

IDENTIFIKASI VARIASI GENETIK KERBAU KUDUS BERBASIS MIKROSATELIT SEBAGAI BAHAN AJAR BLENDED LEARNING PADA MATAKULIAH TABM

Anis Samrotul Lathifah

Universitas Tribhuwana Tunggaladewi, Jl. Telaga Warna, Tlogomas, Malang

E-mail: as.lathifah01@gmail.com

Abstrak: Kerbau Kudus berperan dalam pemenuhan kebutuhan daging nasional. Namun, populasi kerbau Kudus mengalami penurunan. Untuk itulah diadakan penelitian upaya konservasi melalui teknik molekular yaitu variasi genetik menggunakan penanda mikrosatelit. Metode dan hasil dari penelitian dikembangkan menjadi bahan ajar berbasis *blended learning* pada matakuliah Teknik Analisis Biologi Molekular (TABM). Penelitian dibagi menjadi dua tahap yaitu tahap I penelitian deskriptif eksploratif dan tahap II penelitian pengembangan bahan ajar. Pada penelitian tahap pertama diperoleh hasil bahwa terdapat variasi fenotip dan tidak terdapat variasi genotip kerbau pada dua sub populasi di Kudus, namun di dalam sub populasi tersebut terdapat varian. Kedua variasi ini dapat digunakan dalam pemilihan bibit unggul kerbau di Kudus. Pada penelitian tahap kedua diperoleh hasil bahwa bahan ajar yang berupa *website* berbasis *blended learning* untuk matakuliah TABM sudah layak dan baik untuk digunakan di Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang.

Kata Kunci: kerbau (*Bubalus bubalis*), variasi genetik, mikrosatelit, bahan ajar, *blended learning*

PENDAHULUAN

Kerbau (*Bubalus bubalis*) adalah ternak asli daerah panas dan lembab, khususnya daerah belahan utara tropika (Departemen Pertanian, 2008). Kerbau merupakan ternak ruminansia besar yang mempunyai potensi tinggi dalam penyediaan daging. Populasi ternak kerbau di Indonesia masih rendah dan cenderung menurun tiap tahunnya. Populasi kerbau di Indonesia pada tahun 2011 mencapai 1,3 juta ekor dan menurun menjadi 900 ribu ekor pada tahun 2013 (BPS, 2013).

Ternak kerbau di Kudus lebih terkenal dibanding ternak sapi, pada tahun 2009 produksi daging kerbau sebesar 456.940 kg dan diperkirakan akan naik tiap tahunnya. Berdasarkan data BPS dan BAPPEDA Kudus tahun 2010, pada tahun 2009 produksi daging yang dipasok dari kerbau menduduki peringkat tertinggi melebihi produksi daging dari ternak sapi dan kambing/domba yang hanya 312.245 kg. Populasi ternak kerbau Kudus pada tahun 2009 mencapai 1.887 ekor dan pada tahun 2010 mencapai 2.176 ekor. Meskipun terjadi penambahan populasi, ternyata masih belum memenuhi kebutuhan daging kerbau. Untuk memenuhi kebutuhan daging kerbau, pemerintah Kudus mendatangkan kerbau dari luar wilayah Kudus. Jika peningkatan produksi daging kerbau tidak diiringi dengan peningkatan populasi kerbau, maka lama-kelamaan populasi kerbau di Kudus akan menurun. Untuk itu perlu diadakan upaya konservasi penyelamatan populasi kerbau yaitu dengan teknik molekular melalui identifikasi variasi genetik menggunakan penanda mikrosatelit. Mikrosatelit atau *simple sequence repeat* (SSR) merupakan salah satu penanda genetik molekular yang didasarkan pada urutan DNA pendek yang tiap unit pengulangannya terdiri dari satu sampai enam nukleotida. Penanda mikrosatelit ini banyak digunakan sebagai alat dalam program pemuliaan atau studi evolusi (Nuraida, 2012).

Di perguruan tinggi Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang, teknik molekular diajarkan pada mahasiswa semester enam yaitu pada matakuliah Teknik Analisis Biologi Molekular (TABM). Salah satu indikator kompetensi dalam matakuliah ini yaitu membuat rancangan penelitian menggunakan teknik-teknik berbasis molekular. Untuk mencapai indikator tersebut mahasiswa harus mencari dari berbagai sumber tentang penelitian-penelitian biologi molekular dan mengaitkannya dengan usaha konservasi. Untuk itu, perlu ada bahan ajar yang dapat mengakomodasi sumber-sumber belajar mahasiswa sehingga mahasiswa dapat aktif belajar, dapat melihat secara langsung penelitian riil dan dapat menerapkan penelitian tersebut untuk upaya konservasi.

Bahan ajar yang dikembangkan dikemas dalam bentuk *website* berbasis *blended learning* dimana kegiatan *face to face* dilakukan pada saat kegiatan praktikum di laboratorium biologi molekular, *offline* pada saat presentasi dan diskusi di kelas dengan bantuan komputer/laptop dan proyektor, dan *online* pada saat mahasiswa men-download materi dan petunjuk praktikum di *website* serta pada saat mahasiswa dan dosen saling berkomunikasi via *chat* dan forum *website*. Bahan ajar terdiri dari delapan bab materi analisis DNA dengan rincian bab 1 dan 2 dari referensi buku dan bab 3 sampai 8 dari metode dan hasil penelitian identifikasi variasi genetik kerbau Kudus.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan terdiri atas 2 tahap, yaitu 1) deskriptif eksploratif dan 2) pengembangan. Pendekatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasi laboratorik yang bertujuan untuk membuat pencandraan secara sistematis, fakta dan akurat mengenai fakta-fakta dan sifat populasi dari keragaman kerbau endemik lokal Kudus. Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh kerbau yang ada di Kudus. Sampel dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor kerbau endemik lokal Kudus yang terdiri dari individu 1-12 dari sub populasi Kecamatan Jati, dan 13-24 dari sub populasi Kecamatan Kaliwungu. Pengumpulan data fenotip berupa pengamatan dan pengukuran jenis kelamin, bentuk tubuh, panjang kepala, panjang leher, warna kulit tubuh, warna mata, panjang ekor, bentuk tubuh, warna kulit, warna iris mata, bentuk dan arah tanduk, lingkaran dada, tinggi pinggul, panjang badan, panjang kepala, panjang leher, dan panjang ekor. Pengumpulan data variasi genotip dilakukan dengan pengambilan sampel darah kerbau, isolasi DNA darah, elektroforesis gel agarose untuk mengetahui adanya DNA yang terisolasi, PCR dengan primer mikrosatelit (HEL09, INRA023 dan INRA032), elektroforesis gel poliakrilamid dan pewarnaan *silver staining*. Analisis data didapatkan dari hasil pengamatan berupa pita (*band*) DNA yang muncul setelah dilakukan *silver staining*, yang selanjutnya dianalisis secara manual dengan menentukan ukurannya berdasarkan jumlah pasangan basa (bp). Setelah didapatkan ukuran pita yang muncul, kemudian dianalisis menggunakan *Genepop* yang terdapat pada laman web www.genepop.curtin.edu.au. Untuk mengetahui nilai frekuensi alel, heterozigositas dan *Polimorfisme Information Content* (PIC). Jumlah setiap alel dihitung kemudian dicari nilai frekuensi alelnya dengan rumus sebagai berikut.

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

dimana:

f(A) = frekuensi alel ke-i

A = jumlah alel ke-i dalam lokus

n = jumlah individu yang diteliti

(Hartl, 1998)

Nilai heterozigositas ditentukan untuk mengetahui apakah suatu lokus termasuk polimorfik atau monomorfik. Nilai *observed heterozygosity* dihitung menggunakan rumus:

$$h = \frac{n}{n-1} (1 - \sum_k P_i^2) \times 100\%$$

dimana:

h = heterozigositas

p(i) = frekuensi alel lokus ke-i

n = jumlah individu sampel

(Renwick, 2001)

Adapun rumus untuk menghitung nilai polimorfisme (PIC) dalam setiap lokus adalah sebagai berikut.

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

dimana:

Pi dan Pj = frekuensi alel ke-i dan ke-j

K = jumlah alel

(Meta *et al*, 2004)

Penelitian tahap dua bertujuan untuk mengembangkan bahan ajar *website* berbasis *blended learning* untuk matakuliah TABM berdasarkan metode dan hasil penelitian tahap satu. Penelitian tahap dua dilakukan agar semua indikator kompetensi matakuliah TABM tercapai. Model pengembangan yang digunakan adalah model *Research and Development* (R & D) oleh Borg (1981). Terdapat sepuluh tahapan dalam model pengembangan ini, namun dalam penelitian hanya dibatasi sampai langkah kelima. Tahapan dari model pengembangan ini adalah *Research and Information*, *Planning*, *Develop Preliminary Form of Product*, *Preliminary Field*, dan *Main Product Revision*. Instrumen pengumpulan data yang digunakan untuk mengetahui kelayakan bahan ajar adalah lembar validasi tim ahli dan angket uji coba terbatas yang bertipe *rating scale*. Data yang diperoleh terdiri atas dua jenis yaitu data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa saran dan perbaikan berdasarkan validasi dan uji coba. Sedangkan data kuantitatif berdasarkan hasil analisis dari angket validasi dan uji coba. Teknik analisis data yang digunakan yaitu teknik persentase yang diadaptasi dari Akbar (2013). Rumus untuk menghitung nilai kelayakan buku ajar adalah sebagai berikut :

$$V = \frac{TSe}{TSh} \times 100\%$$

Keterangan :

- V** = persentase kelayakan
TSe = jumlah skor jawaban penilaian
TSh = jumlah skor maksimal

Kriteria kelayakan bahan ajar dapat ditinjau dari penilaian bahan ajar pada Tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini berupa analisis variasi fenotip kerbau, analisis variasi genotip kerbau dan pengembangan bahan ajar berbasis *blended learning* untuk matakuliah TABM. Pengamatan variasi fenotip kerbau endemik lokal Kudus yaitu Kecamatan Jati (Jt 1-12) dan Kecamatan Kaliwungu (Kw 1-12), yang meliputi bentuk tubuh, warna kulit, warna iris mata, bentuk dan arah tanduk disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1 Kriteria Kelayakan Bahan Ajar

Persentase Nilai Rata-rata	Kategori	Keterangan
86% - 100%	Sangat layak	Sangat baik untuk digunakan dengan revisi kecil
71% - 85%	Layak	Boleh digunakan dengan revisi kecil
56% - 70%	Cukup layak	Boleh digunakan setelah direvisi besar
41% - 55%	Kurang layak	Tidak boleh digunakan
25% - 40%	Tidak layak	Tidak boleh digunakan

(Diadaptasi dari Akbar, 2013)

Tabel 2 Pengamatan Ciri-ciri Morfologi Kerbau Endemik Lokal Kudus

No	Jenis kelamin	Bentuk tubuh	Warna kulit tubuh	Warna iris mata	Bentuk dan arah tanduk
Jt1	B	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke belakang
Jt2	B	gemuk	hitam	hitam	melengkung ke belakang
Jt3	B	gemuk	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Jt4	B	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Jt5	B	gempal	hitam	hitam	melengkung ke belakang
Jt6	B	gempal	hitam	hitam	melengkung ke atas
Jt7	J	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Jt8	B	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Jt9	J	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Jt10	B	gempal	hitam	hitam	melengkung ke atas
Jt11	J	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Jt12	J	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Kw1	B	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Kw2	B	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Kw3	B	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Kw4	B	gempal	hitam	hitam	melengkung ke atas
Kw5	J	gempal	hitam	hitam	melengkung ke atas
Kw6	B	gempal	hitam	hitam	melengkung ke atas
Kw7	J	gempal	keabu-abuan	hitam	melengkung ke atas
Kw8	B	gempal	hitam	hitam	melengkung ke atas
Kw9	B	gempal	hitam	hitam	melengkung ke atas
Kw10	B	gempal	hitam	hitam	melengkung ke belakang
Kw11	B	gempal	hitam	hitam	melengkung ke atas
Kw12	B	gempal	hitam	hitam	melengkung ke atas

Berdasarkan data pengamatan dan gambar fenotip kerbau di atas dapat dijelaskan bahwa bentuk tubuh sub populasi 2 (Kecamatan Kaliwungu) secara keseluruhan gempal sedangkan sub populasi 1 (Kecamatan Jati) 11 ekor bertubuh gempal dan 1 ekor bertubuh gemuk. Warna kulit tubuh kerbau sub populasi 1 sebagian besar berwarna keabu-abuan dengan jumlah 8 ekor dan sub populasi 2 sebagian besar berwarna hitam dengan jumlah 8 ekor. Warna iris mata kerbau untuk kedua sub populasi sama-sama berwarna hitam. Sedangkan untuk bentuk dan arah tanduk, kedua sub populasi sebagian besar mempunyai kerbau dengan tanduk melengkung ke atas.

Sehingga secara keseluruhan kerbau Kudus sub populasi 1 dan 2 memiliki fenotip yang hampir sama dan merupakan tipe kerbau lumpur. Fenotip yang hampir sama pada kedua sub populasi tersebut dikarenakan letak sub populasi yang berdekatan dengan tinggi daerah, suhu dan iklim yang sama yang mempengaruhi fenotip kerbau (Sembiring, 2003).

Variasi fenotip juga diukur berdasarkan lingkaran dada, tinggi pinggul, panjang badan, panjang kepala, panjang leher, dan panjang ekor. Hasil pengukuran disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Pengukuran Ciri-ciri Morfologi Kerbau Endemik Lokal Kudus

No	Jenis kelamin	Lingkar dada (cm)	Tinggi Pinggul (cm)	Panjang badan (cm)	Panjang kepala (cm)	Panjang leher (cm)	Panjang ekor (cm)
Jt1	B	190	123	130	45	66	85
Jt2	B	210	132	146	50	66	83
Jt3	B	205	134	135	47	75	77
Jt4	B	193	125	136	46	71	77
Jt5	B	185	120	122	48	63	60
Jt6	B	185	131	134	49	72	81
Jt7	J	164	116	128	41	60	70
Jt8	B	169	112	112	41	66	72
Jt9	J	157	113	118	44	66	72
Jt10	B	178	125	152	44	66	69
Jt11	J	147	113	125	40	50	68
Jt12	J	165	120	125	45	64	66
Rata-rata		179	122	130	45	65	73
Kw1	B	159	118	99	36	62	64
Kw2	B	183	110	119	46	66	74
Kw3	B	164	122	109	45	65	69
Kw4	B	192	133	135	56	68	69
Kw5	J	159	113	101	39	57	67
Kw6	B	191	126	126	42	60	81
Kw7	J	160	117	114	40	58	69
Kw8	B	186	130	127	50	60	72
Kw9	B	191	133	135	52	72	77
Kw10	B	188	117	144	45	65	68
Kw11	B	197	115	138	46	75	74
Kw12	B	197	127	128	32	65	71
Rata-rata		181	122	123	44	64	71

Berdasarkan data pengukuran di atas dapat dijelaskan bahwa nilai rata-rata hasil pengukuran panjang badan, panjang kepala, panjang leher dan panjang ekor kerbau sub populasi 1 lebih besar daripada sub populasi 2, hanya selisih 1 sampai 7 cm saja. Untuk pengukuran lingkaran dada, kerbau sub populasi 2 memiliki lingkaran dada yang lebih besar daripada sub populasi 1. Sedangkan untuk tinggi pinggul, sub populasi 1 dan 2 memiliki ukuran yang sama. Keanekaragaman yang muncul dari hasil pengukuran menunjukkan adanya variasi antara kedua sub populasi kerbau di Kudus.

Variasi merupakan ciri-ciri umum yang terdapat di dalam sebuah populasi. Keanekaragaman terjadi tidak hanya antar bangsa tetapi juga dalam suatu bangsa yang sama, antar populasi maupun di dalam populasi antara individu tersebut. Hal ini sejalan dengan yang diungkapkan oleh Lasley (1978), bahwa keragaman fenotip menunjukkan perbedaan penampilan atau ukuran diantara individu dalam suatu populasi untuk sifat tertentu. Keragaman fenotip merupakan sifat kuantitatif yang dimiliki setiap individu dikontrol oleh banyak pasangan gen yang aksinya bersifat adaptif dan sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan.

Variasi kerbau endemik lokal Kudus tidak hanya dikaji dari ciri-ciri fenotip saja, tetapi juga berdasarkan kajian informasi genetik seperti tingkat variasi genetik dan hubungan kekerabatan genetik dalam dan antar populasi kerbau (Paetkau dalam Anggraeni *et al*, 2011) sebagai konfirmasi konsistensi dari klasifikasi subyektif dari kajian fenotip (Lorenzen *et al* dalam Anggraeni, 2011). Variasi genotip kerbau diketahui dari nilai frekuensi alel, heterozigositas dan polimorfisme setiap lokus. Nilai tersebut didapatkan dari pita yang muncul pada produk PCR yang dideteksi melalui *Polyacrilamide Gel Electrophoresis* (PAGE). Penanda mikrosatelit merupakan penanda DNA yang memiliki keunggulan dibandingkan penanda lainnya yaitu RAPD dan AFLP, karena bersifat polimorfik, kodominan, dan melimpah (Saptasari, 2012). Amplifikasi penanda mikrosatelit kerbau endemik lokal Kudus menggunakan 3 jenis penanda mikrosatelit yaitu HEL09, INRA023, dan INRA032.

Perhitungan nilai frekuensi alel pada tiap lokus dilakukan dengan menggunakan program *Genepop*. Hasil analisis frekuensi alel tiap lokus mikrosatelit pada sampel kerbau endemik lokal Kudus disajikan dalam Tabel 4. berikut.

Tabel 4 Frekuensi Alel Tiap Lokus Mikrosatelit pada Sampel Kerbau Endemik Lokal Kudus

Lokus	Jumlah Alel	Alel (<i>base pair/bp</i>)	Frekuensi Alel	
			Sampel Kerbau Kecamatan Jati	Sampel Kerbau Kecamatan Kaliwungu
HEL09	4	75	0,458	0,5
		100	-	0,125
		200	0,417	0,125
		220	0,125	0,25
INRA023	4	100	0,458	0,61
		120	0,417	-
		150	0,125	0,167
		200	-	0,22
INRA032	5	100	0,182	-
		150	0,182	0,08
		200	0,046	-
		400	0,591	0,46
		600	-	0,46

Jumlah alel yang terdeteksi pada lokus HEL09, INRA023 dan INRA032 pada sampel kerbau di kedua sub populasi yaitu secara berturut-turut 4, 4 dan 5 alel. Berdasarkan standar seleksi lokus mikrosatelit, lokus mikrosatelit harus memiliki minimal 4 alel agar dapat digunakan untuk mengevaluasi variasi genetik (Sun et al, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa ketiga lokus mikrosatelit pada penelitian ini sudah memenuhi standar seleksi lokus mikrosatelit dan dapat menggambarkan variasi genetik yang ada dalam populasi kerbau di Kudus.

Seberapa sering munculnya alel-alel yang ditemukan dari kedua lokus pada populasi kerbau endemik lokal Kudus dapat diketahui dengan cara menghitung frekuensi alelnya. Berdasarkan hasil analisis data, diperoleh nilai frekuensi alel pada Kecamatan Jati berkisar antara 0,125-0,591 dan pada Kecamatan Kaliwungu berkisar antara 0,125-0,46. Sampel kerbau pada sub populasi Kecamatan Jati lebih variatif karena menunjukkan sebaran nilai frekuensi yang lebih tinggi daripada Kecamatan Kaliwungu.

Perhitungan nilai frekuensi alel tiap lokus mikrosatelit digunakan untuk menghitung nilai *expected heterozygosity*, sedangkan nilai *observed heterozygosity* diperoleh dari jumlah individu heterozigot berdasarkan analisis *Genepop*. Heterozigositas merupakan jumlah individu dalam sebuah populasi yang memiliki alel yang berbeda dalam satu lokus (Ellegren, 2004). Nilai heterozigositas akan selalu berbanding lurus dengan nilai PIC. Semakin polimorfik lokus yang digunakan, maka semakin banyak individu heterozigot yang ditemukan yang menandakan adanya variasi genetik. Heterozigositas yang tinggi menunjukkan kekayaan variasi genetik. Hasil perhitungan nilai heterozigositas (*observed heterozygosity* dan *expected heterozygosity*) pada masing-masing lokus mikrosatelit dari kedua sub populasi dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan Tabel 5 terlihat bahwa sampel kerbau pada kedua sub populasi mempunyai nilai heterozigositas berbeda dengan selisih sedikit. Pada sampel kerbau sub populasi 1, nilai *observed heterozygosity* tertinggi diperoleh dari lokus INRA032 yaitu 0,27, nilai terendah pada lokus HEL09 dan INRA023 yang mempunyai nilai sama yaitu 0,25. Pada sampel kerbau sub populasi 2, nilai *observed heterozygosity* tertinggi diperoleh dari lokus INRA 023 yaitu sebesar 0,56 dan nilai terendah diperoleh dari lokus HEL09 sebesar 0,33. Berdasarkan nilai rata-rata heterozigositas tiap sub populasi, *observed heterozygosity* tertinggi diperoleh dari sampel kerbau sub populasi 2 yaitu sebesar 0,46, sedangkan pada sampel kerbau sub populasi 1 mempunyai nilai sebesar 0,26 dan nilai ini tidak jauh berbeda dan dapat dikatakan bahwa sub populasi 2 lebih variatif dibandingkan sub populasi 1. Faktor-faktor yang mempengaruhi heterozigositas antara lain laju mutasi, jumlah populasi efektif, pola perkawinan (acak atau terpilih), migrasi (aliran genetik), dan seleksi (heterosis positif dan negatif) (Nozawa dalam Monica, 2012).

Tabel 5 Nilai Heterozigositas Tiap Lokus Mikrosatelit pada Sampel Kerbau Endemik Lokal Kudus

Lokus	Sampel kerbau Kecamatan Jati		Sampel kerbau Kecamatan Kaliwungu	
	Obs. Het*	Expc. Het**	Obs. Het*	Expc. Het**
HEL09	0,25	0,65	0,33	0,72
INRA023	0,25	0,65	0,56	0,62
INRA032	0,27	0,64	0,5	0,62
Rata-rata	0,26	0,65	0,46	0,65

Keterangan:

*Observed Heterozygosity

**Expected Heterozygosity

Suatu lokus harus bersifat polimorfik, sehingga dapat menunjukkan variasi genetik. Derajat polimorfisme dari ketiga lokus yang digunakan pada penelitian ini diketahui berdasarkan hasil perhitungan nilai *Polimorphism Information Content* (PIC). PIC merupakan sebuah parameter yang mengindikasikan derajat keinformatifan dari sebuah marker. Hasil perhitungan nilai PIC tiap lokus mikrosatelit pada sampel kerbau endemik lokal Kudus, disajikan pada Tabel 6 berikut.

Tabel 6 Nilai PIC Tiap Lokus Mikrosatelit pada Sampel Kerbau Endemik Lokal Kudus

Lokus	Sampel kerbau Kecamatan Jati	Sampel kerbau Kecamatan Kaliwungu	Rata-rata
HEL09	0,45	0,65	0,55
INRA023	0,45	0,49	0,47
INRA032	0,44	0,39	0,42

Berdasarkan Tabel 4.6 menunjukkan bahwa nilai PIC tertinggi terdapat pada lokus HEL09 dengan nilai 0,55 dan nilai terendah pada lokus INRA032 dengan nilai 0,42. Jika dilihat berdasarkan sub populasinya, sub populasi 2 memiliki nilai PIC yang lebih tinggi daripada sub populasi 1 dengan rincian nilai 0,65 untuk HEL09; 0,49 untuk INRA023; 0,39 untuk INRA032. Berdasarkan nilai ini, diperoleh bahwa lokus HEL09 merupakan lokus yang paling informatif dan polimorfis. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan El-Kholy *et al* (2007), bahwa PIC merupakan sebuah parameter yang mengindikasikan adanya variasi genetik; marker dengan nilai PIC yang tinggi merupakan marker yang sangat informatif.

Berdasarkan nilai frekuensi alel, heterozigositas dan polimorfisme dapat dijadikan suatu acuan untuk program seleksi dan usaha konservasi. Kedua sub populasi mempunyai variasi genetik yang sama karena nilai frekuensi alel, heterozigositas dan polimorfisme tidak jauh berbeda. Lokus pada sub populasi 1 dan 2 tidak berbeda nyata, yang artinya lokus pada kedua sub populasi sama-sama bersifat polimorfis dan terdapat varian di dalamnya. Kudus merupakan sub populasi di Jawa Tengah dengan tingkat produksi daging tertinggi. Produksi daging ini harus diimbangi dengan jumlah populasi kerbau yang ada di Kudus agar pemenuhan kebutuhan daging terpenuhi. Untuk itu, pemerintah Kudus dapat menjadikan informasi nilai frekuensi alel, heterozigositas dan polimorfisme tersebut sebagai acuan untuk program seleksi atau pemilihan bibit unggul kerbau. Sehingga kedepannya pemerintah Kudus tidak perlu mendatangkan daging kerbau dari luar wilayah Kudus. Selain itu, kerbau endemik lokal Kudus juga dapat dipertahankan.

Matakuliah TABM merupakan matakuliah yang mempelajari teknik-teknik analisis biologi molekular, seperti teknik analisis DNA. Salah satu indikator kompetensi dari matakuliah ini yaitu mahasiswa membuat rancangan penelitian biologi molekular. Untuk membantu pencapaian indikator kompetensi ini, maka dikembangkanlah bahan ajar berbasis *blended learning* berdasarkan hasil penelitian identifikasi variasi genetik kerbau (*Bubalus bubalis*) endemik lokal Kudus berbasis mikrosatelit. *Blended learning* yang dipakai pada penelitian ini dilakukan secara *face to face*, *offline*, dan *online*. Kegiatan *face to face* dilakukan pada saat kegiatan praktikum di laboratorium, *offline* pada saat presentasi dengan memanfaatkan laptop dan proyektor, dan *online* pada saat mahasiswa men-*download* materi dan petunjuk praktikum di *website*, melakukan *chat* dan diskusi melalui forum *website*.

Pengembangan bahan ajar mengadaptasi model R&D oleh Borg (1981) yang hanya dibatasi sampai tahap kelima, yaitu: 1) pengumpulan informasi, langkah-langkahnya yaitu studi pustaka (mengkaji kurikulum TABM dan mempelajari tentang pembuatan *website*) dan studi lapangan (observasi matakuliah TABM), 2) perencanaan, langkah-langkahnya yaitu menyusun sinopsis *website*, menyusun *flowchart*, menyusun *storyboard*, menentukan validator ahli materi dan media, dan menentukan rencana pelaksanaan uji coba terbatas, 3) pengembangan produk awal, langkah-langkahnya yaitu memproduksi *website*, memvalidasi (validasi materi dan *website*), menganalisis, merefleksi, dan merevisi hasil validasi), 4) uji coba terbatas, yaitu dilakukan pada 8 mahasiswa semeseter VIII yang telah menempuh matakuliah TABM, dan 5) revisi produk tahap awal, yaitu dilakukan berdasarkan hasil analisis uji coba terbatas.

Bahan ajar berbasis *blended learning* ini terdiri dari tiga *course*, namun khusus untuk penelitian ini hanya menggunakan satu *course* saja yaitu TABM. *Course* TABM terdiri dari delapan bab, yaitu: (1) perkembangan biologi molekular, (2) penanda genetik, (3) pengenalan alat-alat laboratorium dan keselamatan kerja, (4) isolasi DNA, (5) uji kualitatif dan kuantitatif DNA, (6) amplifikasi DNA melalui PCR, (7) deteksi DNA hasil PCR dengan PAGE, dan (8) analisis DNA mikrosatelit menggunakan GENEPOP. Pada masing-masing bab terdapat penjelasan materi dalam bentuk *html* atau *page* dan *pdf*. Pada bab empat, lima, enam, dan tujuh dilengkapi dengan petunjuk praktikum, video praktikum, dan laporan praktikum. Petunjuk praktikum dikemas dalam bentuk *pdf* yang dapat diunduh mahasiswa sebelum pelaksanaan praktikum. Video praktikum berisi tentang tahap-tahap kegiatan praktikum berdasarkan penelitian identifikasi variasi genetik kerbau (*Bubalus bubalis*) endemik lokal Kudus. Laporan praktikum digunakan untuk mengunggah berkas laporan praktikum mahasiswa. Pada beberapa bab juga dilengkapi dengan fasilitas *chatroom* dan diskusi. Fasilitas *chatroom* dapat digunakan oleh mahasiswa untuk konsultasi dengan dosen pengampu atau untuk bertanya ke sesama mahasiswa. Pada fasilitas diskusi, dosen memberikan topik diskusi untuk selanjutnya dibahas oleh mahasiswa. Mahasiswa dapat juga diizinkan untuk membuat topik diskusi sendiri dengan mengatur konfigurasi aktivitas.

Bahan ajar berbasis *blended learning* yang dihasilkan kemudian divalidasi oleh ahli materi dan ahli media yang terdiri atas dua dosen dengan kualifikasi pendidikan minimal S3 dengan pengalaman mengajar lebih dari 10 tahun. Setelah bahan ajar divalidasi dan diperbaiki sesuai hasil revisi, kemudian bahan ajar diujicobakan pada kelompok kecil yang terdiri atas 8 mahasiswa semester 8 Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang yang telah menempuh matakuliah TABM.

Hasil validasi oleh validator materi diperoleh persentase nilai sebesar 95,8% dengan kriteria sangat layak dan sangat baik untuk digunakan, namun perlu dilakukan saran/perbaikan kecil berdasarkan saran dari validator. Hasil validasi oleh validator media diperoleh persentase nilai sebesar 81% dengan kriteria layak dan boleh digunakan setelah revisi kecil berdasarkan saran/perbaikan dari validator. Kemudian berdasarkan hasil uji coba terbatas oleh mahasiswa diperoleh persentase nilai sebesar 79% dengan kriteria layak dan boleh digunakan dengan revisi kecil berdasarkan saran/perbaikan dari mahasiswa. Sehingga secara keseluruhan, bahan ajar berbasis *blended learning* ini sudah layak dan baik untuk digunakan.

Berdasarkan hasil revisi akhir, bahan ajar berbasis *blended learning* ini mempunyai kelebihan, yaitu: (1) bahan ajar dikemas dalam bentuk *website* menggunakan MOODLE 2.7.2 yang memiliki fitur lengkap untuk proses pembelajaran, seperti materi yang dapat dikemas dalam bentuk *page* atau *pdf* yang dapat di-*download* mahasiswa, link ke laman lain baik itu laman ke jurnal penelitian atau ke youtube, adanya sarana konsultasi melalui *chatroom*, forum diskusi dan memungkinkan terjadinya evaluasi secara virtual melalui fitur *quiz*, (2) materi bahan ajar bersifat kontekstual karena dikembangkan berdasarkan hasil penelitian tentang identifikasi variasi genetik kerbau (*Bubalus bubalis*) endemik lokal Kudus, (3) bahan ajar dapat memfasilitasi komunikasi antara dosen dan mahasiswa sehingga lebih intens dalam pembelajaran, dan (4) bahan ajar dalam bentuk *website* dapat membuat mahasiswa lebih mandiri dan aktif dalam mencari sumber-sumber belajar terutama sumber belajar di internet yang jumlahnya tidak terbatas.

Selain kelebihan, bahan ajar juga memiliki kekurangan, yaitu: (1) materi yang disajikan dalam *website* masih terbatas pada materi TABM dan Evolusi Molekular, (2) diperlukan akses internet yang baik untuk mengakses bahan ajar karena akses internet di Indonesia sering terjadi *internet traffic* yang disebabkan banyaknya orang yang mengakses internet pada jam-jam sibuk, dan (3) uji coba tahap pengembangan bahan ajar masih terbatas pada uji coba terbatas.

Berkaitan dengan penggunaan yang lebih luas untuk bahan ajar berbasis *blended learning* ini, perlu diperhatikan beberapa hal yaitu: (1) adanya sosialisasi tentang kelebihan dan manfaat dari bahan ajar berbasis *blended learning* sebagai suplemen dalam perkuliahan misalnya saat pertemuan pertama perkuliahan sehingga mahasiswa lebih cepat tahu adanya bahan ajar ini, (2) bahan ajar ini bisa digunakan untuk matakuliah lainnya sehingga memudahkan mahasiswa mengakses suplemen terpusat pada satu *website*, dan (3) pemindahan hosting ke dalam server internal Universitas Negeri Malang atau Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam sehingga akses menjadi lebih cepat.

Pengembangan lebih lanjut bahan ajar berbasis *blended learning*, perlu memperhatikan beberapa saran sebagai berikut: (1) pengembangan bahan ajar berbasis *blended learning* untuk matakuliah lain dan dijadikan satu ke dalam *website* yang sudah dikembangkan sehingga lebih terintegrasi, dan (2) perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu bahan ajar diterapkan pada pembelajaran TABM yang berbasis proyek (*Project Based Learning/PjBL*). Mahasiswa harus memilih satu topik analisis molekular untuk usaha konservasi hewan atau tumbuhan dan dapat melakukan konsultasi dan diskusi dengan dosen dan teman di luar jam studi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan dalam penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut: 1) terdapat variasi fenotip pada kerbau endemik lokal Kudus pada kedua sub populasi Kecamatan Jati dan Kecamatan Kaliwungu berdasarkan ciri morfologi yaitu warna kulit tubuh, bentuk dan arah tanduk, lingkar dada, tinggi pinggul, panjang badan, panjang kepala, panjang leher, dan panjang ekor; 2) kerbau pada kedua sub

populasi di Kudus (Kecamatan Jati dan Kaliwungu) terdapat varian dan mempunyai variasi genetik yang sama karena nilai frekuensi alel, nilai heterozigositas, dan PIC (*Polimorphic Information Content*) tidak jauh berbeda, 3) variasi fenotip dan variasi genotip yang diperoleh pada penelitian ini tidak saling berhubungan, karena gen yang dikaji tidak mengekspresikan fenotip yang diamati. Gen yang dikaji merupakan gen mikrosatelit pada lokus HEL09, INRA023 dan INRA032 yang memberikan informasi mengenai keragaman individu dalam populasi, dan 4) produk pengembangan berupa bahan ajar berbasis *blended learning* layak dan baik digunakan pada matakuliah TABM di Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang.

Saran yang dapat disampaikan berdasarkan hasil penelitian adalah sebagai berikut: 1) sebaiknya jarak terdekat antar dua sub populasi pengambilan sampel ikut serta diperhitungkan untuk menghindari adanya *inbreeding* dan agar diperoleh hasil analisis yang berbeda nyata, 2) sebaiknya *website* yang dikembangkan ini diterapkan pada pembelajaran TABM yang berbasis proyek (*Project Based Learning/PjBL*). Mahasiswa harus memilih satu topik analisis molekular untuk usaha konservasi hewan atau tumbuhan dan dapat melakukan konsultasi dan diskusi dengan dosen dan teman di luar jam studi.

DAFTAR RUJUKAN

- Akbar, S. 2013. *Instrumen Perangkat Pembelajaran*. Bandung: Rosda.
- Anggraeni, A., Sumantri, C., Praharani, L., Dudi., & Andreas, E. 2011. Estimasi Jarak Genetik Kerbau Rawa Lokal Melalui Pendekatan Morfologi. *JITV* 16(3): 1999-210.
- Borg, W. R. 1981. *Applying Educational Research: A Practical Guide for Teachers*. USA: Longman Inc.
- BPS. 2013. Hasil Sensus Pertanian 2013. *Berita Resmi Statistik No. 62/09/Th. XVI, 2 September 2013*.
- BPS dan BAPPEDA Kudus. 2010. *Kudus dalam Angka 2010*. Badan Pusat Statistik Kabupaten Kudus.
- Departemen Pertanian. 2008. *Pedoman Teknis Pengembangan Pembibitan Kerbau*.
- El-Kholy, A.F., Hassan, H.Z., Amin, A.M.S. & Hassanance, M.S. 2007. Genetic diversity in Egyptian buffalo using microsatellite markers. *Arab J. Biotech*, Vol 10 (2) : 219-232.
- Ellegren, H. 2004. Microsatellites: Simple Sequence with Complex Evolution. *Genetics*, Vol 5: 435-445.
- Hartl, D.L. 1998. *A primer Of Population Genetics, Second Edition*. USA: Sinauer Associate, inc.
- Lasley JF. 1978. *Genetic of Livestock Improvement*. New Jersey (USA): Prentice Hall, Inc.
- Meta, M., Kanginakudru, Sriramana., Gudiseva, Narasimharao., and Nagaraju, J. 2004. *Genetic Characterization of the Indian Cattle Breeds, Ongole and Deoni (Bos indicus), Using Microsatellite Markers- A Preliminary Study*. (Online), ([http:// www.biomedcentral.com/147-2156/5/16](http://www.biomedcentral.com/147-2156/5/16), diakses Tanggal 20 Agustus 2014).
- Monica, W. S., Sri K.W., dan Wandia I. N., 2012. Keragaman Genetik Populasi Monyet Ekor Panjang di Pura Pulaki menggunakan Marka Mikrosatelit D13s765. *Indoneisa Medicus Veterinus* 1(1): 37-54.
- Nuraida, D. 2012. *Analisis Variasi Genetik Varietas Unggul Kapas Gossypium hirsutum sebagai Materi Penyusun Buku Pengayaan Biologi*. Disertasi Prodi Pendidikan Biologi, PPS UM.
- Renwick, A., Davison, L., Spratt, H., King, J.P. & Kimmel, M. 2001. DNA Nucleotide Evolution 11 In Humans Fitting Theory to Facts. *Genetics*. Vol 159: 737-747.
- Saptasari, M. 2012. *Analisis Variasi Genetik dan Hubungan Kekerabatan Varian Gracilaria verucosa (Huds) Papanfus di Jawa Timur Berdasarkan Penanda Morfologi dan Molekular Mikrosatelit Sebagai Penyusun Buku Belajar Sistematis pada Makroalga Berbasis Molekular*. Disertasi tidak diterbitkan. Program Studi Pendidikan Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Negeri Malang.
- Sembiring, F. 2003. Analisis Morfometrik Kerbau Lumpur (Bubalus bubalis) Kabupaten Karo Sumatera Utara. *Jurnal Peternakan Integratif Vol 1, No 2 (2003)*.
- Sun, W., Chen, H., Lei, C., Lei, X., Zhang, Y. 2007. Study on Population Genetic Characteristics of Qinchuan Cows Using Microsatellite Markers. *Journal of Genetics and Genomics*, January 2007, 34(1): 17-25.