ongole (PO), sangat dominan karakter genetiknya dari bangsa sapi zebu.

Studi oleh penulis (Winaya 2010), dengan menggunakan penciri genetik DNA mikrosatelit dan gen *cytochrome b*, menunjukkan adanya variasi genetik dan hubungan kekerabatan pada beberapa bangsa sapi lokal Indonesia, seperti sapi Bali, Madura, Pesisir, Aceh dan Peranakan Ongole (PO).



Gambar 1. Hubungan kekerabatan genetik berbasis gen *cytochrome b* dari mitokondria DNA beberapa sapi lokal Indonesia (Winaya, 2010).

Demikian pula studi oleh Mohamad *et al.*, (2009), yang mempelajari silsilah beberapa sapi lokal Indonesia menunjukkan bahwa sapi-sapi lokal di Indonesia memiliki aliran gen dari Banteng, disamping itu, terdapat pula masuknya beberapa genetik sapi-sapi *Bos Indicus* maupun *Bos Taurus*. Menggunakan uji PCR-RFLP, maka sampel sapi Aceh dan Pesisir memiliki DNA mitokondria (mtDNA) dari zebu, sedangkan dari jalur maternal kedua spesies tersebut diwakili oleh sapi Peranakan Ongole (PO). Hasil dari dua studi sebelumnya oleh Kikkawa *et al.*, (1995), juga diketahui bahwa mtDNA Banteng telah ditemukan pada 20 dari 26 sampel dan terdapat enam dari tujuh sapi PO (Kikkawa *et al.*, 2003). Mitokondria DNA Banteng juga ditemukan masing-masing sebesar 56% dan 94% pada sampel sapi Madura Jawa Timur dan Galekan. Sedangkan sapi Bali dari lima lokasi berbeda di tiga pulau hampir secara eksklusif membawa mtDNA Banteng, sedangkan dari mtDNA zebu ditemukan hanya 1 dari 125 sampel sapi. (Mohamad *et al.*, (2009). Hal yang menarik bahwa dengan penciri pada Y-kromosom sebagai pelacak garis keturunan ayah, ternyata tidak sepenuhnya paralel dengan hasil mtDNA atau jalur maternal. Hampir semua jantan sapi zebu membawa secara eksklusif Y-kromosomnya, termasuk yang ditemukan pada keturunan sapi Galekan di Jawa Timur dan sapi Madura. Meskipun, ada dua ekor sapi Madura, pada urutan segmen gen ZFY dan SRY menunjukkan berasal dari taurin (Mohamad *et al.*, 2009). Hal ini diduga merupakan hasil persilangan eksperimental dengan sapi Denmark Red dan French Limousin (Fellus, 1995).



Gambar 2. Hubungan kekerabatan genetik berbasis DNA antara sapi Bali, sapi lokal Indonesia lainnya dan sapi zebu dari India (Mohamad *et al.*, 2009).

Definisi klasik dari "breed" atau bangsa, biasanya merupakan variasi dari pernyataan berikut, yaitu hewan yang telah melalui seleksi dan pemuliaan, yang saling mirip satu dengan lainnya dan mampu meneruskan atau mewariskan sifat-sifat tertentu secara seragam kepada keturunannya. Hanya, definisi ini masih meninggalkan beberapa pertanyaan yang belum terjawab, yakni kapan hewan yang hasil perkawinan silang dianggap sebagai jenis komposit dan kapan saat tidak dinyatakan sebagai komposit?

Breed atau bangsa ternak merupakan sekelompok hewan peliharaan yang ditetapkan dengan persetujuan bersama oleh suatu peternak pembibit (*breeder*), dan merupakan suatu istilah yang muncul diantara para peternak. Penetapan nama bangsa ini digunakan dan untuk kepentingan para peternak sendiri. Sehingga, umumnya tidak ada yang diizinkan untuk menempatkan nama *breed* sebagai suatu definisi ilmiah. Namun, kriteria suatu *breed* ternak dapat digunakan untuk memutuskan adanya kesalahan atau ketidaksesuaian di peternak pembibit (*breeder*), yaitu apabila peternak melakukan kesalahan saat melakukan penyimpang-penyimpangan dari ketentuan atau batasan suatu *breed* ternak. Penamaan *breed* (bangsa) ternak oleh komunitas pembibit dan penggunaannya secara umum untuk peternak pembudidaya, harus bisa diterima sebagai definisi yang benar pada suatu *breed* tertentu.

Umumnya penamaan *breed* sapi lokal di Indonesia merujuk asal tempat atau daerah dari bangsa sapi dan klasifikasi penggunaan produk dari sapi tersebut. Akibat dari perbedaan kondisi ekologis dan seleksi jangka panjang oleh peternak, maka bangsa sapi terbentuk dengan berbagai karakteristik dan tujuan produksinya. Misal, sapi Bali, Madura, Galekan, Rambon, Jabres, Aceh maupun Pesisir, hampir semuanya merujuk asal daerah sapi-sapi tersebut. Namun, sebagaimana telah diketahui rumpun bangsa sapi Bali merupakan populasi terbesar di Indonesia. Karena sapi ini dikenal sangat adaptif di beberapa lokasi maupun kondisi lingkungan yang berbeda di Indonesia.

Fenotip untuk sapi-sapi lokal merupakan faktor penting untuk pembeda dan penciri khas dari suatu rumpun bangsa sapi lokal atau ternak lain umumnya. Disisi lain, untuk strategi perkembangbiakan dan pemuliaannya, maka penetapan fenotip yang khas lokal juga sangat diperlukan. Tetapi, harus diingat bahwa selain faktor genetik, maka faktor lingkungan juga memberi pengaruh luar biasa pada tampilan eksterior ternak. Oleh sebab itu, akurasi dan keandalan performans eksterior menjadi kurang begitu tepat sebagai penciri. Sehingga, penggunaan penciri berbasis molekuler atau DNA dalam diferensiasi bangsa sapi sangat disarankan.

TEKNIK ANALISIS DNA UNTUK DETEKSI KERAGAMAN GENETIK SAPI

Apakah Analisis Dna?

Jawaban pertanyaan tentang 'apakah analisis DNA' itu, maka dapat dijelaskan secara sederhana sebagai berikut. Analisis DNA adalah istilah yang diberikan pada interpretasi (pengertian) dari suatu urutan (sekuen) genetik individu serta dapat digunakan untuk berbagai tujuan. Analisis ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi spesies, tetapi juga dapat membedakan individu dalam suatu spesies. Jadi, tidak mengherankan jika urutan DNA dari dua individu spesies yang sama berbeda lebih banyak dibandingkan dua individu dari spesies berbeda. Misal, urutan DNA manusia memiliki kemiripan dengan urutan DNA primata.

Contoh analisis DNA yang paling sederhana dikenal dengan produk berupa gambar mirip pita hitam dan putih (tampak mirip dengan *barcode*). Masing-masing pita mewakili fragmen DNA yang berbeda, dan bersama-sama mereka dapat berlaku sebagai semacam 'sidik jari genetik' yang dapat digunakan untuk membandingkan sampel yang berbeda. Melalui penggunaan teknik ini, sampel DNA dari suatu TKP (Tempat Kejadian Perkara) dapat dengan cepat dan mudah disesuaikan dengan DNA tersangka, atau hubungan biologis dapat dibuktikan atau dibantah antara seseorang atau seekor hewan dan dugaan tetuannya.

Sebelum analisis DNA ditemukan, pemecahan masalah kriminal difokuskan untuk memperoleh sidik jari dari TKP. Masalahnya, bahwa penjahat dapat dengan mudah menghindari deteksi hanya dengan memakai sarung tangan atau mengelap permukaannya. Namun, dengan penggunaan sampel DNA, maka dalam kondisi apapun, jejak pelaku dapat

dikumpulkan dari mana saja asal bisa diperoleh sumber DNA miliknya. Sehingga, bagi pelaku kejahatan sulit untuk menghindari meninggalkan beberapa jenis substansi biologis sumber DNA, seperti air liur, rambut, keringat, kulit, kotoran telinga, atau lendir.

Ketika analisis DNA pertama kali muncul sebagai suatu konsep pada pertengahan tahun 1980-an, maka zat biologis ini mulai digunakan untuk menyelesaikan masalah kriminalitas. Teknik ini mulai dikenal ketika seorang ahli genetika Inggris, bernama Alec Jeffreys yang mengembangkan metode analisis DNA ini dan disebut dengan *DNA profiling*, alias *genetic fingerprinting*, sehingga tersangka kriminal dapat dicocokkan DNA-nya dengan material DNA yang diperoleh di TKP. Sejak saat itu, teknik analisis ini telah berkembang pesat, sehingga analisis DNA menjadi lebih murah, lebih mudah diakses dan tersedia untuk berbagai aplikasi resmi dan konsumen bebas.

Sampel DNA

Proses analisis DNA dimulai dengan ekstraksi atau isolasi DNA dan dimurnikan dari sampel biologis. DNA dapat ditemukan pada beberapa jenis sampel biologis dan diekstraksi dengan menggunakan teknik yang berbeda. Teknik yang dipilih seringkali bergantung pada ukuran sampel dan jumlah DNA yang tersedia.

Pada kasus umum kriminal atau telusur tetua pada manusia maupun ternak, maka saat melakukan tes DNA, penyediaan sampel sumber DNA dapat disediakan dari sampel air liur, air seni, tinja atau jaringan-jaringan biologis lain yang mudah dikoleksi dan tidak menimbulkan rasa sakit serta hanya memerlukan waktu singkat untuk sampling. Contoh lain, tes DNA prenatal, maka sampel biologis dapat menggunakan sampel darah atau jaringan foetus atau embrio dengan jumlah sampel yang sedikit atau terbatas. Sehingga, uji DNA saat ini sangat fleksibel dan efisien sesuai dengan jenis sampel yang tersedia. Termasuk telah tersedianya kit analisis DNA yang berisi peralatan pengumpulan sampel yang sesuai disertai dengan instruksi kerja sehingga tidak terlalu laboratoris lagi.

Jenis-jenis Analisis DNA

Untuk lebih memperjelas pengertian analisis DNA, maka teknik ini merupakan prosedur untuk menganalisis sekuen atau urutan DNA yang dimiliki oleh individu yang terkait dengan penampilan genetiknya. Terlepas dari jenis sampel yang dianalisis, setelah sampel biologis sampai di laboratorium dan DNA telah diekstraksi, maka ada beberapa metode analisis yang bisa diterapkan, diantaranya :

1. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

RFLP adalah salah satu jenis analisis DNA tertua dan menghasilkan gambar hitam dan putih mirip *barcode* seperti yang telah disebutkan sebelumnya. Sederhananya, teknik ini melibatkan pemotongan DNA menggunakan enzim restriksi (enzim pemutus ikatan basa pada rantai DNA) dengan menargetkan urutan tertentu. Urutan kemudian dipotong menjadi untai dengan panjang yang berbeda, dan dipisahkan panjang ukurannya dengan menggunakan gel khusus (biasanya matrik gel berasal dari agarosa). Hal ini menghasilkan citra 'sidik jari' hitam dan putih, dengan tampilan sebagai pita (*band*) yang membentuk suatu garis/jalur kolom. Ukuran molekul DNA hasil pemotongan dapat dibedakan berdasarkan perbandingan dua gambar atau lebih sehingga dapat membandingkan panjang untai dan dengan mudah melihat apakah urutannya sama atau berbeda. Analisis ini biasanya membutuhkan jumlah sampel DNA yang bersih dan bebas kontaminasi yang relatif tinggi. Ini juga membutuhkan banyak waktu (laboratoris), karena banyaknya langkah yang terlibat dalam proses, oleh karena itu telah banyak digantikan oleh metode yang lebih baru dan lebih cepat.

2. Simple Tandem Repeats (STR)

Salah satu teknik lain dalam analisis DNA adalah analisis *Short Tandem Repeats (STRs)*. STR adalah bagian sekuen atau urutan DNA atau unit nukleotida yang terdiri dari satu hingga

lima nukleotida bahkan lebih, yang diulang beberapa kali pada titik-titik tertentu dalam rangkaian DNA individu. Dibandingkan dengan RFLP, analisis STR dapat dilakukan dengan kualitas sampel DNA jauh lebih rendah, yang berarti pula bahwa jejak DNA yang dapat dianalisis lebih mudah. Ada dua jenis STR, yakni minisatelit dan mikrosatelit DNA. Minisatelit jika unit ulangan lebih dari 5 nukleotida, sedangkan mikrosatelit biasanya unit ulangan nukleotidanya kurang dari 5 nukleotida.

Analisis ini melibatkan pemeriksaan berapa kali unit ulangan nukleotida dalam rangkaian STR tertentu yang diulang. Pengulangan unit nukleotida ini terjadi di lokasi (lokus) DNA yang sama, namun jumlah ulangan STR antar individu akan berbeda. Individu yang terkait secara biologis biasanya akan memiliki unit ulangan STR yang sama atau mirip beberapa kali, dan teknik ini paling sering digunakan saat menguji untuk membuktikan atau menyangkal hubungan biologis.

3. *Single Nucleotida Polymorphism (SNP)*

Analisis SNP adalah teknik analisis DNA yang terakhir dikembangkan. SNP juga dikenal sebagai analisis variasi genetik dengan mendasarkan perbedaan letak titik urutan (sekuen) DNA dalam rangkaian DNA, dimana perbedaan letak nukleotida tertentu tersebut berjumlah tunggal atau satu antar individu. Proses ini diperiksa dengan menjalankan sampel DNA di suatu *chip* khusus. Chip ini dirancang untuk mendeteksi hingga satu juta SNP dalam DNA individu, namun biasanya akan diperoleh sekitar 100.000 SNP. Teknik analisis variasi genetik ini adalah metode yang biasanya digunakan untuk menentukan predisposisi genetik individu terhadap penyakit tertentu, dan juga pada pengujian DNA tetua (leluhur).

Antar Gen	Dalam Gen
Perbedaan SNP	Perbedaan Alel
<pre>CCCGTATTC GGGCATAAG CCCGCATTTC GGGCATAAG</pre>	<pre>GCAGAAAGGTGTCCCG CGTCTTCCACAGGGC GCAGAAATTGTCCCG CGTCTTTAACAGGGC</pre>

Gambar 3. Perbedaan SNP dan polimorfisme alel

4. *DNA Kromosom Y*

Tiga teknik sebelumnya yang telah dijelaskan melibatkan analisis DNA yang diwarisi dari kedua orang tua, yang dikenal sebagai DNA autosomal. Namun, teknik analisis DNA juga bisa diterapkan pada DNA sex kromosom, yakni kromosom Y, yang hanya dimiliki oleh laki-laki dan yang secara eksklusif berpindah dari ayah ke anak laki-laki.

Teknik ini biasanya digunakan untuk membantu menyelesaikan kasus kriminal seksual. Misal, ada beberapa tersangka pria yang terlibat di dalam kasus pemerkosaan. Maka, penyidik dapat menggunakan analisis DNA kromosom Y untuk mencocokkan sampel yang diambil dari korban dengan sampel tersangka, untuk dapat mengetahui siapa yang terlibat secara akurat. Seperti namanya, teknik ini menganalisis banyak kromosom genetik Y (laki-laki / jantan), biasanya menggunakan teknik STR atau SNP.

Demikian pula analisis DNA Y ini dapat digunakan pada hewan atau ternak untuk melacak hubungan leluhur antar pejantan. Teknik ini bisa memberi informasi tentang “leluhur dalam” dari pejantan, yang dapat dilacak kembali setelah ratusan ribu tahun, serta jalur migrasi leluhur. Sehingga, jika teknik ini diaplikasikan pada hewan atau ternak, maka jalur tetua

pejantan dapat dilacak untuk mengetahui kemampuan atau performans produksi dari jalur pejantan.

5. DNA mitokondria (mtDNA)

Melalui cara yang sama dengan analisis DNA kromosom Y, maka analisis DNA mitokondria berkaitan dengan informasi genetik yang secara eksklusif didapatkan dari jalur ibu atau betina. Namun, tidak seperti pada DNA kromosom Y yang hanya diturunkan dari bapak (paternal) ke anak laki-laki, maka DNA mitokondria dilewatkan dari ibu ke anak laki-laki maupun perempuan (*maternal inheritance*). Ini bisa digunakan untuk mengetahui tentang “leluhur dalam dari ibu” sehingga dapat diketahui pula kemiripan individu dengan ibunya.

Meskipun sebagian besar DNA makhluk hidup ditemukan di inti sel, namun DNA mitokondria ditemukan di organel mitokondria dalam sel, yang struktur di sel terpisah dari nukleus (inti sel). Jadi, pengujian DNA mitokondria sangat membantu untuk memecahkan apa yang disebut dengan 'kasus dingin', yakni sampel biologis yang dikumpulkan dari TKP telah terdegradasi dari waktu ke waktu. Namun, sampel biologis masih bisa dimanfaatkan, dikarenakan di sel individu terdapat sejumlah mitokondria, bukan hanya satu buah seperti di nukleus. Oleh karena itu, jika DNA inti tidak ada yang tersisa, maka ada kemungkinan DNA mitokondria tetap utuh dan dapat diisolasi sehingga bisa dianalisis.

Masa depan analisis DNA

Teknik analisis DNA pada awal penemuannya dikembangkan dengan membutuhkan sejumlah besar DNA berkualitas tinggi. Namun, dengan berjalannya waktu, maka aplikasi prosedur isolasi DNA yang lebih baru dapat diperoleh isolat DNA dengan kuantitas dan kualitas lebih rendah, serta dengan hanya membutuhkan periode waktu yang lebih singkat dalam proses analisis. Teknik isolasi DNA juga telah dikembangkan untuk mengekstrak DNA yang bisa digunakan dari sumber yang sulit diakses atau terkontaminasi.

Analisis DNA masih tidak lepas dari kelemahan, seperti ada beberapa contoh hasil yang tidak bisa memenuhi harapan. Biasanya, analisis DNA memberikan suatu pandangan atau wawasan atas suatu fakta dari data hasil analisis, sehingga tidak selalu memberikan jawaban pasti. Penafsiran hasil analisis DNA masih sangat bergantung pada para ahli. Namun dengan semakin praktisnya pengujian DNA, berarti pula bahwa informasi yang terkandung dalam DNA menjadi lebih mudah diakses dan terjangkau sepanjang waktu.

DISKUSI

Mengapa kita harus perhatian dan konsisten terhadap pelestarian genetik *breed* atau bangsa ternak? Bahkan terhadap rumpun bangsa ternak tertentu yang relatif kurang populer atau kurang diketahui? Adakah alasan yang tepat untuk tetap melestarikan plasma nutfah hewan atau ternak yang relatif kurang populer atau produktivitasnya dianggap rendah tersebut? Apakah tidak bisa diupayakan suatu sistem yang lebih banyak membantu dalam melindungi suatu rumpun bangsa ternak asli, meskipun hewan ternak tersebut kurang populer atau produktifitasnya rendah dalam upaya memperbaiki keturunannya yang semakin sedikit jumlahnya sehingga tidak punah?

Memang tidak mudah untuk memprediksi kebutuhan genetik bagi peternak pembudidaya yang nantinya akan digunakan untuk memenuhi kebutuhan konsumen di masa depan. Namun, strategi pemuliaan ternak-ternak asli Indonesia harus terus dilakukan oleh pemangku kebijakan maupun para pemulia ternak dalam kerangka untuk mencegah kepunahan keanekaragaman plasma nutfah asli Indonesia. Ada beberapa aktivitas yang mungkin dapat dilakukan untuk melindungi keanekaragaman genetik hewan atau ternak lokal diantaranya :
1) identifikasi, karakterisasi dan monitoring rumpun bangsa ternak khas Indonesia yang masih eksis; 2) penggunaan praktis dari bangsa-bangsa ternak lokal secara berkelanjutan, misal

untuk tujuan keagamaan dan budaya maupun turis, ini metode yang cukup efektif untuk mempertahankan gen-gen yang tidak umum atau tidak dimiliki oleh hewan atau ternak non lokal; 3) adanya sampel material genetik yang cukup yang harus disimpan untuk menjamin keturunannya tidak berubah atau punah pada gen yang dimiliki bangsa ternak asli tersebut. Ini memerlukan teknologi yang memadai untuk menyimpan atau proteksi material genetik tersebut; 4) kebijakan nasional dan kerjasama internasional sangat diperlukan dalam rangka menjamin strategi aktivitas perlindungan hewan ternak bisa berlangsung dengan sungguh-sungguh; 5) penelitian dan pelatihan-pelatihan harus banyak dilakukan terkait dengan kegiatan perlindungan plasma nutfah hewan ternak; 6) kemanfaatan dari praktek-praktek tradisional dalam pemeliharaan ternak lokal atau praktek kearifan lokal, hendaknya dapat ditinjau ulang untuk menguatkan kegiatan perlindungan genetik hewan ternak lokal; 7) untuk rumpun-rumpun bangsa ternak yang memiliki kemampuan produktivitas lebih besar dapat dilindungi pada area lahan konservasi atau *ex-situ*, dan disisi lain rumpun bangsa ternak yang produktifitasnya lebih rendah dapat ditempatkan di areal pertanian atau peternakan terbatas; dan 8) teknologi bioteknologi (molekuler dan rekayasa genetik) dan *artificial reproduction technology* (ART) dapat diaplikasikan dalam upaya melindungi sumber genetik ternak-ternak asli Indonesia tersebut.

Suatu contoh kasus, dulu sapi FH dikembangkan dari hasil seleksi antara lain dari tetua bangsa sapi **Dutch Belted**. Sapi FH untuk produksi susu yang maksimal dibutuhkan pakan konsentrat dan biji-bijian selain hijauan. Sapi Holstein jelas memiliki kelebihan dibandingkan keturunan sapi lain dalam produksi susunya, namun keuntungan ini didasarkan pada pemberian biji-bijian dan harga sereal yang mahal. Maka, jika terjadi perubahan drastis pada salah satu faktor pakan ini akan menyebabkan penurunan keuntungan dari sapi FH. Masalah sapi FH ini sebenarnya dapat diberikan solusi dengan keberadaan sapi **Dutch Belted** yang sekarang *breed* ini sudah langka atau hampir punah. Sapi **Dutch Belted** menunjukkan kemampuan produksi susu sangat baik dalam kondisi pakan yang berbasis rumput, yang percobaannya dilakukan pada awal tahun 1900-an. Contoh lain, di Australia, *breed* komposit, seperti Australian Friesian Sahiwal, telah dikembangkan memiliki tingkat produksi susu lebih tinggi dibandingkan dengan Holstein di daerah tropis lainnya. Selain faktor pakan tersebut diatas, maka *breed* tersebut juga memiliki kebutuhan penting untuk fungsi ketahanan (resistensi) alami terhadap penyakit atau parasit jika antibiotik atau pengobatan lain saat ini tidak tersedia atau tidak efektif. Contoh lain, pada domba yang memiliki hambatan alami terhadap beberapa jenis parasit internal, maka jika anthelmintik dibatasi atau tidak ekonomis, maka telah diketahui terdapat sejenis spesies ikan laut lokal yang sudah terancam punah, tetapi memiliki resistensi terhadap sejenis parasit yang mirip pada domba, dan spesies ikan ini telah dikembangkan melalui seleksi alam. Sehingga keberadaan gen pada ikan lokal ini menjadi sangat penting dalam industri domba. Di banyak negara, keragaman genetik harus dipelihara untuk membantu memenuhi potensi tantangan akibat perubahan sumber daya produksi dan kebutuhan pasar. Oleh karena itu, harapan ke depan adalah adanya implementasi kebijakan yang bisa menjadi sumber informasi potensi beberapa rumpun bangsa ternak asli Indonesia.

Sejalan dengan perkembangan ilmu biologi molekuler, maka studi pada keanekaragaman genetik juga ikut berkembang, mulai dari penanda atau penciri morfologi ke penciri histositologi dan dari penciri biokimia ke penciri molekuler DNA. Studi tentang keanekaragaman genetik pada sapi-sapi asli maupun lokal Indonesia juga mencerminkan tingkat variasi genetik yang dimiliki *breed* sapi Indonesia. Selanjutnya, dengan pengembangan penciri genetik molekuler akan sangat membantu dalam meningkatkan ketepatan analisis untuk mendiskripsikan variasi genetik yang ada. Sehingga, diharapkan

kehilangan potensi variasi genetik yang besar pada sapi asli maupun lokal Indonesia dapat dihindari.

KESIMPULAN

Beberapa negara yang telah berkomitmen untuk mempertahankan potensi genetik ternak lokal akan terus mengamati tren perkembangan bidang peternakan. Sebab, bidang peternakan diperkirakan akan berkembang mengarah pada beberapa atribut lain selain produksi dan produktivitas, yakni kualitas produk, peningkatan kesejahteraan hewan (*animal welfare*), ketahanan terhadap penyakit dan penanggulangan dampak lingkungan. Teknik genetika molekuler diperkirakan akan memiliki dampak yang cukup besar di masa depan. Sebagai contoh, tes berbasis DNA untuk gen atau genotipe yang mempengaruhi sifat kualitatif yang sulit diukur saat ini, seperti kualitas daging dan ketahanan terhadap penyakit, maka uji DNA akan sangat penting kegunaannya (Leakey et al. 2009). Contoh lain adalah ternak transgenik untuk produksi pangan; meskipun secara teknis layak, tetapi teknologi ini pada ternak masih berada dalam tahap awal pengembangan dibandingkan dengan aplikasi teknologi ini untuk tanaman. Dalam diseminasi teknologi molekuler yang dikombinasikan dengan metode baru dalam teknologi reproduksi, seperti kloning, maka teknik molekuler secara dramatis telah mampu mengubah produksi ternak berbasis peta genom yang lengkap untuk unggas dan ternak ruminansia. Hal ini juga akan membuka jalan menuju kemungkinan kemajuan dalam evolusi biologi, pemuliaan hewan dan hewan model untuk penyakit manusia (Lewin 2009). Seleksi genomik, seharusnya bisa meningkatkan dua kali lipat keuntungan genetik dalam industri susu (Hayes et al. 2009). Sebab, sangat dimungkinkan seleksi ternak didasarkan pada Nilai Pemuliaan (NP) genomik, sehingga keputusan hasil seleksi dapat didasarkan pada hitungan dari informasi penanda/penciri genetik saja, bukan dari informasi silsilah maupun fenotipik. Namun, seleksi genomik bukan tanpa tantangan, diantaranya kemungkinan terbesar adalah terjadinya revolusi dalam bidang pemuliaan ternak sebagai alat dan teknik yang berbeda dengan pemuliaan konvensional selama ini.

Demikian pula tujuan program pemuliaan, akan menjadi banyak perubahan. Meskipun masih sedikit bukti tentang batas-batas genetik untuk seleksi, tetapi jika seleksi ternak fokusnya terlalu sempit, maka sangat mungkin tidak diinginkan adanya sifat pautan yang merugikan akibat dari respon seleksi (Simm et al., 2004). Sebagai contoh, pada sapi perah, keuntungan genetik pada beberapa sifat produksi, ternyata diketahui ada beberapa bukti yang menunjukkan terjadinya perubahan genetik yang tidak diinginkan pada fertilitas ternak, kejadian penyakit dan sensitivitas stres, meskipun secara umum ada perbaikan aspek nutrisi dan manajemen (Hare et al., 2006). Jadi, di masa mendatang, isu-isu penting dalam perdagangan ternak cenderung pada faktor antara pemuliaan ternak untuk tujuan peningkatan efisiensi penggunaan sumber daya dan dampaknya terhadap kemampuan reproduksi atau kesuburan maupun sifat-sifat lainnya serta dampak terhadap lingkungan, seperti produksi gas metana.

Analisis keseluruhan tentang biaya yang relevan dan manfaat dalam manajemen pemuliaan ternak akan menjadi semakin penting dalam mengatasi masalah yang kompleks ke depan. Alat baru genetika molekuler mungkin memiliki dampak luas pada produksi ternak dan produktivitas ternak dalam beberapa tahun ke depan. Namun, alat yang digunakan, baik merupakan temuan baru (*novel*) maupun tradisional, pada akhirnya semua tergantung pada upaya untuk strategi pelestarian sumber daya genetik hewan. Jika di negara-negara berkembang hewan ternak dikondisikan terus untuk kontribusi upaya memperbaiki mata pencaharian dan mempertemukan tuntutan pasar, maka kelestarian sumber daya genetik

ternak lokal menjadi sangat penting dalam membantu ternak beradaptasi terhadap perubahan iklim maupun perubahan-perubahan lain akibat perubahan kondisi alam yang terjadi.

Disamping itu, kemungkinan terjadinya pergeseran prevalensi penyakit dan tingkat keparahannya juga akan berdampak pada performans ternak masa depan. Saat ini, di negara-negara maju, akibat terjadinya penyempitan basis sumber daya genetik hewan karena sistem intensif dalam produksi ternak, menunjukkan pentingnya kebutuhan untuk mempertahankan derajat kualitas sumber daya genetik ternak. Hal ini untuk memberikan jaminan kondisi sumber daya genetik terhadap tantangan dan ketidakseimbangan kondisi lingkungan di masa depan. Kelembagaan dan kebijakan kerangka kerja yang mendorong penggunaan *breed* tradisional secara berkelanjutan dan konservasi *in situ*, perlu dilakukan dan diimplementasikan, serta dibutuhkan lebih banyak pemahaman tentang kesesuaian antara populasi ternak, *breed* dan gen terhadap performans fisik, biologi dan gambaran manfaat ekonominya (FAO 2007).

Sapi asli Indonesia adalah sumber genetik yang berharga di dunia, misal Banteng dan keturunannya, seperti sapi Bali. Munculnya sapi lokal ini telah dibuktikan memainkan peran penting, tidak hanya pada industri sapi potong di Indonesia, namun juga pada peningkatan genetik industri sapi di dunia. Sapi Bali diakui juga sebagai salah satu *breed* yang telah digunakan sebagai basis pengembangan *breed* sapi di Australia maupun negara-negara Asia umumnya. Hal ini menunjukkan bahwa *breed* lokal dapat memberikan landasan teoritis untuk konservasi dan pemanfaatan sumber daya genetik khas suatu wilayah. Asal muasal, karakteristik genetik, distribusi dan hubungan *breed* sapi-sapi di Indonesia harus dipelajari lebih lanjut. Perkembangan teknologi biologi molekuler menjadikan studi tentang keragaman genetik meningkat dari penanda morfologi menjadi penanda sitohistologis dan dari penanda biokimia ke marker molekul DNA. Kita harus yakin bahwa studi tentang keragaman *breed* sapi lokal Indonesia berbasis DNA akan mencerminkan variasi genetik mereka dari sisi esensi atau makna yang lebih tepat dalam upaya penggunaan penanda molekul dan ekologi molekuler sebagai basis genetik. Apalagi, kondisi saat ini sumber daya genetik sapi-sapi asli Indonesia semakin menurun tajam, maka studi tentang keragaman *breed* sapi asli Indonesia semakin penting dan konservasi keanekaragaman genetik ternak lokal harusnya sudah menjadi program yang wajib diimplementasikan.

REFERENSI

- Balitbangtan [Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian], Kementerian Pertanian, Republik Indonesia. 2014. Strategi Nasional dan Rencana Aksi Sumber Daya Genetik Hewan Untuk Pangan dan Pertanian. IAARD Press. 123 hal.
- FAO. 2007 Global plan of action for animal genetic resources and the Interlaken Declaration. Int. technical conf. on animal genetic resources for food and agriculture, Interlaken, Switzerland, 3–7 September 2007, Rome, Italy: FAO.
- FAO. 2009b. Framework study on food security and access and benefit-sharing for genetic resources for food and agriculture. CGRFA background study paper no. 42. Rome (available at <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/017/ak526e.pdf>).
- Felius M (1995) Cattle Breeds: An Encyclopedia Misset. Doetinchem, The Netherlands.
- Hare, E., Norman, H. D. & Wright, J. R. 2006 Trends in calving ages and calving intervals for dairy cattle breeds in the United States. J. Dairy Sci. 89, 365–370.
- Hayes, B. J., Bowman, P. J., Chamberlain, A. J. & Goddard, M. E. 2009 Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. J. Dairy Sci. 92, 433–443.

- Hoffmann, Irene and Beate Scherf. 2010. Implementing the Global Plan of Action for Animal Genetic Resources. *Animal Genetic Resources*, 2010, 47, 1–10. doi:10.1017/S2078633610001050.
- Index Mundi 2017. <http://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=cattle>.
- IUCN [International Union for Conservation of Nature]. 2005. The IUCN red list of threatened species. World Conservation Union, Gland, Switzerland. <http://www.iucnredlist.org/details/2888/0>. Diakses tgl. 17 Oktober 2017.
- Kikkawa Y, Amano T & Suzuki H. 1995. Analysis of genetic diversity of domestic cattle in east and Southeast Asia in terms of variations in restriction sites and sequences of mitochondrial DNA. *Biochem Genet.* 1995 Feb; 33(1-2):51-60.
- Kikkawa Y, Takada T, Sutopo, Nomura K, Namikawa T, Yonekawa H, & Amano T. 2003. Phylogenies using mtDNA and SRY provide evidence for male-mediated introgression in Asian domestic cattle. *Anim Genet.* 2003 Apr; 34(2):96-101.
- Leakey, R. et al. 2009 Impacts of AKST (Agricultural Knowledge Science and Technology) on development and sustainability goals. In *Agriculture at a crossroads* (eds B. D. McIntyre, H. R. Herren, J. Wakhungu & R. T. Watson), pp. 145–253. Washington, DC: Island Press.
- Lewin, H. A. 2009 It's a bull's market. *Science* 323, 478–479.
- Mohamad K, Olsson M, Helena T, Van Tol A, Mikko S, Vlamings BH, Andersson G, Rodriguez-Martinez H, Purwantara B, Paling RW, Colenbrander B & Lenstra JA. 2009. On the origin of Indonesian cattle. *Plos ONE* 4 (5) : 1-6.
- Namikawa T. 1981. Geographic distribution of bovine Hemoglobin-beta (Hbb) alleles and the phylogenetic analysis of the cattle in Eastern Asia. *Z Tierzuchtg Zuchtgsbiol* 98 151-159.
- RAN [Rain Forest Action Network]. Indonesia's Rainforests: Biodiversity and Endangered Species. 2017. www.ran.org/indonesia_s_rainforests_biodiversity_and_endangered_species. Diunduh 23 Oktober 2017.
- Simm, G., Buñger, L., Villanueva, B. & Hill, W. G. 2004 Limits to yield of farm species: genetic improvement of livestock. In *Yields of farmed species: constraints and opportunities in the 21st century* (eds R. Sylvester-Bradley & J. Wiseman), pp. 123–141. Nottingham, UK: Nottingham University Press.
- Thornton, PK. 2010). Livestock production: recent trends, future prospects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1554), 2853–2867. <http://doi.org/10.1098/rstb.2010.0134>.
- Winaya A. 2010. Variasi genetik dan hubungan filogenetik populasi sapi lokal indonesia berdasarkan penciri molekuler DNA mikrosatelit kromosom Y dan gen cytochrome B. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor (IPB).