

Aplikasi Marker Mikrosatelit untuk Analisis Keragaman Genetik Sapi Lokal Indonesia

(Application of Microsatellite Markers for Genetic Diversity Analysis of Indonesian Local Cattle)

Dwi Nur Happy Hariyono

Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Khairun, Ternate 97719, Indonesia
Kontributor utama: d.nur.happy@unkhair.ac.id

(Diterima 20 April 2022 – Direvisi 19 Mei 2022 – Disetujui 8 Juni 2022)

ABSTRACT

Animal genetic resources (AnGR), including cattle, have been valuable national assets that need to be preserved and developed. There are at least 16 recognized breeds of cattle that have been registered as local and new breeds by the Ministry of Agriculture of the Republic of Indonesia. Conservation and development programs of these local cattle breeds require basic information regarding their genetic diversity, relationships, and structures. There are several types of DNA markers that can be used for genetic diversity analysis, such as microsatellite markers. Microsatellites or short tandem repeats (STRs) are a group of DNA sequences consisting of tandemly repeated units (1–6 bp), which are abundant throughout the genome and can be found in both coding and non-coding regions. The primary advantages of microsatellites are that they are inherited in a Mendelian pattern (codominant markers), high polymorphism rates, and high abundances throughout the genome. The aim of this review is to discuss the application of microsatellite markers for genetic diversity analysis in Indonesian local cattle based on 3 indices: number alleles per locus, expected heterozygosity (He), and polymorphisms information content (PIC). There are at least 28 microsatellite markers that have been studied in Indonesian local cattle, with the number of alleles per locus ranging from 2 to 32, He values ranging from 0.100 to 0.985, and PIC values from 0.095 to 0.935. Based on the PIC values, several microsatellites was classified as highly informative, e.g. BM1824, ILST6, TGLA126, TGLA53, TGLA227, TGLA122, ETH225, INRA23, SPS113, SPS115, BM1818, CSSM66, ETH10, INRA005, INRA037, ETH185, HEL017, and ILSTS029. Therefore, these microsatellite markers can be potentially used for future genetic diversity analysis of other breeds of cattle.

Key words: Genetic analysis, DNA marker, microsatellite, local cattle, conservation

ABSTRAK

Sumber daya genetik ternak (SDGT) sapi lokal merupakan aset nasional yang sangat berharga, sehingga perlu dilestarikan dan dikembangkan. Terdapat setidaknya enam belas rumpun/galur sapi lokal yang telah ditetapkan sebagai rumpun lokal dan dilepas sebagai rumpun/galur baru oleh Kementerian Pertanian Republik Indonesia. Program pelestarian dan pengembangan sapi-sapi lokal ini memerlukan informasi dasar berupa keragaman genetik, hubungan genetik, dan struktur genetik antar rumpun ternak. Terdapat beberapa jenis marker DNA yang dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik, salah satunya marker mikrosatelit. Mikrosatelit atau *short tandem repeats* (STRs) merupakan sekuen DNA yang terdiri dari pengulangan satu sampai enam pasang basa (*base pairs*) nukleotida, keberadaannya melimpah sepanjang genom, dan dapat ditemukan di *coding* dan *non-coding regions*. Keunggulan mikrosatelit yaitu memiliki pola pewarisan Mendel (marker kodominan), tingkat polimorfisme tinggi, dan tersebar melimpah dalam genom. Tujuan dari review ini membahas aplikasi marker mikrosatelit untuk analisis keragaman genetik sapi lokal Indonesia berdasarkan 3 indikator: jumlah alel per lokus, *expected heterozygosity* (He), dan *polymorphisms information content* (PIC). Terdapat setidaknya 28 marker mikrosatelit yang telah diteliti pada sapi lokal Indonesia, dengan kisaran jumlah alel per lokus sebanyak 2 sampai 32, nilai He bervariasi dari 0,100 sampai 0,985, dan nilai PIC dari 0,095 sampai 0,935. Berdasarkan nilai PIC, beberapa marker dikategorikan sebagai sangat informatif, antara lain BM1824, ILST6, TGLA126, TGLA53, TGLA227, TGLA122, ETH225, INRA23, SPS113, SPS115, BM1818, CSSM66, ETH10, INRA005, INRA037, ETH185, HEL013, ILSTS017, dan ILSTS029. Marker-marker tersebut dapat dipertimbangkan untuk digunakan dalam analisis keragaman genetik rumpun ternak lainnya di masa mendatang.

Kata kunci: Analisis genetik, marker DNA, mikrosatelit, sapi lokal, konservasi

PENDAHULUAN

Kementerian Pertanian hingga saat ini telah menetapkan beberapa rumpun/galur sapi lokal di

Indonesia: sapi Bali, sapi Madura, sapi Galekan, sapi Pogasi Agrinak, sapi Aceh, sapi Pesisir, sapi Sumbawa, sapi Jabres, sapi Krui, sapi Kuantan, sapi Pasundan, sapi Donggala, sapi Peranakan Ongole (PO), sapi PO

Kebumen, sapi Sumba Ongole, dan sapi Rote (Ditjen PKH 2022). Penetapan rumpun/galur tersebut dilakukan sebagai upaya untuk melindungi, melestarikan, dan mengembangkan sumber daya genetik ternak (SDGT) lokal. Berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 117/Permentan/SR.120/10/2014, penetapan rumpun atau galur adalah pengakuan pemerintah terhadap rumpun atau galur yang telah ada di suatu wilayah sumber bibit yang secara turun-temurun dibudidayakan peternak dan menjadi milik masyarakat, sedangkan pelepasan rumpun atau galur adalah penghargaan negara yang dilaksanakan oleh pemerintah terhadap suatu rumpun atau galur baru hasil pemuliaan di dalam negeri atau hasil introduksi yang dapat disebarluaskan.

Semua rumpun/galur sapi lokal yang ada di Indonesia memiliki peran strategis sebagai sumber pangan asal hewan (daging), sumber perekonomian keluarga (mata pencaharian), dan berperan dalam kegiatan sosial, budaya, dan kearifan lokal. Program pengembangan sapi lokal di Indonesia telah dilakukan melalui kegiatan pemuliaan, baik dengan seleksi maupun persilangan sesuai tujuan yang hendak dicapai oleh para pemulia. Namun demikian, program pelestarian dan pengembangan sapi lokal dapat dilakukan apabila tersedia informasi-informasi dasar tentang keragaman fenotipik dan genetik. Informasi tentang keragaman genetik dapat memberikan gambaran tentang ancaman-ancaman yang terjadi pada suatu rumpun atau populasi ternak, seperti level silang dalam, sehingga manajemen pengembangan ternak lokal yang lebih efisien dapat dilaksanakan. Dengan demikian, telah jelas bahwa informasi dasar berupa keragaman genetik ternak merupakan informasi penting dan kunci keberhasilan dalam pemanfaatan dan pengembangan SDGT yang efisien.

Keragaman genetik pada ternak telah dipelajari oleh peneliti-peneliti di dunia menggunakan metode genetika kuantitatif dengan memanfaatkan aplikasi ilmu statistika. Metode ini telah memberikan manfaat yang signifikan terhadap peningkatan produktivitas ternak melalui program seleksi dan persilangan, terutama untuk sifat pertumbuhan, produksi daging, dan produksi telur. Aplikasi genetika kuantitatif saat ini seringkali dikombinasikan dengan genetika molekuler dalam praktik pemuliaan ternak. Genetika kuantitatif biasanya digunakan untuk program seleksi sifat-sifat ekonomis berdasarkan estimasi parameter genetik dan nilai *breeding value*, sedangkan genetika molekuler digunakan untuk menganalisis variasi alel atau sekuen DNA dalam genom dan pengaruhnya terhadap fenotip menggunakan suatu marker DNA. Marker DNA merupakan DNA atau gen yang diketahui lokasinya di dalam kromosom dan dapat digunakan sebagai penciri genetik individu (genotipe). Marker DNA di bidang peternakan banyak digunakan untuk mempelajari

keragaman dan hubungan filogenetik antar bangsa, deteksi penyakit, dan mengkaji variasi sekuen DNA dan asosiasinya dengan sifat-sifat ekonomis (Agung et al. 2019; Teneva et al. 2013).

Salah satu marker DNA yang dapat digunakan untuk mempelajari keragaman genetik adalah marker mikrosatelit. Marker mikrosatelit merupakan pengulangan sekuen DNA pendek yang terdiri dari satu sampai enam basa nukleotida (1-6 *base pairs*) (Leffak et al. 2017; Ho et al. 2019). Keunggulan marker mikrosatelit antara lain: tersebar melimpah sepanjang genom, tingkat polimorfisme yang tinggi, dan bersifat kodominan. Berdasarkan keunggulan ini, banyak peneliti menggunakan marker mikrosatelit untuk mempelajari keragaman genetik sapi lokal di Indonesia (Utomo et al. 2011; Merliana et al. 2014; Septian et al. 2015; Sutarno et al. 2015; Mansur et al. 2016; Agung et al. 2019; Margawati et al. 2019; Jakaria et al. 2020). Hasil-hasil penelitian tersebut dapat memberikan informasi yang komprehensif tentang keragaman genetik pada populasi sapi lokal, yang nantinya dapat digunakan sebagai dasar dalam menyusun program pelestarian, pemanfaatan, dan pengembangan SDGT. Tulisan ini dimaksudkan untuk membahas pemanfaatan marker mikrosatelit dan aplikasinya untuk mempelajari keragaman genetik sapi lokal, khususnya di Indonesia.

JENIS RUMPUN/GALUR SAPI LOKAL INDONESIA

Saat ini terdapat beberapa spesies sapi hasil domestikasi yang tersebar di seluruh dunia. Secara umum, kebanyakan sapi hasil domestikasi tersebut termasuk kedalam spesies *Bos taurus* atau *Bos indicus* (*zebu*), yang mana keduanya merupakan keturunan dari *Bos primigenius*. Selain itu, ada juga sapi hasil domestikasi yang tergolong ke dalam spesies *Bos grunniens* (tersebar di daerah sekitar Tibet) dan gayal (*Bos frontalis*) dari India Timur yang berasal dari gaur (*Bos gaurus*) (Ahrestani 2018; Mohamad et al. 2009). Sapi Bali di Indonesia merupakan hasil domestikasi dari banteng (*Bos javanicus*) (Mohamad et al. 2009).

Di Indonesia, terdapat beberapa rumpun atau galur sapi lokal yang sudah ditetapkan atau dilepas oleh Kementerian Pertanian. Masing-masing rumpun/galur sapi lokal ini memiliki karakteristik fenotipik dan atau genetik yang khas, sehingga dapat dibedakan rumpun yang satu dengan rumpun yang lainnya. Selain itu, rumpun/galur sapi lokal memiliki beberapa keunggulan, seperti ketahanan terhadap penyakit atau parasit dan kemampuan untuk tumbuh dibawah kondisi pakan ternak yang berkualitas rendah. Jenis rumpun/galur sapi lokal di Indonesia beserta penyebaran dan karakteristik fenotipik (kualitatif dan kuantitatif) dapat dilihat di Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik rumpun atau galur sapi lokal di Indonesia

Nama sapi (rumpun/galur)	No. SK Kepmentan	Penyebaran	Karakteristik		Pustaka
			Sifat kualitatif	Sifat kuantitatif	
Krui (rumpun)	693/Kpts/PK.040/M/11/2021	Kabupaten Pesisir Barat, Provinsi Lampung	Bentuk muka segitiga ramping Bentuk tanduk melengkung ke luar (silak congklong) Warna kepala dan tubuh cokelat Memiliki gelambir Berpunuk kecil Memiliki bulu kipas hitam di ujung ekor	Sapi Krui dewasa memiliki: Bobot badan: 234,50 kg (jantan); 208,30 kg (betina) Lingkar dada: 137,00 cm (jantan); 130,30 cm (betina) Panjang badan: 133,60 cm (jantan); 127,40 cm (betina)	Hamdani et al. (2017); Ningsih et al. (2017)
Galekan (rumpun)	617/KPTS/PK.20/M/09/2020	Sepanjang pesisir selatan dan pegunungan wilayah Kabupaten Trenggalek	Memiliki warna bulu tubuh cokelat dan cokelat terang Warna moncong hitam Warna ujung ekor hitam Warna pantat smear	Sapi Galekan dewasa memiliki: Bobot badan: 310,00 kg (jantan); 224,00 kg (betina) Tinggi gumba: 115,00 cm (jantan); 110,25 cm (betina) Panjang badan: 131,50 cm (jantan); 119,75 cm (betina)	Kepmentan (2020); Kuswati et al. (2022)
Pogasi Agrinak (galur)	05/Kpts/PK.040/M/1/2020	-	Tanduk tumbuh pendek dan besar Moncong di sekitar lubang hidung berwarna hitam Punuk tumbuh sedang ke arah atas Bergelambir kecil, namun banyak Bentuk pantat tidak terlalu runcing	Sapi Pogasi Agrinak umur 2 tahun memiliki: Bobot badan: 321,00 kg (jantan); 324,90 kg (betina) Tinggi gumba: 134,30 cm (jantan); 129,20 cm (betina) Panjang badan: 128,40 cm (jantan); 128,10 cm (betina) Lingkar dada: 160,00 cm (jantan); 156,70 cm (betina)	Aryogi et al. (2020)
Rote (rumpun)	41/Kpts/PK.020/1/2017	Kabupaten Rote Ndao, Provinsi Nusa Tenggara Timur	-	-	-
PO Kebumen (galur)	358/Kpts/PK.040/6/2015	Kabupaten Kebumen, Provinsi Jawa Tengah	Memiliki warna bulu tubuh putih Moncong berwarna hitam Warna vulva merah, ada juga yang hitam	Sapi PO Kebumen betina dewasa memiliki: Tinggi gumba 133,67 cm Panjang badan 124,09 cm Lingkar dada 173,11 cm	Sudrajad & Subiharta (2014); Adinata et al. (2016)

Lanjutan Tabel 1. Karakteristik rumpun atau galur sapi lokal di Indonesia

Nama sapi (rumpun/galur)	No. SK Kepmentan	Penyebaran	Karakteristik		Pustaka
			Sifat kualitatif	Sifat kuantitatif	
Donggala (rumpun)	666/Kpts/SR.120/6/2 014	Provinsi Sulawesi Tengah	-	-	-
Kuantan (rumpun)	1052/Kpts/SR.120/10 /2014	Kabupaten Indragiri Hulu dan Kabupaten Kuantan Singingi, Provinsi Riau	Sapi Kuantan betina memiliki warna bulu dominan putih kecoklatan, bentuk tanduk melengkung ke atas, pendek, dan kecil, serta memiliki warna kaki putih Sapi Kuantan jantan memiliki warna bulu tubuh dominan putih kecoklatan, ada yang bertanduk dan tidak bertanduk, serta warna kaki putih	Sapi Kuantan jantan dewasa memiliki: Tinggi pundak : 98,84 cm Panjang badan: 88,45 cm Lingkar dada: 119,77 cm	Misrianti et al. (2018); Yendraliza et al. (2019)
Pasundan (rumpun)	1051/Kpts/SR.120/10 /2014	Provinsi Jawa Barat meliputi: Kabupaten Pangandaran, Tasikmalaya, Garut, Cianjur, Sukabumi, Ciamis, Kuningan, Majalengka, Sumedang, Indramayu dan Purwakarta	Warna bulu tubuh cokelat kemerahan (merah bata) Ujung ekor hitam Tanduk hitam (ada juga yang tidak bertanduk) Moncong hitam	Sapi Pasundan umur poel 1 memiliki: Tinggi gumba :113,13 cm (jantan); 106,93 cm (betina) Panjang badan: 113,39 (jantan); 109,63 (betina) Lingkar dada: 132,33 (jantan); 130,28 (betina)	Said et al. (2017)
Sumba Ongole rumpun)	427/Kpts/SR.120/3/ 2014	Provinsi Nusa Tenggara Timur	Sapi Sumba Ongole jantan dan betina memiliki warna bulu tubuh dominan putih	Sapi Sumba Ongole grade II umur 18-24 bulan memiliki: Panjang badan: 134±2,15 cm (jantan); 118±0,88 cm (betina) Tinggi Pundak: 136±2,27 cm (jantan); 123±0,93 cm (betina) Lingkar dada: 168±2,09 cm (jantan);154±1,30 cm (betina)	Kambanau et al. (2022)

Lanjutan Tabel 1. Karakteristik rumpun atau galur sapi lokal di Indonesia

Nama sapi (rumpun/galur)	No. SK Kepmentan	Penyebaran	Karakteristik		Pustaka
			Sifat kualitatif	Sifat kuantitatif	
Jabres (rumpun)	2842/Kpts/LB.430/8/2012	Kabupaten Brebes, Provinsi Jawa Tengah	Sapi Jabres betina memiliki: warna tubuh melahonais, kaki depan dan belakang berwarna merah, tidak berpunuk, tanduk besar, terdapat garis punggung dan warna putih pada pantat, dan ada spot putih pada dahi (100%)	Sapi Jabres betina dewasa memiliki rata-rata: Tinggi pundak: 111,4±4,65 cm Panjang badan : 121±7,00 cm Lingkar dada: 146,2±5,94 cm	Ramadhan et al. (2014)
Peranakan Ongole (rumpun)	2841/Kpts/LB.430/8/2012	Seluruh wilayah Indonesia	Sapi PO betina memiliki: Gelambir lebar Warna bulu dominan putih Profil muka segitiga lurus Bertanduk (warna hitam) Terdapat punuk Telinga agak menggantung Moncong hitam Tracac hitam	Sapi PO dewasa memiliki rata-rata: Bobot badan: 331,3 kg (jantan); 302,6 kg (betina) Panjang badan: 132,1 cm (jantan) ; 134,3 cm (betina) Tinggi gumba: 132,9 cm (jantan) ; 125,7 cm (betina) Lingkar dada: 163,3 cm (jantan) ; 157,1 cm (betina)	Hartati et al. (2009); Trifena et al. (2011)
Aceh (rumpun)	2907/Kpts/OT.140/6/2011	Provinsi Aceh	Warna bulu merah bata Bentuk muka cekung Tanduk tumbuh beragam, namun mayoritas tumbuh menyamping ke atas menyerupai huruf V dan ada yang tumbuh kesamping melengkung ke atas ke depan	Sapi Aceh dewasa memiliki: Bobot badan: 191,13 kg (jantan); 169,02 kg (betina) Panjang badan: 117,35 cm (jantan); 112,89 cm (betina) Lingkar dada: 141,00 cm (jantan); 132,63 cm (betina) Tinggi gumba: 105,90 cm (jantan); 100,28 cm (betina)	Mukhtar et al. (2015); Widi et al. (2016); Masduqi et al. (2021)
Pesisir (rumpun)	2908/Kpts/OT.140/6/2011	Provinsi Sumatera Barat	Secara umum, sapi Pesisir memiliki: -Warna tubuh didominasi merah dengan variasi warna mulai dari kekuning-kuningan sampai kehitaman - Bulu mata berwarna pirang - Warna coklat kehitaman pada bagian punggungnya - Warna keputihan pada bagian kakinya - Bulu ekor berwarna hitam - Telinga mengarah ke samping	-	Putri et al. (2019)

Lanjutan Tabel 1. Karakteristik rumpun atau galur sapi lokal di Indonesia

Nama sapi (rumpun/galur)	No. SK Kepmentan	Penyebaran	Karakteristik		Pustaka
			Sifat kualitatif	Sifat kuantitatif	
Sumbawa (rumpun)	2909/Kpts/OT.140/6/2011	Pulau Sumbawa, Provinsi Nusa Tenggara Barat	-	-	-
Bali (rumpun)	325/Kpts/OT.140/1/2010	Hampir ke seluruh wilayah Indonesia	<ul style="list-style-type: none"> - Bertanduk/tidak bertanduk - Memiliki warna kelopak mata hitam - Warna bulu merah bata (betina) dan berubah menjadi kehitaman seiring bertambahnya umur (jantan) - Warna moncong putih - Warna putih di kaki bagian bawah (seperti kaos kaki) - Warna pantat putih 	Ciri sapi Bali umur 3 tahun : Bobot badan: 210,10 kg (jantan) ; 207,89 kg (betina) Tinggi pundak: 113,79 (jantan); 117,82 (betina) Lingkar dada: 155,22 (jantan); 160,16 (betina) Panjang badan: 115,56 (jantan); 119,75 (betina)	Hikmawaty et al. (2014); Zulkharnaim et al. (2020)
Madura (rumpun)	3735/Kpts/HK040/11/2010	Provinsi Jawa Timur, khususnya Pulau Madura	<ul style="list-style-type: none"> - Bulu tubuh berwarna merah bata (jantan) dan kuning kecoklatan (betina) - Kaki berwarna putih dengan batas yang tidak jelas - Ujung ekor berwarna hitam - Pantat berwarna putih dengan batas yang tidak jelas - Jantan berpuncuk - Memiliki tanduk kecil mengarah ke arah luar 	Ciri sapi Madura betina umur 2 tahun : <ul style="list-style-type: none"> - Bobot badan 191,70 kg - Lingkar dada 133,60 cm - Panjang badan 124,00 cm - Tinggi gumba 115,70 cm 	Nurgartiningih et al. (2016); Maylinda et al. (2021)

Sumber : 1) Ditjen PKH (2022)

Keterangan :

1. Kepmentan: Keputusan Menteri Pertanian;
2. Rumpun adalah segolongan hewan dari suatu spesies yang mempunyai ciri fenotipe yang khas dan dapat diwariskan pada keturunannya (Permentan Nomor 117/Permentan/SR.120/10/2014);
3. Galur adalah sekelompok individu hewan dalam satu rumpun yang mempunyai karakteristik tertentu yang dimanfaatkan untuk tujuan pemuliaan atau perkembangbiakkan (Permentan Nomor 117/Permentan/SR.120 /10/2014) Secara umum, sapi-sapi lokal di Indonesia merupakan hasil persilangan antara Bos zebu dan sapi Bali (*Bos sondaicus*) (Mohamad et al. 2009; Nijman et al. 2003). Rumpun/galur sapi lokal hasil persilangan tersebut termasuk sapi Madura di Pulau Madura dan sekitarnya, sapi Jabres di Kabupaten Brebes, sapi Rancah di Kabupaten Ciamis, sapi Rambon di Kabupaten Bondowoso, dan sapi Galekan di Kabupaten Trenggalek (Sutarno et al. 2015). Berdasarkan analisis amplified fragment length polymorphism (AFLP) dan satellite fragment length polymorphisms (SFLP), sapi Madura memiliki DNA mitokondria dari zebu dan banteng, dan analisis mikrosatelit menunjukkan bahwa sapi Bali memiliki alel spesifik yang juga terdeteksi pada banteng (Nijman et al. 2003).

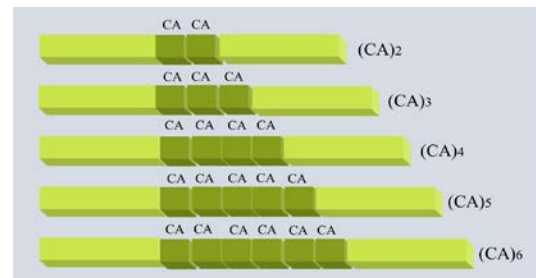
Hasil analisis filogenetik menggunakan marker gen mitokondria sitokrom *b* menunjukkan bahwa sapi Pasundan memiliki hubungan genetik yang dekat dengan sapi Pacitan. Keduanya merupakan keturunan dari *Bos javanicus* dan *Bos indicus* (Hartatik et al. 2019). Berdasarkan analisis DNA mitokondria, *Y-chromosomal*, dan mikrosatelit menunjukkan bahwa sapi Aceh, sapi Pesisir, dan sapi PO memiliki hubungan genetik yang dekat dengan bangsa sapi Zebu dan sapi Bali. Hal ini menunjukkan bahwa *Bos zebu* dan sapi Bali merupakan tetua dari ketiga rumpun sapi lokal tersebut. Hasil analisis DNA mitokondria menunjukkan bahwa sapi Madura dan sapi Galekan memiliki DNA mitokondria dari banteng dan lebih dekat hubungan genetiknya dengan sapi Bali, serta lebih jauh dari Zebu India (Mohamad et al. 2009). Beberapa populasi sapi lokal Indonesia, seperti sapi Donggala, sapi Madura, sapi Sragen, sapi Galekan, dan sapi Rambon memiliki *maternal lineage* dari *Bos javanicus* berdasarkan analisis mtDNA *cyt b* (Prihandini et al. 2020). Berdasarkan analisis mikrosatelit, sapi-sapi lokal di Indonesia diklasifikasikan menjadi tiga klaster, yaitu klaster *Bos taurus* (sapi Simmental Indonesia), *Bos indicus* (sapi Sumba Ongole, sapi Peranakan Ongole, sapi Madura, sapi Pasundan, dan sapi Pesisir), dan *Bos javanicus* (Banteng dan sapi Bali) (Agung et al. 2019).

MARKER MIKROSATELIT

Definisi dan keunggulan

Mikrosatelit atau *short tandem repeats* (STRs) merupakan sekuen DNA yang terdiri dari pengulangan satu sampai enam pasang basa (*base pairs*) nukleotida, keberadaannya melimpah sepanjang genom, dan dapat ditemukan di *coding* dan *non-coding regions* (Leffak et al. 2017; Ho et al. 2019). Sebagai contoh, sekuen basa nukleotida CA (*dinucleotide repeated sequences*) diulang sebanyak dua, tiga, empat, lima, dan enam kali (Gambar 1). Pengulangan sekuen di-, tri- dan tetra nukleotida merupakan motif sekuen basa yang paling sering digunakan dalam studi genetika molekuler (Wang et al. 2021). Motif sekuen basa tersebut biasanya memiliki pengulangan 5 sampai 20 kali dalam genom dengan panjang minimal 12 bp, namun jumlah pengulangan juga dapat bervariasi dalam DNA genom populasi (Al-Samarai & Al-Kazaz 2015; Prajapati et al. 2017). Laju mutasi dari marker mikrosatelit berkisar antara 10^{-2} dan 10^{-4} per generasi (Miah et al. 2013). Laju mutasi mikrosatelit dipengaruhi oleh pola stabilisasi mikrosatelit dan relatif lebih tinggi lajunya di daerah yang mendekati *heterozygous sites*. Stabilitas mikrosatelit dipengaruhi oleh panjang bentangan *tandem repeats*. Semakin panjang bentangan *tandem*

repeats, semakin besar pula kemungkinan adanya penyejajaran kembali konfirmasi yang tidak selaras selama replikasi, sehingga menghasilkan tingkat mutasi yang lebih tinggi (Anmarkrud et al. 2008).



Gambar 1. Contoh motif pengulangan basa nukleotida CA (*dinucleotide repeated sequences*) pada marker mikrosatelit (Al-Samarai and Al-Kazaz 2015).

Mikrosatelit memiliki beberapa keunggulan, antara lain memiliki pola pewarisan Mendel (marker kodominan), tidak mengkode protein, dan tersebar melimpah dalam genom (tingkat polimorfisme yang tinggi) (Miah et al. 2013; Al-Samarai & Al-Kazaz 2015). Berdasarkan keunggulan-keunggulan ini, marker mikrosatelit menjadi salah satu marker genetik paling populer untuk deteksi keragaman genetik, terutama untuk program pemuliaan ternak (Singh et al. 2014). Namun demikian, ada beberapa faktor yang harus dipertimbangkan dalam penggunaan marker mikrosatelit, termasuk biaya analisis yang mahal, kerumitan analisis sampel dan data di laboratorium, pengembangan primer spesifik, munculnya *stutter bands*, adanya *null alleles*, dan homoplasi (Abdul-Muneer 2014; Miah et al. 2013). Penggunaan mikrosatelit untuk populasi yang besar juga membutuhkan tenaga dan waktu yang lebih, karena mikrosatelit-mikrosatelit yang akan digunakan untuk analisis genetik perlu dilakukan *screening* dan pengelompokan berdasarkan pewarna/*fluorescent* (Miah et al. 2013).

Marker mikrosatelit sering diaplikasikan untuk studi keragaman genetik, hubungan filogenetik, struktur genetik populasi, dan analisis *quantitative trait loci* (QTLs) (Abebe et al. 2015; Azimu et al. 2018; De Carvalho et al. 2020; Habimana et al. 2020; Hariyono et al. 2019; Zhang et al. 2021). Marker mikrosatelit juga telah diaplikasikan untuk studi keragaman genetik sapi lokal di Indonesia (Utomo et al. 2011; Merliana et al. 2014; Septian et al. 2015; Sutarno et al. 2015; Mansur et al. 2016; Agung et al. 2019; Margawati et al. 2019; Jakaria et al. 2020). Hasil-hasil penelitian tersebut dapat memberikan informasi berupa estimasi variasi genetik yang ada dalam dan antar rumpun atau populasi ternak, yang mana informasi tersebut dapat digunakan sebagai dasar penyusunan program

pelestarian dan pengembangan ternak oleh para pemulia, peneliti, dan pengambil kebijakan.

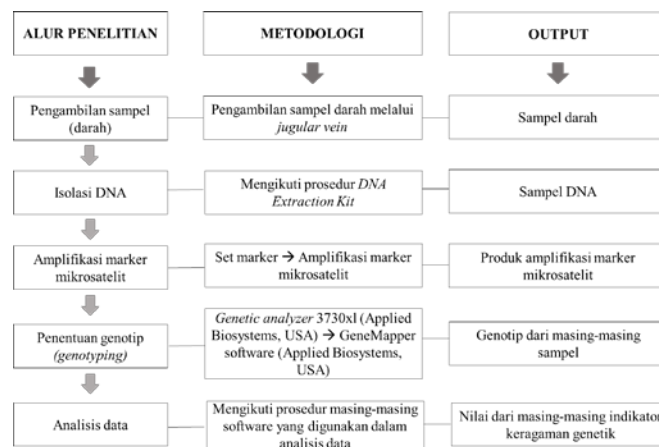
Tahapan analisis mikrosatelit untuk keragaman genetik

Secara umum, alur penelitian marker mikrosatelit untuk mempelajari keragaman genetik ternak terdiri dari pengambilan sampel (darah) dengan output berupa sampel darah, isolasi DNA dengan output berupa sampel DNA, amplifikasi marker mikrosatelit dengan output berupa produk amplifikasi marker mikrosatelit, penentuan genotipe (*genotyping*) dengan output berupa genotipe dari masing-masing sampel, dan analisis data dengan output berupa nilai dari masing-masing indikator keragaman genetik (Gambar 2). Prosedur ini juga dapat digunakan untuk analisis mikrosatelit pada spesies ternak yang lain, seperti kambing, domba, ayam, kuda, dan lainnya, dengan modifikasi sesuai masing-masing jenis spesies dan kebutuhan analisis di laboratorium.

1. Pengambilan sampel (darah): Pengambilan sampel darah dapat dilakukan oleh teknisi menggunakan *venoject* melalui *jugular vein* dan ditampung ke dalam tabung *vacutainer* yang mengandung antikoagulan. Sampel darah sebaiknya disimpan ke dalam *ice box* selama pengambilan sampel di lapangan, dan disimpan pada suhu -20°C hingga sampel tersebut digunakan untuk ekstraksi DNA. Sampel untuk ekstraksi DNA dapat juga diperoleh dari sumber lainnya: semen, kulit, tulang, dan jaringan.
2. Isolasi DNA: Isolasi DNA merupakan tahapan yang penting, karena kualitas DNA menentukan kualitas output pada tahapan analisis selanjutnya. Isolasi DNA dapat dilakukan menggunakan teknik konvensional dan *kit*. Saat ini banyak *DNA extraction kit* untuk isolasi DNA, seperti *DNeasy Blood & Tissue Kit* (Qiagen, Hilden, Germany), *gSYNC™ DNA Extraction Kit* (Geneaid Biotech Ltd., Sijhieh, Taiwan), dan lain-lain. Sampel DNA

lalu disimpan pada suhu -20°C sebelum digunakan dalam tahapan PCR, dicek kualitas dan kuantitasnya menggunakan elektroforesis pada 1% gel agarose dan spektrofotometer pada NanoDrop 2000C (thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

3. Amplifikasi marker mikrosatelit: Pemilihan marker mikrosatelit untuk analisis genetik merupakan faktor penting yang harus diperhatikan dalam tahapan amplifikasi. *Food and Agriculture Organization* (FAO) telah merekomendasikan 30 marker mikrosatelit yang tersebar di beberapa kromosom untuk karakterisasi genetik ternak sapi. Tiga puluh marker mikrosatelit tersebut dikelompokkan menjadi 8 *multiplex group* berdasarkan pewarnaan *fluorescent (fluorescent-labeled primers)*. Pewarnaan tersebut terdiri dari HEX, FAM, dan TET (FAO 2011). Namun demikian, penggunaan jumlah marker mikrosatelit perlu diperhatikan karena berkaitan dengan dana penelitian, kerumitan analisis di laboratorium, waktu analisis, dan jumlah sampel. Amplifikasi marker mikrosatelit meliputi tahap *pre-denaturasi*, *denaturasi*, *annealing*, *extension*, dan *final extension*. Output dari tahap 3 ini adalah produk amplifikasi marker mikrosatelit.
4. Penentuan genotipe (*genotyping*): Penentuan genotipe dapat dilakukan menggunakan mesin Genetic Analyzer 3730xl (Applied Biosystems, USA). Data hasil *genotyping* dari mesin tersebut, lalu dibaca pada software GeneMapper ver. 4.1. (Applied Biosystems, USA). Output yang dihasilkan dari tahapan ini adalah data genotipe.
5. Analisis data: Data genotipe dari tahap 4 dapat disimpan dalam bentuk format text document. Data genotipe juga dapat *dicopy* ke dalam jenis file dokumen yang lain dan diformat sesuai dengan ketentuan format input data pada masing-masing software yang akan digunakan untuk analisis genetik.



Gambar 2. Skema alur penelitian keragaman genetik sapi menggunakan mikrosatelit.

Aplikasi mikrosatelit untuk keragaman genetik sapi lokal Indonesia

Beberapa peneliti telah menggunakan marker mikrosatelit untuk menganalisis keragaman dan hubungan genetik sapi-sapi lokal di Indonesia. Terdapat setidaknya 28 marker mikrosatelit yang telah diuji tingkat keragamannya di sapi lokal Indonesia (Tabel 2). Indikator-indikator yang umum digunakan untuk menggambarkan keragaman genetik berdasarkan marker mikrosatelit adalah jumlah alel per lokus,

expected heterozygosity (He), dan *polymorphism information content* (PIC). Jumlah alel per lokus adalah jumlah alel yang terdeteksi pada suatu lokus mikrosatelit, He adalah proporsi genotipe heterosigot di suatu populasi dalam kondisi *Hardy-Weinberg equilibrium* (HWE), dan PIC adalah kemampuan suatu marker untuk mendeteksi polimorfisme, atau dengan kata lain tingkat *informativeness* suatu marker dalam membedakan individu-individu di dalam dan antar populasi.

Tabel 2. Hasil penelitian keragaman genetik sapi lokal menggunakan mikrosatelit

Rumpun sapi	Jumlah marker	Nama marker	Jumlah alel per lokus	He	PIC	Pustaka
Bali, Madura, PO Kebumen	4	INRA035	8	-	0,586	Jakaria et al. (2020)
		ILSTS006	12	-	0,793	
		ETH225	12	-	0,804	
		HEL9	14	-	0,767	
Peranakan Ongole, Bali, Pesisir, Sumba Ongole, Madura, Banteng, dan Pasundan	12	BM1824	23	0,862	0,847	Agung et al. (2019)
		ILST6	25	0,881	0,869	
		TGLA126	23	0,934	0,928	
		TGLA53	32	0,893	0,885	
		TGLA227	32	0,917	0,909	
		TGLA122	30	0,927	0,920	
		ETH225	31	0,940	0,935	
		INRA23	24	0,911	0,903	
		SPS113	27	0,921	0,914	
		SPS115	19	0,825	0,810	
BM1818	14	0,793	0,768			
CSSM66	26	0,727	0,715			
Bali	1	ETH10	5	0,600	0,533	Margawati et al. (2019)
Bali	2	HEL9	2	-	-	Mansur et al. (2016)
		INRA035	3	-	-	
Madura, Bali, PO, dan Aceh	5	TGLA227	4	0,480	0,480	Sutarno et al. (2015)
		ETH225	5	0,550	0,550	
		BM1824	4	0,410	0,410	
		INRA005	3	0,600	0,600	
		MM12	5	0,720	0,710	
Bali	4	SPS115	10	0,779	0,744	Septian et al. (2015)
		MM12	2	0,100	0,095	
		INRA037	14	0,884	0,867	
		ETH185	6	0,653	0,613	
Bali	1	BM1329	4	0,478	0,435	Merliana et al. (2014)
Katingan	10	ILSTS045	18	0,478	-	Utomo et al. (2011)
		HEL013	12	0,985	-	
		ILSTS017	10	0,985	-	
		ILSTS089	14	0,393	-	
		ILSTS029	16	0,677	-	
		ILSTS061	14	0,235	-	
		CSSM066	9	0,154	-	
		BM1818	13	0,232	-	
		ILSTS036	16	0,297	-	
		ILSTS026	14	0,485	-	

Keterangan: He: *expected heterozygosity*; PIC: *polymorphism information content*

Jumlah alel per lokus yang sama dengan nol (0) menunjukkan bahwa tidak ada polimorfisme pada lokus mikrosatelit yang diteliti, sedangkan semakin tinggi jumlah alel per lokus menunjukkan semakin tinggi jumlah varian alel yang dapat dideteksi dalam suatu lokus mikrosatelit. Agung et al. (2019) menguji 12 lokus mikrosatelit pada sembilan populasi sapi dan satu populasi banteng di Indonesia. Semua lokus mikrosatelit yang diuji memiliki jumlah alel per lokus yang tinggi, berkisar antara 14 (BM1818) sampai 32 (TGLA53 dan TGLA227) alel per lokus. Utomo et al. (2011) mendeteksi 9 (CSSM066) sampai 18 (ILST045) alel per lokus pada populasi sapi Katingan, sedangkan Sutarno et al. (2015) hanya mendeteksi 3 (INRA005) sampai 5 (ETH225 dan MM12) alel per lokus pada populasi sapi Madura, sapi Bali, sapi PO, dan sapi Aceh. Terdapat beberapa lokus mikrosatelit yang memiliki jumlah alel per lokus tidak lebih dari 3, yaitu lokus INRA005 (Sutarno et al. 2015), MM12 (Septian et al. 2015), HEL9 dan INRA035 (Mansur et al. 2016). Suatu marker mikrosatelit dapat dikategorikan informatif jika setidaknya memiliki empat alel per lokus (Wimmers et al. 2000). Oleh karena itu, marker-marker yang memiliki jumlah alel per lokus lebih dari empat (Tabel 1) sangat direkomendasikan untuk digunakan dalam analisis keragaman, hubungan, dan struktur genetik populasi. Secara umum, jumlah alel per lokus dari berbagai marker mikrosatelit yang digunakan pada sapi lokal Indonesia berkisar dari 2 (HEL9 dan MM12) sampai 32 (TGLA53 dan TGLA227); 33,33% marker mempunyai jumlah alel per lokus <10 ; dan 66,67% marker dengan jumlah alel per lokus >10 , sehingga membuka peluang untuk eksplorasi marker mikrosatelit lain diuji cobakan pada sapi lokal Indonesia.

He merupakan salah satu indikator keragaman genetik yang umum diteliti. Nilai He merupakan probabilitas (*expected*; yang diharapkan) pada suatu individu untuk bergenotipe heterozigot pada lokus tertentu. Tidak ada klasifikasi nilai He, namun He memiliki kisaran nilai antara 0 (rendah) sampai 1 (tinggi). Klasifikasi keragaman genetik: rendah, sedang, dan tinggi berdasarkan nilai He hanya bersifat relatif, tergantung apakah mendekati nol (0) atau mendekati satu (1). Nilai He sama dengan 1 artinya semua individu dalam suatu populasi berpeluang 100% untuk memiliki genotipe heterozigot pada lokus tertentu dengan asumsi bahwa individu-individu tersebut berada dalam populasi yang memenuhi keseimbangan *Hardy-Weinberg* (*Hardy-Weinberg equilibrium*).

Secara umum, nilai He dari lokus mikrosatelit yang pernah diteliti pada populasi sapi lokal Indonesia berkisar antara 0,100 (MM12) sampai 0,935 (ETH225). Hanya terdapat beberapa lokus yang memiliki nilai He $\leq 0,250$, yaitu lokus ILST061, CSSM066, dan

BM1818 di populasi sapi Katingan (Utomo et al. 2011) dan MM12 di populasi sapi Bali (Septian et al. 2015). Lokus dengan nilai He yang mendekati nol (0) menunjukkan bahwa keragaman genetik sapi lokal Indonesia pada lokus-lokus tersebut rendah. Keragaman genetik yang rendah salah satunya dapat dipengaruhi oleh silang dalam. Nilai He dapat berkurang sebesar 50% dalam 15 generasi akibat adanya silang dalam (*inbreeding*) (Norris et al. 2001). Populasi dengan jumlah individu yang terbatas dapat meningkatkan kejadian silang dalam, sehingga dapat menurunkan kemampuan suatu populasi untuk bertahan hidup dan menurunkan keberhasilan reproduksi sebagai akibat dari depresi silang dalam.

Terdapat temuan menarik dari marker mikrosatelit pada sapi lokal Indonesia. Misalnya: lokus CSSM066 pada sapi Katingan memiliki jumlah alel sebanyak 9 buah, namun nilai He pada lokus tersebut relatif rendah ($He = 0,154$). Hasil ini diduga bahwa 9 alel yang terdeteksi di lokus CSSM066 pada sapi Katingan sebagian besar muncul dalam bentuk homosisgot dan sebagian kecil dalam bentuk heterosisgot, sehingga nilai He relatif rendah walaupun jumlah alel yang terdeteksi relatif banyak. Nilai He yang relatif rendah menunjukkan bahwa lokus CSSM066 pada sapi Katingan memiliki keragaman genetik yang relatif rendah. Beberapa faktor penyebab rendahnya keragaman genetik yaitu: jumlah populasi yang terbatas, silang dalam, dan *positive assortive mating*. Salah satu cara untuk meningkatkan keragaman genetik yaitu penerapan *negative assortive mating*. *Negative assortive mating* dapat meningkatkan jumlah individu yang bergenotipe heterosisgot dalam suatu populasi karena pasangan perkawinan (individu yang terlibat dalam perkawinan) dipilih berdasarkan fenotipe/genotipe yang berbeda. Selain itu, introduksi ternak dari populasi lain dari jenis rumpun sapi yang sama ke dalam populasi yang diteliti dapat dilakukan guna meningkatkan keragaman genetik.

Indikator lain yang umum diteliti dalam analisis mikrosatelit adalah PIC. PIC merupakan kemampuan suatu marker untuk mendeteksi polimorfisme, dan merupakan faktor penting dalam memilih marker DNA. Jika suatu marker DNA tidak mampu mendeteksi polimorfisme atau perbedaan genetik antar individu, maka kegunaan marker tersebut tidak efektif. Oleh karena itu, pemilihan marker mikrosatelit yang informatif berdasarkan indikator nilai PIC sangat penting guna mengurangi biaya analisis dan meningkatkan akurasi hasil (Serrote et al. 2020). Terdapat klasifikasi nilai PIC, yaitu sangat informatif ($PIC > 0,50$), cukup informatif ($0,50 > PIC > 0,25$), dan kurang informatif ($PIC < 0,25$) (Botstein et al. 1980). Berdasarkan klasifikasi tersebut, marker mikrosatelit yang pernah dideteksi pada populasi lokal di Indonesia memiliki nilai PIC yang beragam. Lokus MM12

memiliki nilai PIC sebesar 0,710 (sangat informatif) di populasi sapi Madura, sapi Bali, sapi PO, dan sapi Aceh (Sutarno et al. 2015), namun nilai PIC pada lokus tersebut hanya 0,095 (kurang informatif) di populasi sapi Bali (Septian et al. 2015). Hal ini menunjukkan bahwa tingkat *informativeness* dari suatu marker mikrosatelit tergantung pada populasi yang diteliti. Lokus MM12 di populasi sapi Bali yang diteliti oleh Septian et al. (2015) tidak direkomendasikan untuk digunakan dalam menyimpulkan hubungan dan struktur genetik populasi yang diteliti, namun demikian lokus ini sangat direkomendasikan untuk digunakan dalam menyimpulkan hubungan genetik dan struktur genetik antar populasi sapi Madura, sapi Bali, sapi PO, dan sapi Aceh yang diteliti oleh Sutarno et al. (2015). Oleh karena itu, marker-marker dengan nilai PIC > 0,50 sangat direkomendasikan untuk digunakan dalam analisis keragaman, hubungan, dan struktur genetik antar populasi sapi lokal di Indonesia di masa mendatang.

Marker mikrosatelit juga banyak digunakan untuk studi keragaman genetik populasi sapi di luar negeri, termasuk populasi sapi di Mesir (sapi Baladi dan sapi Menufi; lokus ETH10, ETH225, BM1818, BM1824, BM2113, SPS115, TGLA53 dan TGLA126), sapi di Eropa (sapi Tagil, sapi Red Gorbato, dan sapi Ukrainan Grey; lokus ILST006, SPS115, BM1824, TGLA122, ETH3, ETH225, BM2113, TGLA126, CSSM66, TGLA53, INRA023, CSRM60, ETH10, dan TGLA227), sapi di Rusia (sapi Black Pied; lokus BM1818, BM1824, BM2113, ETH3, ETH10, ETH225, TGLA122, TGLA126, TGLA227, INRA023, dan SPS115), dan sapi di Spanyol (sapi Pirenaica; 30 lokus sesuai rekomendasi FAO) (Aitnazarov et al. 2022; Faid-Allah et al. 2018; Gamarra et al. 2020; Svishcheva et al. 2020). Hasil-hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan marker mikrosatelit bermanfaat dalam memberikan informasi tentang level silang dalam, status keragaman genetik, level *heterozygote deficiency/excess*, serta struktur dan perbedaan genetik antar populasi.

Keragaman genetik merupakan faktor penting dalam keberlangsungan hidup suatu rumpun ternak. Semakin tinggi keragaman genetik, semakin besar pula peluang suatu rumpun untuk dapat bertahan hidup, terutama saat perubahan iklim yang tidak menentu di masa mendatang. Selain perubahan iklim, tuntutan produk peternakan yang tidak menentu di masa mendatang menuntut suatu rumpun ternak untuk memiliki keragaman genetik (variasi alel). Keragaman genetik inilah yang menjadi dasar bagi pemulia untuk menciptakan galur baru dengan karakteristik ekonomis sesuai dengan tujuan yang hendak dicapai (*breeding goal*). Identifikasi alel-alel unik yang hanya terdeteksi pada rumpun sapi tertentu juga penting, karena dapat

menjadi penciri genetik suatu rumpun dibandingkan rumpun lainnya.

KESIMPULAN

Marker mikrosatelit terbukti dapat diaplikasikan untuk analisis keragaman genetik sapi lokal di Indonesia. Kisaran dari masing-masing indikator keragaman genetik adalah sebagai berikut: terdapat 2 sampai 32 alel per lokus, nilai He rendah sampai tinggi (0,100–0,985), dan nilai PIC beragam (0,095–0,935). Berdasarkan nilai PIC, terdapat beberapa marker yang dikategorikan sangat informatif, antara lain BM1824, ILST6, TGLA126, TGLA53, TGLA227, TGLA122, ETH225, INRA23, SPS113, SPS115, BM1818, CSSM66, ETH10, INRA005, INRA037, ETH185, HEL013, ILSTS017, dan ILSTS029. Kedepan, marker tersebut dapat dipertimbangkan untuk digunakan dalam analisis keragaman genetik rumpun ternak lainnya. Namun demikian, pengelompokan marker berdasarkan tingkat *informativeness* tersebut sangat tergantung pada sub populasi sapi yang diteliti.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul-Muneer PM. 2014. Application of microsatellite markers in conservation genetics and fisheries management: recent advances in population structure analysis and conservation strategies. *Genet Res Int*. 2014:691759.
- Abebe AS, Mikko S, Johansson AM. 2015. Genetic diversity of five local Swedish chicken breeds detected by microsatellite markers. *PLoS One*. 10:1–13.
- Adinata Y, Aryogi, Pamungkas D. 2016. Morfostruktural bangsa Sapi PO, PO Kebumen dan Bali, dasar informasi genetik mendukung ketahanan pangan, in: *Prosiding Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pertanian*. Banjarbaru (Indonesia): IAARD Press. p. 1227–1233.
- Agung PP, Saputra F, Zein MSA, Wulandari AS, Putra WPB, Said S, Jakaria J. 2019. Genetic diversity of Indonesian cattle breeds based on microsatellite markers. *Asian-Australas J Anim. Sci*. 32:467–476.
- Ahrestani F. 2018. *Bos frontalis* and *Bos gaurus* (Artiodactyla: Bovidae). *Mamm Species*. 50:34–50.
- Aitnazarov R, Mishakova T, Yudin N. 2022. Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationships in Black Pied cattle in the Novosibirsk Region using microsatellite markers. *Vavilov J Genet Breed*. 25:831–838.
- Al-Samarai FR, Al-Kazaz AA. 2015. Molecular markers: an introduction and applications. *Eur J Mol Biotechnol*. 9:118–130.
- Anmarkrud JA, Kleven O, Bachmann L, Lifjeld JT. 2008. Microsatellite evolution: Mutations, sequence

- variation, and homoplasy in the hypervariable avian microsatellite locus HrU10. *BMC Evol Biol.* 8:138.
- Aryogi, Pamungkas D, Efendy J. 2020. Formation and phenotypic performance of the new breed POGASI Agrinak cattle. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci.* 492:12106.
- Azimu W, Manatbay B, Li Y, Kaimaerdan D, Wang HE, Rehemana A, Muhatai G. 2018. Genetic diversity and population structure analysis of eight local chicken breeds of Southern Xinjiang. *Br Poult Sci.* 59:629–635.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Gen.* 32:314–331.
- De Carvalho DA, Martínez AM, Carolino I, Barros MC, Vallejo MEC, Santos-Silva F, Almeida MJDO, Carolino N, Bermejo JVD, Sarmiento JLR. 2020. Diversity and genetic relationship of free-range chickens from the northeast region of Brazil. *Animals.* 10:1–14.
- [Ditjen PKH] Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2022. Jenis rumpun sapi [Internet]. [Diakses pada 25 Maret 2022]. Tersedia di: <http://bibit.ditjenpkh.pertanian.go.id/jenis-rumpun/sapi>.
- Faid-Allah E, Ghoneim E, Elbetagy AR, El-Dabour M. 2018. Genetic diversity and structure of native Egyptian cattle populations and French-Egyptian Cross via DNA-microsatellite. *JITV.* 23:1-10.
- [FAO] Food and Agricultural Organization. 2011. Molecular genetic characterization of animal genetic resources, in: *FAO Animal Production and Health Guidelines*. Cambridge (UK): Cambridge University Press.
- Gamarra D, Taniguchi M, Aldai N, Arakawa A, Lopez-Oceja A, de Pancorbo MM. 2020. Genetic characterization of the local pirenaica cattle for parentage and traceability purposes. *Animals.* 10:1–13.
- Habimana R, Okeno TO, Ngeno K, Mboumba S, Assami P, Gbotto AA, Keambou CT, Nishimwe K, Mahoro J, Yao N. 2020. Genetic diversity and population structure of indigenous chicken in Rwanda using microsatellite markers. *PLoS One.* 15:1–17.
- Hamdani MDI, Adhianto K, Sulastri, Husni A, Renitasari. 2017. Ukuran-ukuran tubuh sapi Krui jantan dan betina di Kabupaten Pesisir Barat Lampung. *Jurnal Ilmu Ternak.* 17:97–102.
- Hariyono DNH, Maharani D, Cho S, Manjula P, Seo D, Choi N, Sidadolog JHP, Lee JH. 2019. Genetic diversity and phylogenetic relationship analyzed by microsatellite markers in eight Indonesian local duck populations. *Asian-Australas J Anim Sci.* 32:31–37.
- Hartati, Sumadi, Hartatik T. 2009. The identification of genetic characteristic of Ongole Grade cattle in smallholder farmers. *Buletin Peternakan.* 33:64–73.
- Hartatik T, Hariyono DNH, Adinata Y. 2019. Short communication: Genetic diversity and phylogenetic analysis of two Indonesian local cattle breeds based on cytochrome b gene sequences. *Biodiversitas.* 20:17–22.
- Hikmawaty, Gunawan A, Noor R, Jakaria. 2014. Identification of body size and body shape of Bali cattle in breeding centers on principal component analysis. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan.* 2:231–237.
- Ho EKH, MacRae F, Latta LC, Benner MJ, Sun C, Ebert D, Schaack S, Rogers R. 2019. Intraspecific variation in microsatellite mutation profiles in *Daphnia magna*. *Mol Biol Evol.* 36:1942–1954.
- Jakaria J, Alwiyah A, Saputra F, Baihaqi M, Noor RR. 2020. Genetic diversity between Bali cattle (*Bos javanicus*) and its hybrids using microsatellite markers. *Iran J Appl Anim Sci.* 10:453–460.
- Kambanau DH, Kaka A, Hambakodu M. 2022. Sifat kualitatif dan kuantitatif bibit sapi Sumba Ongole Kecamatan Pandawai Kabupaten Sumba Timur. *Jurnal Peternakan.* 6:1–6.
- [Kepmentan] Keputusan Menteri Pertanian. 2020. Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 617/KPTS/PK.020/M/09/2020 tentang Penetapan Rumpun Sapi Galekan. Jakarta (Indonesia): Kementerian Pertanian.
- Kuswati, Ali MI, Wahyuni RD. 2022. Morphometric characteristics of Galekan cattle breed base on principle component analysis (PCA). *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan.* 32:1–12.
- Leffak M, Gadgil R, Barthelemy JLT. 2017. Replication stalling and DNA microsatellite instability. *Biophys Chem.* 225:38–48.
- Mansur M, Mahmudi ATB, Dagong MIA, Rahmi L, Bugiwati RSRA, Baco S. 2016. Keragaman genetik sapi Bali di kabupaten Barru berdasarkan karakteristik fenotipe dan DNA penciri mikrosatelit. *JITP.* 4:104–111.
- Margawati ET, Volkandari SD, Indriawati I, Ridwan M. 2019. Genetic diversity and relationship among Bali cattle from several locations in Indonesia based on ETH10 microsatellite marker. *JITV.* 23:168.
- Masduqi, Sari EM, Abdullah MAN. 2021. Identifikasi sifat kuantitatif dan sifat kualitatif pada sapi Aceh dalam rangka pelestarian sumber daya genetik ternak lokal. *Jurnal Agripet.* 21:141–148.
- Maylinda S, Nugroho H, Busono W, 2021. Phenotypic characteristics of local cattle in Madura island. *AIP Conf Proc.* 060002.
- Merliana MR, Wandia IN, Puja IK. 2014. Polimosfisme lokus mikrosatelit BM1329 dan hubungannya dengan calving interval pada sapi Bali. *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan.* 2:117–125.
- Miah G, Rafii MY, Ismail MR, Puteh AB, Rahim HA, Islam NK, Latif MA. 2013. A review of microsatellite

- markers and their applications in rice breeding programs to improve blast disease resistance. *Int J Mol Sci.* 14:22499–22528.
- Misrianti R, Mustika RP, Ali A. 2018. Keragaman sifat kualitatif dan kuantitatif sapi Kuantan pada berbagai tingkatan umur di Kecamatan Benai Kabupaten Kuantan Singingi Provinsi Riau. *Jurnal Peternakan.* 15:55–61.
- Mohamad K, Olsson M, van Tol HTA, Mikko S, Vlamings BH, Andersson G, Rodríguez-Martínez H, Purwantara B, Paling RW, Colenbrander B, Lenstra JA. 2009. On the origin of Indonesian cattle. *PLoS One.* 4:e5490.
- Mukhtar, Jamaliah, Hendra S. 2015. Keragaman fenotipe sapi Aceh betina pada BPTU-HPT Indrapuri. *Jurnal Ilmu Peternakan.* 3:34–38.
- Nijman IJ, Otsen M, Verkaar ELC, de Ruijter C, Hanekamp E, Ochieng JW, Shamshad S, Rege JEO, Hanotte O, Barwegen M, Sulawati T, Lenstra JA. 2003. Hybridization of banteng (*Bos javanicus*) and zebu (*Bos indicus*) revealed by mitochondrial DNA, satellite DNA, AFLP and microsatellites. *Heredity (Edinb).* 90:10–16.
- Ningsih SF, Sulastri, Hamdani MDI. 2017. Karakteristik kualitatif sapi Krui di Kabupaten Pesisir Barat Lampung. *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan.* 1:5–9.
- Norris DE, Shurtleff AC, Toure YT, Lanzaro GC. 2001. Microsatellite DNA polymorphism and heterozygosity among field and laboratory populations of *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.* 38:336–340.
- Nurgiartiningih V, Budiarto A, Kusmartono K, Suyadi S. 2016. Evaluation of performance in female Madura cattle in Madura island, Indonesia. *Anim Prod.* 18:125.
- Prajapati BM, Gupta JP, Pandey DP, Parmar GA, Chaudhari JD. 2017. Molecular markers for resistance against infectious diseases of economic importance. *Vet World.* 10:112–120.
- Prihandini PW, Primasari A, Luthfi M, Efendy J, Pamungkas D. 2020. Genetic diversity of mitochondrial DNA cytochrome b in Indonesian native and local cattle populations. *JITV.* 25:39.
- Putri AE, Farajallah A, Perwitasari D. 2019. The origin of pesisir cattle based on D-loop mitochondrial DNA. *Biodiversitas.* 20:2569–2575.
- Ramadhan TM, Mulliadi D, Arifin J. 2014. Perbedaan kualitatif dan kuantitatif sapi betina lokal di Majalengka dengan sapi betina Jabres. *Students e-J.* 3:1–11.
- Said S, Pintaka W, Putra W, Anwar S, Agung PP, Yuhani H. 2017. Phenotypic, morphometric characterization and population structure of Pasundan cattle at West Java, Indonesia. *Biodiversitas.* 18:1638–1645.
- Septian WA, Jakaria, Sumantri C. 2015. Genetic diversity of Bali cattle based on microsatellite marker in Indonesian breeding centre. *Media Peternakan.* 38:12–17.
- Serrote CML, Reiniger LRS, Silva KB, Rabaiolli SM dos S, Stefanel CM. 2020. Determining the polymorphism information content of a molecular marker. *Gene.* 726:144175.
- Singh U, Deb R, Alyethodi RR, Alex R, Kumar S, Chakraborty S, Dhama K, Sharma A. 2014. Molecular markers and their applications in cattle genetic research: A review. *Biomark Genom Med.* 6:49–58.
- Sudrajad P, Subiharta. 2014. Karakter fenotipik sapi betina Peranakan Ongole (PO) Kebumen. *Widyariset.* 17:283–290.
- Sutarno, Setyawan AD, Lymbery AJ. 2015. Genetic diversity of five Indonesian native cattle breeds at microsatellite loci. *Asian J Anim Sci.* 9:57–64.
- Svishcheva G, Babayan O, Lkhasaranov B, Tsendsuren A, Abdurasulov A, Stolpovsky Y. 2020. Microsatellite diversity and phylogenetic relationships among East Eurasian *Bos taurus* breeds with an emphasis on rare and ancient local cattle. *Animals.* 10:1493.
- Teneva A, Dimitrov K, Petrović CV, Petrović MP, Dimitrova I, Tyufekchiev N, Petrov N. 2013. Molecular genetics and SSR markers as a new practice in farm animal genomic analysis for breeding and control of disease disorders. *Biotechnol Anim Husb.* 29:405–431.
- Trifena, Budisatria IGS, Hartatik T. 2011. The phenotypic changes of first filial and backcross of Ongole Grade, Simpo, and Limpo cows. *Buletin Peternakan.* 35:11–16.
- Utomo BN, Noor RR, Sumantri C, Supriatna I, Gurnadi ED. 2011. Keragaman genetik sapi Katingan dan hubungan kekerabatannya dengan beberapa sapi lokal lain menggunakan analisis DNA mikrosatelit. *JITV.* 16:112–125.
- Wang H, Yang B, Wang H, Xiao H. 2021. Impact of different numbers of microsatellite markers on population genetic results using SLAF-seq data for *Rhododendron* species. *Sci Rep.* 11:8591.
- Widi TS, Baliarti E, Ibrahim A, Koesmara H, Budisatria IGS. 2016. Phenotypic characteristics of Aceh cattle on different sex and age in smallholder farmers. Proceeding at the 3rd Animal Production International Seminar and The 3rd ASEAN Regional Conference on Animal Production. Malang (Indonesia): UB Press.
- Wimmers K, Ponsuksili S, Hardge T, Valle-Zarate A, Mathur PK, Horst P. 2022. Genetic distinctness of African, Asian and South American local chickens. *Anim Genet.* 31:159–165.
- Yendraliza, Abadi H, Misrianti R, Ali A, Effendi A. 2019. Body size identification and semen quality of Kuantan cattle. *Jurnal Ilmu Peternakan Terpadu* 7:186–191.

- Zhang X, He Y, Zhang W, Wang Y, Liu Xinmeng, Cui A, Gong Y, Lu J, Liu Xin, Huo X, Lv J, Guo M, Du X, Han L, Chen H, Chen J, Li C, Chen Z. 2021. Development of microsatellite marker system to determine the genetic diversity of experimental chicken, duck, goose, and pigeon populations. *Biomed Res Int.* 2021:8851888.
- Zulkharnaim, Baco S, Rahim L, Yusuf M. 2020. Identification of qualitative characteristic Bali polled cattle. *Hasanuddin J Anim Sci.* 2:70–75.