

DNA barcoding pada Familia Bovidae berdasarkan gen Co1 (Cytochrome C Oxydase Subunit 1)

Rina Ristiana^{1*}, Aswar Rustam¹, Moch. Syamsul Arifin Zein², Zulkarnain¹

¹Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

²Laboratorium Genetika Hewan Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi, LIPI

*Corresponding author: Jl. HM. Yasin Limpo 36 Gowa, Sulawesi Selatan, Indonesia. 92113

E-mail addresses: rina.ristiana46@gmail.com

Kata kunci

Bovidae
Cytochrome C Oxydase Subunit
1 (CO1)
DNA barcoding
Intra-spesies
Inter-spesies

Diajukan: 9 Juni 2021

Ditinjau: 15 Juli 2021

Diterima: 15 Agustus 2021

Diterbitkan: 30 Agustus 2021

Cara Sitasi:

R. Ristiana, A. Rustam, M. S. A.
Zein, Z. Zulkarnain, "NA barcoding
pada Familia Bovidae berdasarkan
gen Co1 (Cytochrome C Oxydase
Subunit 1)", *Filogeni: Jurnal
Mahasiswa Biologi*, vol. 1, no. 2, pp.
63-68, 2021.

Abstrak

DNA barcoding merupakan suatu teknik identifikasi spesies berbasis molekuler dengan menggunakan gen Cytochrome C Oxydase Subunit 1 (CO1). DNA barcoding terhadap familia Bovidae berguna dalam rangka identifikasi spesies, monitoring perdagangan daging ternak, penegakkan hukum, serta klarifikasi spesies dalam suatu produk pangan yang berasal dari hewan ternak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas gen CO1 sebagai DNA barcode dengan melihat jarak genetik antar-spesies dan inter-spesies Bovidae dengan spesies outgrup serta kekerabatan spesies dalam konstruksi filogenetik. Analisis sekuen CO1 dilakukan terhadap tujuh spesies Bovidae dan dua spesies out grup. Data sekuen CO1 diperoleh dari NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) lalu dilakukan analisis jarak genetik dan filogenetik menggunakan metode neighbor-joining (NJ) pada software molekuler evolutionary genetics analysis (MEGA) versi 6. Hasil penelitian menunjukkan jarak genetik intra-spesies Bovidae berkisar antara 0,044-0,69% dengan jarak terendah terlihat pada spesies *Bos taurus* (0,044%) dan tertinggi pada spesies *Bos javanicus* (4,69%). Sedangkan jarak genetik inter-spesies berkisar antara 2,2-24,6% dengan jarak tertinggi ditunjukkan oleh *B. javanicus* dan spesies outgroup yakni sebesar 24,6% (rata-rata $\pm 2,2-0,05\%$). Sekuen gen CO1 pada spesies familia Bovidae menunjukkan adanya variasi yang tinggi antar-spesies namun rendah dalam spesies (intra-spesies). Oleh karena itu, gen CO1 efektif digunakan sebagai DNA barcode pada familia Bovidae.

Copyright © 2021. The authors. This is an open access article under the CC BY-SA license

1. Pendahuluan

Bovidae merupakan familia mamalia besar yang tersebar luas di wilayah Indonesia. Sejauh ini, telah terdapat 9 genus pada familia Bovidae di Indonesia di antaranya *Bubalus*, *Ovis*, *Capricornis*, *Bos*, dan *Capra*. Spesies Bovidae tersebut terdiri dari kerbau (*Bubalus bubalis*), anoa (*Bubalus quarlesi*, *Bubalus depressicornis*), domba (*Ovis aries*), kambing Sumatra (*Capricornis sumatraensis*), banteng (*Bos javanicus*), sapi (*Bos taurus*), dan kambing (*Capra hircus*) [1]. Beberapa anggota Bovidae diketahui merupakan spesies endemik dan dipelihara di kawasan konservasi, seperti anoa (*B. depressicornis*, *B. quarlesi*) dan banteng (*B. javanicus*). Sedangkan anggota Bovidae lainnya seperti sapi (*B. taurus*), kambing (*C. hircus*), domba (*O. aries*), dan kerbau (*B. bubalis*) telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai hewan ternak penyedia sumber protein berupa daging dan susu [2].

Pemanfaatan spesies Bovidae dalam produk makanan berbahan daging seringkali menimbulkan keresahan di kalangan masyarakat. Di Indonesia, tak jarang ditemukan kasus pemalsuan daging maupun produk olahan hewan, seperti bakso, dendeng, dan celeng dengan

identitas hewan yang tidak jelas. Bahkan di beberapa tempat, sering dijumpai penggunaan daging dari hewan liar [2]. Oleh karena itu, diperlukan metode identifikasi spesies yang akurat menggunakan DNA barcode. Selain dapat memonitoring perdagangan daging, DNA barcode juga dapat digunakan untuk memantau konservasi keanekaragaman hayati dan eksploitasi ilegal spesies langka yang terancam punah [3].

DNA barcode merupakan sekuen DNA penanda yang digunakan untuk mengidentifikasi suatu spesies secara molekuler. Teknik identifikasi menggunakan DNA barcode disebut DNA barcoding [4]. Pada hewan, gen cytochrome C oxydase subunit 1 (CO1) dengan jumlah fragmen lebih dari 200 bp dipilih sebagai DNA barcode yang efektif untuk melacak spesies dalam suatu produk [5]. Efektivitas tersebut dipengaruhi oleh karakter gen CO1 yang memiliki kesamaan DNA yang besar di dalam spesies (intra-spesies) dan perbedaan yang nyata diantara spesies (inter-spesies). Beberapa kelebihan gen CO1 dibandingkan dengan gen lainnya yaitu memiliki jumlah pasang basa yang relatif sedikit (sekitar 648 bp), relatif stabil, mudah diamplifikasi, serta memiliki variabilitas yang rendah (1-2%), bahkan untuk spesies yang berkerabat dekat hanya mempunyai perbedaan beberapa persen saja [6]. Oleh karena itu, teknik DNA barcoding menjadi metode yang sangat akurat dan efektif untuk melacak identitas suatu spesies [7].

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas gen CO1 sebagai DNA Barcode, khususnya pada familia Bovidae yang ditunjukkan melalui jarak genetik antar-spesies dan inter-spesies Bovidae dengan spesies outgroup serta konstruksi filogenetik. Jarak genetik dan konstruksi pohon filogenetik merepresentasikan kedekatan spesies dalam tiap taksa yang berguna dalam proses identifikasi.

2. Metode Penelitian

2.1 Koleksi Sekuen CO1

Penelitian ini menggunakan data sekuen CO1 yang berasal dari 7 spesies anggota Bovidae diantaranya *Bubalus depressicornis*, *Bubalus quarlesi*, *Bubalus bubalis*, *Bos javanicus*, *Bos taurus*, *Capricornis sumateraensis*, *Capra hircus*, dan *Ovis aries* serta 2 spesies out group (*Sus sp.* dan *Daubentonia sp.*). Terdapat 51 sekuen gen CO1 yang diperoleh dari server NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) dalam format FASTA.

2.2 Analisis Jarak Genetik dan Konstruksi Filogenetik

Analisis filogenetik untuk mengetahui kluster antar spesies/ taksa dilakukan dengan metode neighbor-joining (NJ) [8-9], dimana kalkulasi matriks jarak genetik dihitung dengan model Kimura-2 parameter yang diimplementasikan melalui pairwise distance calculation pada software *molecular evolutionary genetics analysis* (MEGA) versi 6 [10]. Derajat kepercayaan statistik dievaluasi menggunakan tes bootstrap sebanyak 1000 ulangan [2].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Penelitian

3.1.a Sekuen Gen CO1

Sekuen CO1 yang dianalisis pada 51 spesies memiliki jumlah pasang basa (bp) yang bervariasi, dimana sekuen terpendek berjumlah 537 bp dan terpanjang 1543 bp. Total sekuen dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui kluster antar spesies/ taksa.

3.1.b Analisis Jarak Genetik

Jarak genetik mempresentasikan tingkat perbedaan genomik (gen) dari suatu spesies atau populasi yang dinyatakan dalam kuantitas numerik [11]. Jarak genetik intra-spesies anggota familia bovidae dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Jarak genetik intra-spesies Bovidae

Spesies	Jarak genetik/ d	S.E	Persentase (%)
<i>Bos javanicus</i>	0.04697	0.00739	4.697
<i>Bos taurus</i>	0.00044	0.00043	0.044
<i>Bubalus bubalis</i>	0.01705	0.00420	1.705
<i>Bubalus depressicornis</i>	0.01364	0.00384	1.364
<i>Bubalus quarlesi</i>	0.00721	0.00250	0.721
<i>Capra hircus</i>	0.00066	0.00061	0.066
<i>Capricornis sumatrarensis</i>	0.00198	0.00136	0.198
<i>Ovis aries</i>	0.00227	0.00107	0.227
Out grup	0.13603	0.01325	13.60

Tabel 2. Jarak genetik inter-spesies

<i>Bos_javanicus</i>	0.010	0.016	0.017	0.017	0.020	0.019	0.022	0.020
<i>Bos_taurus</i>	0.068	0.017	0.019	0.019	0.021	0.020	0.020	0.019
<i>Bubalus_bubalis</i>	0.137	0.136	0.005	0.005	0.021	0.019	0.021	0.019
<i>Bubalus_depressicornis</i>	0.145	0.152	0.028	0.005	0.022	0.019	0.022	0.019
<i>Bubalus_quarlesi</i>	0.142	0.149	0.025	0.022	0.022	0.019	0.022	0.019
<i>Capra_hircus</i>	0.181	0.186	0.182	0.190	0.183	0.017	0.017	0.019
<i>Capricornis_sumatrarensis</i>	0.176	0.158	0.165	0.174	0.165	0.130	0.018	0.018
<i>Ovis_aries</i>	0.196	0.174	0.186	0.194	0.192	0.111	0.146	0.019
Out_group	0.246	0.236	0.227	0.228	0.220	0.223	0.210	0.229

3.2 Pembahasan

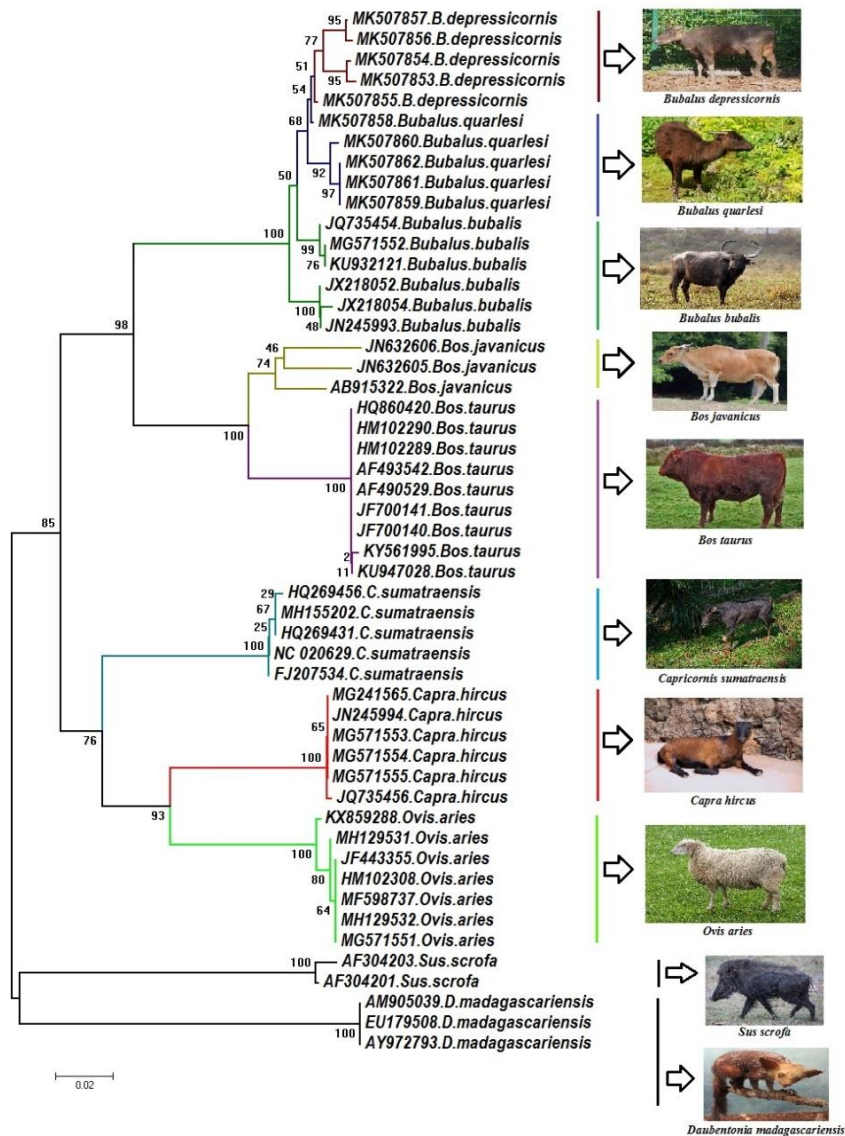
Pada tabel 1, hasil analisis diversitas genetik intra-spesies Bovidae menunjukkan kisaran antara 0,044-0,69% dengan jarak terendah terlihat pada spesies *Bos taurus* (0,044%) dan tertinggi pada spesies *Bos javanicus* (4,69%). Perbedaan jarak genetik yang relatif besar pada spesies *Bos javanicus* dapat disebabkan oleh letak geografis yang memisahkan habitat antar-spesies. Berdasarkan penelitian Michel [12], diversitas genetik dalam spesies pada Bovidae, Crocodylidae, Alligatoridae, dan Cercopithecidae berkisar antara 0 - 1,92% dengan rata-rata 0,24%. Hal tersebut selaras dengan hasil dalam studi ini kecuali pada spesies *Bos javanicus*. Jarak genetik pada *Bos javanicus* (>2%) dapat disebabkan oleh perbedaan geografis antar individunya. Dalam penelitian Jin et. al [13] bahwa faktor ekologi dapat memengaruhi keragaman genetik pada spesies (Lepidopteran) berdasarkan analisis barcode DNA (CO1). Adapun jarak genetik inter-spesies ditunjukkan pada tabel 2.

Kisaran jarak genetik inter-spesies familia Bovidae dengan spesies out group yaitu antara 2,2-19,6%. Jarak genetik inter-spesies Bovidae yang terendah ditunjukkan oleh spesies *Bubalus quarlesi* dan *Bubalus depressicornis* dengan persentase 2,2%, sedangkan yang tertinggi ditunjukkan pada spesies *Bos javanicus* dan *Ovis aries* dengan persentase 19,6%. Spesies out grup diketahui memiliki jarak genetik yang relatif tinggi terhadap spesies familia bovidae, dengan kisaran 21-24,6%. Secara keseluruhan, perbandingan jarak genetik antar spesies Bovidae dengan spesies out grup yang paling tinggi ditunjukkan oleh *Bos javanicus* dan spesies outgrup yakni sebesar 24,6% dengan rata-rata $\pm 2,2-0,05\%$.

Penelitian Zein dan Sulistiana (2012) memperlihatkan bahwa jarak genetik antar-spesies ordo Cetartiodactyla (termasuk familia Bovidae) berkisar antara 2-28%. Hasil analisis gen CO1 dalam studi ini menunjukkan bahwa jarak genetik inter-spesies jauh lebih tinggi dibandingkan dengan jarak genetik intra-spesies. Hal ini menunjukkan bahwa gen

CO1 efektif digunakan sebagai DNA barcode untuk mengidentifikasi organisme sebab memiliki variasi yang jauh lebih rendah di dalam spesies dan tinggi antar-spesiesnya [2].

Filogenetik (filogeni) merupakan studi yang mempelajari tentang kekerabatan antar organisme berdasarkan hubungan evolusi. Analisis filogenetik dilakukan untuk memprediksi adanya hubungan evolusioner antar spesies yang divisualisasikan dalam diagram berbentuk pohon bercabang atau pohon filogeni. Pohon filogeni merepresentasikan kekerabatan spesies dengan nenek moyangnya yang paling dekat [14]. Hasil konstruksi filogeni pada familia Bovidae dengan spesies out group dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Konstruksi pohon filogeni familia bovidae dan out group menggunakan metode Neighbor-joining

Hasil konstruksi filogenetik memperlihatkan enam klaster besar. Klaster tersebut terdiri dari empat genus Bovidae di antaranya *Bubalus*, *Bos*, *Capra*, *Ovis* dan dua klaster dari genus pembanding yaitu *Sus* dan *Daubentonia*. Nilai bootstrap yang terbentuk antara genus Bovidae dengan genus pembanding adalah 85 yang menunjukkan tingkat perbedaan

sekuen gen CO1. Oleh karena itu, genus *Sus* dan *Daubentonia* membentuk klaster baru di luar klaster genus Bovidae.

Konstruksi filogenetik familia Bovidae memperlihatkan kedekatan antar taksa berdasarkan tingkat kemiripan sekuen CO1. Persentase jarak genetik antar-spesies akan memengaruhi konstruksi clade dimana kedekatannya dalam pohon filogeni dapat terlihat jelas. Penelitian Zein menunjukkan bahwa analisis filogenetik dengan Neighborjoining membentuk unit yang kohesif antar-spesies dimana tingkat perbedaan sekuen CO1 antar taksa menunjukkan keserasian yang jelas [15]. Hasil konstruksi filogenetik menunjukkan efektivitas CO1 untuk membedakan kelompok spesies.

4. Kesimpulan

Panjang sekuen CO1 yang dianalisis pada 51 individu dari 7 spesies Bovidae bervariasi dengan ukuran sekuen terpendek yaitu 537 bp. dan terpanjang 1543 bp. Hasil analisis diversitas genetik intra-spesies Bovidae menunjukkan kisaran antara 0,044-0,69% dengan jarak terendah terlihat pada spesies *Bos taurus* (0,044%) dan tertinggi pada spesies *Bos javanicus* (4,69%). Secara keseluruhan, perbandingan jarak genetik antar spesies bovidae dengan spesies out grup yang paling tinggi ditunjukkan oleh *Bos javanicus* dan spesies outgrup yakni sebesar 24,6% dengan rata-rata $\pm 2,2-0,05\%$. Sekuen gen CO1 pada spesies familia Bovidae menunjukkan adanya variasi yang tinggi antar-spesies namun rendah dalam spesies (intra-spesies). Oleh karena itu, gen CO1 efektif digunakan sebagai DNA barcode untuk memantau perdagangan spesies pada familia Bovidae.

- Daftar Pustaka**[1] Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. *Panduan Identifikasi Jenis Satwa Liar Dilindungi: Mamalia*. Bogor: LIPI Press, 2019.
- [2] M. Syamsul and A. Zein, "Teknik Molekuler untuk Identifikasi Spesies Ordo Cetartiodactyla Menggunakan DNA Barcode Molecular Techniques for Species Identification of Cetartiodactyla Order Using DNA Barcode," July, 2016.
- [3] F. Shen, W. Zhang, and B. Yue, "DNA barcoding of 18 species of Bovidae," January, 2011, doi: 10.1007/s11434-010-4302-1.
- [4] A. Abdullah, H. A. Sativa, T. Nurhayati, and M. Nurilmala, "Pemanfaatan DNA Barkoding Untuk Ketelusuran Label Surimi-Based Products," vol. 22, 2019.
- [5] Khallaf AG, Ardura A, Borrel YJ, Vazquez EG. Towards more sustainable surimi PCR-cloning approach for DNA barcoding reveals the use of species of low trophic level and aquaculture in Asian surimi. *Food Control*. 61:62-80. 2016.
- [6] Zein MSA, dkk. *DNA Barcode Fauna Indonesia*. Jakarta: Kencana, 2013.
- [7] M. Syamsul, A. Zein, T. Haryoko, Y. S. Fitriana, E. Sulistyadi, and D. Malia, "Aplikasi Kajian DNA Molekuler dan Fenotipik Pada Program Pelepasliaran Burung Kakatua (Application of Molecular DNA and Phenotypic Study for Reintroduction Programme of Cockatoos) Aplikasi Kajian DNA Molekuler dan Fenotipik Pada Program Pelepasliaran Bu," *J. Biol. Indonesia.*, vol. 13, no 1, pp. 157–169, 2018. May 2019,
- [8] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*, 1987, 4: 406–425
- [9] M. S. A. Zein, "Barkoding DNA Burung Elang (Famili Accipitridae) di Indonesia," *J. Ilmu-ilmu Hayati Pusat Penelitian. Biologi. - LIPI*, vol. 17, no. May, pp. 165–173, 2019, doi: 10.14203/beritabiologi.v17i2.3108.
- [10] Tamura K, D. Peterson, N. Peterson , G. Stecher, M. Nei, and S Kumar. 2011.MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum

- Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.
- [11] N. Fatmarischa, - Sutopo, and S. Johari, “Jarak Genetik dan Faktor Peubah Pembeda Entok Jantan dan Betina Melalui Pendekatan Analisis Morfometrik,” *J. Peternak. Indones. (Indonesian J. Anim. Sci., vol. 16, no. 1, p. 33, 2014, doi: 10.25077/jpi.16.1.33-39.2014.*
- [12] Mitchell J.E., L.M. et al. Barcoding Bushmeat: Molecular Identification of central African and South American Harvested Vertebrates. *Conserv Genet.* no. 11, pp 1389-1404, 2010.
- [13] Jin Q., et al. Quantifying Species Diversity with a DNA Barcoding Based Method: Tibetan Month Species (Noctuidae) on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Plosone.* 8 no. 5, pp 1-13, 2013.
- [14] E. Monalisa, F. R. Mantiri, and H. J. Lengkong, “Kajian Variasi Sekuens Interspecies dan Filogeni Kelelawar *Pteropus* sp. Menggunakan Gen COI,” *J. MIPA*, vol. 8, no. 2, p. 71, 2019, doi: 10.35799/jmuo.8.2.2019.24277.
- [15] M. Syamsul, A. Zein, T. Haryoko, Y. S. Fitriana, E. Sulistyadi, and D. Malia, “Aplikasi Kajian DNA Molekuler dan Fenotipik Pada Program Pelepasliaran Burung Kakatua (Application of Molecular DNA and Phenotypic Study for Reintroduction Programme of Cockatoos) Aplikasi Kajian DNA Molekuler dan Fenotipik Pada Program Pelepasliaran Bu,” *J. Biol. Indonesia.*, vol. 13 (1), pp. 157–169 May 2019.