

**POLIMORFISME GEN HORMON PERTUMBUHAN TERHADAP  
KARAKTERISTIK KUANTITATIF DOMBA LOKAL EKOR TIPIS  
MENGUNAKAN PENCIRI PCR-RFLP  
DI PROVINSI JAMBI**

**Oleh : Depison, Sarbaini Anwar, Jamsari dan Arnim dan Yurnalis**

**ABSTRACT**

The objectives of this research was to evaluate polymorphism of growth hormone gene and its relationship with the quantitative characteristics of thin-tailed sheep (TTS) in Province of Jambi.

There are two stages of this research is in the field and laboratory. The data collected in the field is the quantitative characteristics and blood sample TTS. The number of samples taken TTS 160 males and females aged 1-2 years old. The sampling was done in the highland and lowland in Province of Jambi. Research in the laboratory includes; DNA isolation, amplification and gel purification. Restriction enzyme MspI and AluI using PCR – RFLP.

Data analysis includes, frequency of genes, heterozygosity values, Informative Polymorphic Content and the balance of GH gene genotype. Differences quantitative characteristics between the highlands and lowlands among Genotypes GH gene fragment was MspI and AluI analyzed using t-test .

The present study concluded that : 1) quantitative characteristics of TTS both female male in highland are better than in the lowlands, 2) there is polymorphism of GH gene on the TTS highlands and lowlands in Jambi Province. 3) quantitative characteristics of TTS in the highlands and lowlands associated with genotype frequency of gene GH MspI and AluI.

**Kata Kunci : domba lokal ekor tipis, keragaman penotipe, gen hormon pertumbuhan (GH), PCR-RFLP.**

**PENDAHULUAN**

Penyebaran ternak domba ekor tipis cukup merata di provinsi mulai dari dataran rendah sampai dataran tinggi, sehingga pengembangan cukup potensial karena cukup adaptif pada berbagai kondisi lingkungan, Namun tingginya permintaan yang terus meningkat dari tahun ke tahun, mengakibatkan terjadinya kesenjangan antara produksi dan permintaan. Selama kurun waktu lima tahun terakhir 2010 – 2014, kenaikan populasi pertahun hanya 3,84 % sedangkan permintaan (pemotongan) meningkat rata rata 6,93% per tahun. Kondisi jika dibiarkan terus menerus tentu mengakibatkan Domba ekor tipis yang ada di Provinsi Jambi akan menuju kepunahan sebagaimana ternak asli dunia yang diperkirakan 30% telah dikategorikan menuju kepunahan.

Salah satu upaya dalam rangka pelestarian domba ekor tipis yang ada perlu dicari data dasar melalui karakterisasi terhadap sifat sifat kuantitatif yang bernilai ekonomis. Namun karakterisasi sifat kuantitatif umumnya kurang efektif karena memerlukan jumlah ternak yang banyak dan waktu yang lama. Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi yang cepat di bidang genetika molekuler dengan dilengkapinya genom domba dari waktu ke waktu memainkan peran utama dalam mengkarakterisasi keragaman genetik dengan cepat dan murah.

Karakterisasi keragaman genetik yang berhubungan dengan sifat produksi yang bernilai ekonomis seperti pertumbuhan dapat dilakukan melalui analisis mendalam pada gen strukturalnya atau bagian lain yang berperan penting untuk pertumbuhan ternak diantaranya gen GH. Gen GH merupakan pengontrol sifat pertumbuhan yang keberadaan dan polimorfismenya penting untuk mendukung seleksi terhadap sifat pertumbuhan. Keberadaan dan keragaman gen

GH menarik dikaji dihubungkan dengan karakteristik kuantitatif pada Domba ekor tipis yang ada di Provinsi Jambi. Apakah perbedaan keragaman ini disebabkan perbedaan gen GH yang dimiliki atau ragam dari variasi lingkungan. Hal ini diperlukan dalam rangka kajian genetika molekuler pada saat ini maupun dimasa yang akan datang.

Penelitian ini bertujuan untuk , 1). Mengetahui karakteristik kuantitatif DET pada dataran tinggi dan dataran rendah di Provinsi Jambi. 2) Mengetahui polimorfisme gen hormon pertumbuhan DET pada daerah dataran tinggi dan dataran rendah di Provinsi Jambi. 3) Mengetahui hubungan antara polimorfisme gen hormon pertumbuhan dengan karakteristik kuantitatif DET di Provinsi Jambi

## MATERI DAN METODE

Materi penelitian adalah domba lokal ekor tipis (DET) yang terdapat pada dataran tinggi dan dataran rendah di Provinsi Jambi. Jumlah sampel yang diambil sebanyak 160 ekor yang terdiri dari 80 ekor jantan dan 80 ekor betina (40 ekor masing masing kabupaten/ kota) pada umur 1-2 tahun ( II = sepsang gigi tetap). Data yang dikumpulkan adalah karakteristik kuantitatif meliputi ; bobot badan (BB), penambahan bobot badan (PBB), tinggi pundak, (TP), panjang badan (PB), lingkardada (LD), dalam dada (DaD), lebar dada (LeD), dan sampel darah domba lokal ekor tipis. Pengambilan sampel darah domba ekor tipis melalui *vena jugularis* dengan tabung *venoject* vakum tanpa *heparin*. Sampel darah tersebut kemudian diawetkan dengan etanol absolut. Setelah itu, sampel darah tersebut ditambahkan etanol absolut dengan perbandingan 1:1 dan disimpan pada suhu ruang. Beberapa peubah yang diamati terkait dengan analisis DNA pada fragmen gen GH *MspI*, yaitu (1) frekuensi gen, (2) alel gen GH yang diperoleh dari analisis penciri *PCR-RFLP MspI dan AluI* (3) keseimbangan gen dalam populasi, (4) heterozigositas, (4) nilai *Polymorphic Informative Content* (PIC), (5) ada tidaknya mutasi, (6) kesamaan sekuens gen GH (*homology*), dan (7) keterkaitan genotipe gen GH dengan sifat kuantitatif (8) menguji hubungan antara Gen GH dengan karakteristik kuantitatif.

Penelitian lapangan dilakukan secara survey. Teknik pengambilan sampel secara *purposive sampling*, penelitian laboratorium untuk Deteksi polimorfisme gen GH dilakukan dengan teknik PCR-RFLP.

**Amplifikasi Gen GH**, DNA yang sudah diisolasi selanjutnya diampififikasi dengan menggunakan 3. pasang primer dengan estimasi produk masing masing 579bp, 690bp dan 679bp terletak pada *Exon 1 – Exon 5* dan *II – I5* yang diharapkan dapat mengamplifikasi gen hormon pertumbuhan. Lebih jelasnya primer yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Panjang dan lokasi gen GH dan Primer yang digunakan untuk analisis PCR

Posisi segmen	Panjang (bp)	Nama Primer	Sekuen (5' 3')	Suhu <i>annealing</i>
175-774	579	GHY1-Fwd. GHY1-Rev.	5'TTG CAT AAA TGT ATA GAG CAC ACA G <sup>3'</sup> 5'CCC CAC CTC TAG GAC ACA TC <sup>3'</sup>	60,3 <sup>0</sup> C
671-1361	690	GHY2-Fwd. GHY2-Rev.	5'CTG TTT GCC AAC GCT GTG <sup>3'</sup> 5'AAG CCA CGA CTG GAT AAG GA <sup>3'</sup>	60,3 <sup>0</sup> C
1248-1927	679	GHY3-Fwd. GHY3-Rev.	5'CAG AGG CCG ACA TTG CAG <sup>3'</sup> 5'GAA GCG GCG ACA CTT CAT	62,5 <sup>0</sup> C

Amplifikasi PCR menggunakan *ready To Go PCR (RTG-PCR GE-Healthcare-UK)*. Komposisinya sebagai berikut : 19 µl *nuclease free water (ddH<sub>2</sub>O)* ditambah sampel DNA genom 2 µl kemudian tambahkan 4 µl masing –masing primer (pasangan primer) sehingga total campuran 25 µl . Selanjutnya dimasukkan kedalam tabung *RTG-PCR*. Amplifikasi diawali dengan denaturasi pada

suhu 94°C selama 2 menit, selama 40 siklus yaitu 94°C selama 30 menit, 62°C selama 80 detik dan 72°C selama 90 detik, yang diikuti selama 5 menit pada suhu 72°C. Hasil amplifikasi dapat dilihat dengan melakukan elektroforesis dengan *agrose* 2 %, yang diwarnai dengan *Ethidium Bromida*. Selanjutnya pada gel akan terlihat pita-pita yang terbentuk pada setiap alur sumur yang berisi sampel DNA produk PCR. Penentuan ukuran setiap *fragmen GH* yang terbentuk pada *gel agrose* dilakukan dengan membandingkan posisi pita yang terbentuk dengan posisi pita *DNA ladder*. DNA yang tervisualisasi didokumentasi dengan *Gel Documentation system* (Biometra-German) kemudian di photo dan di simpan pada *Compact Disc*.

Deteksi polimorfisme dengan metode PCR-RFLP Hasil amplifikasi produk PCR yang diperoleh kemudian didigesti dengan enzim restriksi *AluI* situs pemotongan AG\*CT dan *MspI* situs pemotongan C\*CGG (Promega). Total volume untuk digesti sebanyak 50 µl yang terdiri dari *nuclease free water (ddH<sub>2</sub>O)* 17,5 µl , produk PCR 25 µl, *buffer* enzim 5 µl , enzim *MspI* atau *AluI* 2,5 µl. Campuran ini kemudian di inkubasi selama lebih kurang 12 jam, kemudian dimigrasikan pada gel *Agarose* 2% yang diberi *Ethidium Bromide*. Selanjutnya di elektroforesis menggunakan *electrophoresis Thermo scientific model A5, power supply consort EV 231, USA, diprogram* 100 Volt, 74 mA selama 2 jam. Gel selanjutnya diperiksa dengan *Gel Documentation system* (Biometra-German) kemudian di photo dan di simpan pada *Compact Disc*.

Hasil sekuen yang diperoleh dilihat keragamannya baik di dataran tinggi maupun dataran rendah dengan menggunakan program *DNA Star*. Hasil sekuen fragmen gen GH DET dianalisis kesamaannya (*homology*) dengan sekuen yang terdapat di *GenBank* menggunakan perangkat lunak (*software*) komputer program *Basic Local Aligment Search Tool* (BLAST) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST.cgi>, 2015) yang bertujuan untuk memastikan bahwa sekuens yang di analisis adalah fragmen gen GH domba. Hasil BLAST yang diperoleh minimal memiliki kesamaan 97 % selanjutnya dilakukan pensejajaran untuk melihat adanya mutasi, delesi dan insersi sehingga diperoleh kesamaan (*homology*) dengan menggunakan perangkat lunak (*software*) komputer *ClustalW* (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2>, 2015). Frekuensi Genotipe hasil PCR-RFLP diperkirakan dari kombinasi berbagai alel yang dihasilkan berdasarkan ada atau tidak adanya satu atau lebih situs pemotongan yaitu jika pita yang diperoleh tidak terpotong diberi tanda (-/-), jika terpotong semua (+/+) dan jika ada terpotong dan tidak terpotong (+/-) (Kumari et al., 2014) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techrflp/>, 2015).

Frekuensi genotip dihitung berdasarkan jumlah alel suatu genotype dibagi dengan jumlah sampel. Frekuensi alel dihitung dengan menjumlahkan semua alel dibagi dengan 2N. Frekuensi alel gen GH yang diperoleh dari analisis penciri PCR-RFLP *MspI* dihitung menggunakan rumus (Nei 1987). Keragaman genetik (*genetic variability*) dilakukan melalui estimasi frekuensi heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ), heterozigositas harapan ( $H_i$ ) dan *standard error* heterozigositas harapan (Nei 1987). Tingkat informatif suatu alel dihitung dengan menggunakan pendekatan nilai *Polymorphic Informative Content* (PIC) (Botstein et al . 1980). Keseimbangan Hardy-Weinberg diuji dengan *Chi-square* ( $X^2$ ) (Hartl dan Clark 1997). Analisis pengaruh genotipe gen *GH* terhadap Pertambahan bobot, bobot badan dan ukuran ukuran tubuh dilakukan dengan metode *General Linear Model* (GLM) dengan program Minitab Release 16. Model yang digunakan sesuai petunjuk (Gaspersz, 2006). **Sekuensing**, Produk PCR hasil amplifikasi digunakan untuk sekuensing nukleotid, menggunakan metode Sanger et al. (1977) dengan prosedur yang disarankan Sambrook dan Russel (2001). Hasil sekuen yang diperoleh dilihat keragamannya dan diuji antara dataran tinggi dan dataran rendah dengan menggunakan program *DNA Star*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Penotip

Rata rata karakteristik kuantitatif DET jantan dan betina pada dataran tinggi dan dataran rendah di Provinsi Jambi disajikan pada Table 2.

Tabel 2. Rataan karakteristik kuantitatif domba Lokal ekor tipis jantan dan betina pada beberapa kabupaten/ kota di provinsi Jambi

Site	Karakteristik Kuantitatif						
	BW	BWG	BL	WH	ChG	ChD	ChW
Highland							
Male	20,24±2,44	75,67±13,12	56,80±2,56	53,41±2,40	62,57±2,17	24,45±2,54	14,90±2,44
Female	18,08±2,65	51,28±16,26	54,50±2,69	52,57±2,76	61,35±2,56	21,89±2,38	14,65±2,44
Lowland							
Male	18,69±3,06	60,89±16,96	53,25±3,00	50,25±2,82	59,30±1,92	20,56±2,34	12,11±2,36
Female	16,01±3,67	36,50±15,69	51,00±2,71	49,68±2,48	58,46±1,82	19,10±2,12	11,33±2,04

*Description: BWG = body weight gain, BW = weight, BL = body length, WH = wither high, ChG = chest circumference, ChD = chestdeep and the ChW = chest width*

Berdasarkan Tabel 2. rataan karakteristik kuantitatif baik jantan maupun betina di dataran tinggi (Kabupaten Kerinci dan kota Sungai Penuh) lebih baik dibandingkan di dataran rendah (Kabupaten Muaro Jambi dan Batanghari). Hasil analisis uji beda rata menunjukkan bahwa karakteristik kuantitatif di dataran tinggi berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan di dataran rendah di Provinsi Jambi. Kondisi ini menunjukkan bahwa faktor lingkungan berpengaruh terhadap performans ternak, karena lokasi kabupaten Kerinci dan kota Sungai penuh merupakan daerah dataran tinggi dengan ketinggian 1500 dpl, sedangkan kabupaten Muaro Jambi dan Batanghari merupakan daerah dataran rendah dengan ketinggian 100 – 500 dpl. Perbedaan ketinggian ini tentu akan menyebabkan perbedaan suhu, kelembaban, curah hujan, lama penyinaran dan kecepatan angin. Menurut Calderon, *et al.* (2005) bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara penampilan produksi ternak di dataran rendah (daerah panas) dengan di dataran tinggi (daerah dingin). Selanjutnya dinyatakan faktor lingkungan akan mempengaruhi produktivitas ternak domba (Popoola *et al.* 2014 ; Idris *et al.* 2014 ; NseAbasi *et al.* 2014).

### Koefisien Keragaman, Analisis T2-Hotteling, dan Komponen Utama

koefisien keragaman yang diperoleh di di dataran tinggi jantan dan betina antara 3,90 – 35,88 % dan koefisien keragaman di dataran rendah jantan dan betina antara 3,83 – 48,01 %. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa koefisien keragaman DET di dataran tinggi lebih rendah dibandingkan di dataran rendah. Hasil penelitian Amirudin *et al.*, (2008) koefisien keragaman (KK) bobot badan domba jantan tertinggi di Biromaru pada umur 18 bulan 25,66%, dan betina umur 36 bulan 20,83%. Koefisien keragaman bobot badan domba betina di Palu Timur umur 12 bulan 22,38%, umur 36 bulan 22,28%. Berdasarkan hasil penelitian terhadap koefisien keragaman di dataran tinggi dan dataran rendah memungkinkan dilakukan seleksi terutama pada BB dan PBB.

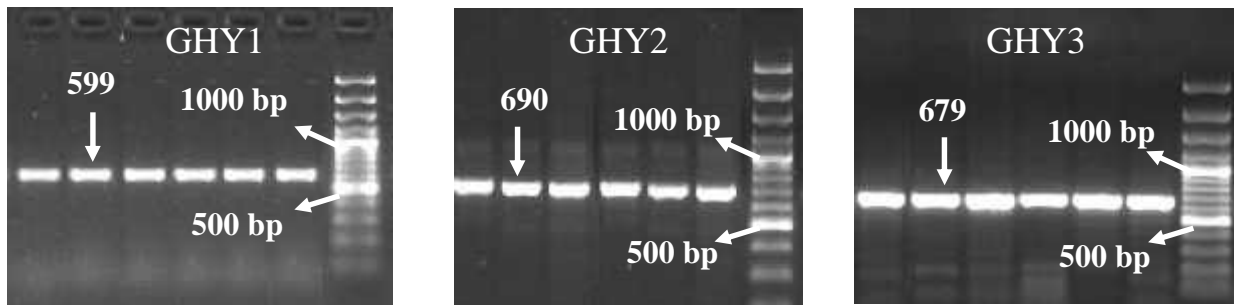
Vektor *eigen* tertinggi yang diperoleh pada persamaan ukuran ternak DET jantan dan betina baik di dataran tinggi maupun dataran rendah adalah lingkaran dada (LD). Artinya LD merupakan penciri ukuran karena memiliki kontribusi terbesar terhadap persamaan ukuran. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Amirudin (2008) yang menyatakan bahwa peubah penciri utama ukuran tubuh domba lokal palu adalah lingkaran dada. Selanjutnya menurut

Gunawan *et. al.* (2011) bahwa secara umum penciri ukuran yang berkorelasi positif dengan skor ukuran yaitu lingkaran dada pada semua tipe Domba Garut.

Korelasi antara skor ukuran dan LD ditemukan sebesar antara +0,7639 sampai +0,9308. Tanda positif ini menunjukkan bahwa peningkatan ukuran LD akan meningkatkan skor ukuran atau sebaliknya. Korelasi antara skor bentuk dan LeD ditemukan sebesar antara +0,0910 sampai +0,1617. Nilai korelasi ini merupakan nilai korelasi paling tinggi diantara nilai korelasi antara skor bentuk dan variabel linear permukaan tubuh yang diamati. Hal tersebut mengindikasikan bahwa peningkatan ukuran LeD akan meningkatkan skor bentuk atau sebaliknya.

#### 4.2. Isolasi DNA, Amplifikasi dan Analisis Penciri *PCR-RFLP MspI dan AluI*

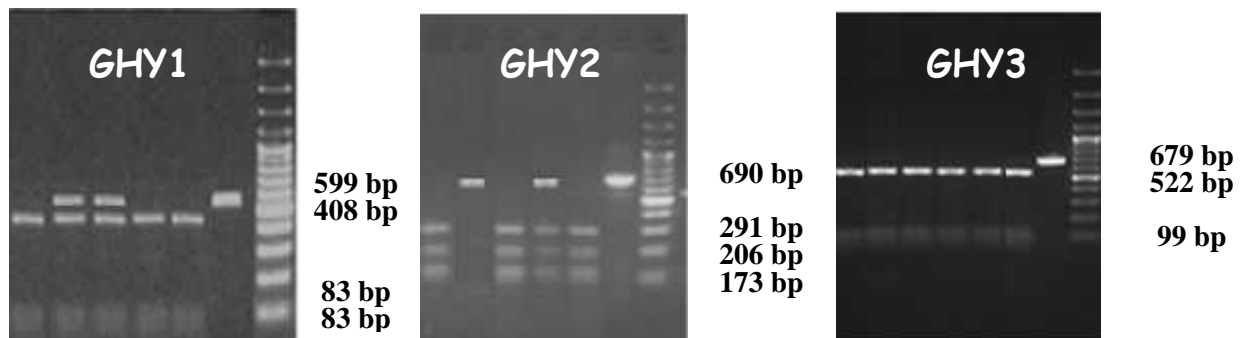
Konsentrasi DNA hasil isolasi pada dataran tinggi dan rendah bervariasi yaitu berkisar 100 – 400 ng/ $\mu$ l. Tinggi rendahnya konsentrasi DNA yang dihasilkan sangat tergantung pada kemampuan melisis inti sel. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yurnalis *et. al.* (2013) yang menyatakan bahwa jika inti sel dapat dilisis dengan baik maka konsentrasi DNA yang dihasilkan cukup tinggi dan kualitas DNANYA akan bagus atau sebaliknya. Hasil PCR yang dilakukan untuk mengamplifikasi DNA di dataran tinggi dan rendah panjang fragmen yang dihasilkan sama pada masing masing primer GHY1, GHY2 dan GHY3 secara berurutan yaitu 599 bp, 690 bp dan 679 bp. Hasil amplifikasi ini menghasilkan produk PCR yang sangat spesifik.. Lebih jelasnya hasil PCR disajikan pada Gambar 1.



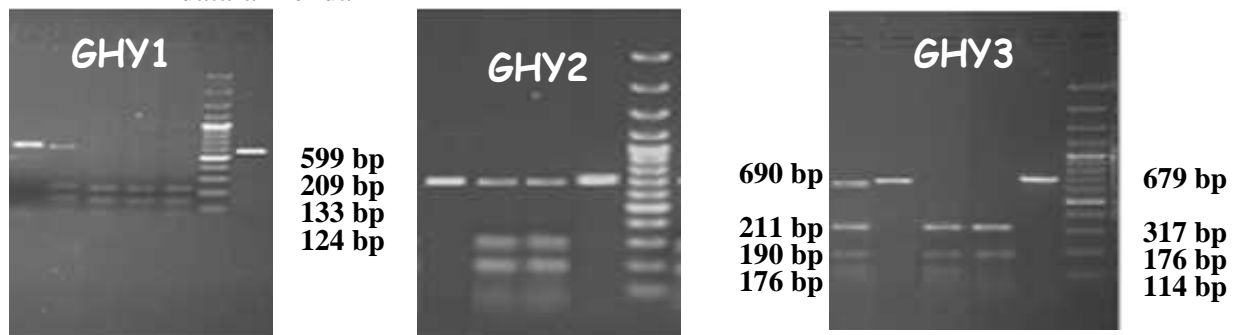
Gambar 1. Hasil PCR menggunakan primer GHY1, GHY2 dan GHY3

Hasil amplifikasi ini menghasilkan produk PCR yang sesuai harapan. Menurut Rahayu *et. al.* (2006) Primer merupakan bagian yang penting dalam PCR karena primer merupakan inisiator pada sintesis DNA target, disamping itu hasil PCR yang baik dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kemurnian DNA hasil ekstraksi, ketepatan pemilihan primer yang digunakan, serta ketepatan kondisi PCR. Kondisi ini menunjukkan bahwa kondisi reaksi PCR serta primer yang digunakan melalui desain dengan program primer sudah cukup baik karena memberikan produk PCR yang sangat spesifik sesuai yang diharapkan.

Hasil elektroforesis PCR-RFLP pada gen hormon pertumbuhan DET di dataran tinggi dan dataran rendah menggunakan enzim *MspI* dan *AluI*, diperoleh hasil yang sama pada primer GHY1, GHY2 dan GHY3 . Lebih detail disajikan pada Gambar 2 dan 3. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan jumlah pita gen GH pada titik potong CC\*GG dan AG\*CT di dataran tinggi dan dataran rendah baik pada ternak jantan maupun betina di Provinsi Jambi .



Gambar 2. Hasil Elektroforesis produk *PCR-RFLP* Gen hormon pertumbuhan menggunakan enzim pemotong *MspI* pada Primer GHY1, GHY2 dan GHY3 di dataran tinggi dan dataran rendah



Gambar 3. Hasil Elektroforesis produk *PCR-RFLP* Gen hormon pertumbuhan menggunakan enzim pemotong *AluI* pada Primer GHY1, GHY2 dan GHY3 di dataran tinggi dan rendah

#### 4.5. Frekuensi Genotipe, Alel dan Keseimbangan Hard-Weinberg

Polimorfisme atau keragaman genetik dapat diketahui berdasarkan analisis frekuensi alel dan frekuensi genotype. Hasil pemotongan dengan enzim *MspI* pada fragmen gen GH *MspI* sebesar 599 bp GHY1, 690 bp GHY2 dan 679 bp GHY3, di dataran tinggi diperoleh Frekuensi Genotipe (+/+) 0.5500, (+/-) 0.2875 dan (-/-) 0.1625 dengan frekuensi alel (+) 69,38% dan (-) 30,63%. Di dataran rendah diperoleh Frekuensi Genotipe (+/+) 0.5250, (+/-) 0.2750 dan (-/-) 0.2000 dengan frekuensi alel (+) 66,25% dan (-) 33,75%.

Hasil pemotongan dengan enzim *AluI* pada fragmen gen GH *AluI* sebesar 599 bp GHY1, 690 bp GHY2 dan 679 bp GHY3, di dataran tinggi diperoleh frekuensi Genotipe (+/+) 0.7000, (+/-) 0.2250 dan (-/-) 0.0750 dengan frekuensi alel (+) 81,25% dan (-) 18,75%. Di dataran rendah diperoleh frekuensi Genotipe (+/+) 0.6125, (+/-) 0.2000 dan (-/-) 0.1875 dengan frekuensi alel (+) 71,25% dan (-) 28,75%. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa DET baik di dataran tinggi maupun dataran rendah bersifat polimorfik. Menurut Nei dan Kumar (2000) bahwa suatu alel dikatakan polimorfik apabila salah satu alelnya kurang dari 99%.. Hasil penelitian ini juga menunjukkan populasi DET memiliki frekuensi alel (+) yang lebih tinggi dibandingkan dengan alel (-). Hasil ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Kumari *et al.* (2014) terhadap 9 bangsa domba di India yang mendapatkan frekuensi alel (+) lebih tinggi dibanding frekuensi alel (-). Lebih jelasnya disajikan pada Tabel 3

Tabel 3. Frekuensi genotipe gen GH *MspI* dan *AluI* DET pada dataran tinggi rendah dan dataran rendah di Provinsi Jambi.

Lokasi/ Enzim	Jumlah Sampel	Genotipe	Frekuensi Genotipe	Frekuensi Alel
Dataran Tinggi <i>MspI</i>	240	+/+	132 (0,5500)	+= 0,6938 -= 0,3063
		+/-	69 (0,2875)	
		-/-	39 (0,1625)	
Dataran Rendah <i>MspI</i>	240	+/+	126 (0,5250)	+= 0,6625 -= 0,3375
		+/-	66 (0,2750)	
		-/-	48 (0,2000)	
Dataran Tinggi <i>AluI</i>	240	+/+	168 (0,7000)	+ = 0,8125 - = 0,1875
		+/-	54 (0,2250)	
		-/-	18 (0,0750)	
Dataran Rendah <i>AluI</i>	240	+/+	147 (0,6125)	+ = 0,7125 - = 0,2875
		+/-	48 (0,2000)	
		-/-	45 (0,1875)	

Pengujian keseimbangan Hukum Hardy-Weinberg pada populasi DET di dataran tinggi dan rendah terhadap gen GH pada Penciri PCR-RFLP *MspI* dan *AluI* dilakukan dengan menggunakan uji *chi-square*. Frekuensi alel gen GH *MspI* dan *AluI* pada DET di dataran tinggi dan rendah dalam ketidakseimbangan *Hardy-Weinberg* ( $P < 0,01$ ). Kondisi tersebut menggambarkan adanya ketidakseimbangan populasi menurut hukum *Hardy-Weinberg* dimana frekuensi gen dan genotipe yang tidak tetap dari generasi ke generasi. Ketidakseimbangan populasi juga dimungkinkan karena tidak terkontrolnya sistem perkawinan sehingga ada peluang terjadinya seleksi. Menurut Ulupi *et al.*, (2014) ketidakseimbangan frekuensi genotipe atau frekuensi alel dalam populasi terjadi karena akumulasi genotipe, populasi yang terbagi, mutasi, seleksi, migrasi dan perkawinan dalam kelompok yang sama (*endogami*).

#### 4.6. Pendugaan Nilai heterozigositas dan PIC (*Polymorphic Informative Content*)

Keragaman genetik gen GH Penciri PCR-RFLP *MspI* dan *AluI* diperoleh berdasarkan nilai heterozigositas. Nilai heterozigositas merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam suatu populasi (Ahmaed *et al.*, 2014). Lebih jelasnya nilai heritabilitas pengamatan ( $H_o$ ) dan heterozigositas harapan ( $H_e$ ) disajikan pada tabel 4.

Pendugaan nilai heterozigositas dengan penciri PCR-RFLP *MspI* dan *AluI* di dataran tinggi dan dataran rendah memiliki nilai heterozigositas harapan ( $H_e$ ) lebih tinggi dibandingkan nilai pengamatan ( $H_o$ ). Menurut Machado *et al.* (2003) jika nilai  $H_o$  lebih rendah dari nilai  $H_e$ , mengindikasikan adanya derajat endogami (perkawinan dalam kelompok). Selanjutnya Menurut Javanmard *et al.* (2005) bahwa heterozigositas dengan nilai di bawah 50% akan mengindikasikan rendahnya variasi suatu gen dalam populasi

Tabel 4. Nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan heterozigositas harapan ( $H_e$ ) gen GH Penciri PCR-RFLP *MspI* dan *AluI*

Lokasi	n	Penciri PCR-RFLP	Heterozigositas	
			$H_o$	$H_e$
Dataran Tinggi	240	<i>MspI</i>	0,2875	0,4257
Dataran Rendah	240	<i>MspI</i>	0,2750	0,4481

Dataran Tinggi	240	<i>AluI</i>	0,2250	0,3053
Dataran Rendah	240	<i>AluI</i>	0,3250	0,4015

Nilai PIC domba Lokal ekor tipis untuk fragmen gen GH *MspI* dan *AluI* di dataran tinggi dan dataran rendah disajikan pada pada tabel 5.

Tabel 5. Pendugaan nilai *polymorphic informative content* (PIC) DET fragmen gen GH *MspI* dan *AluI* pada dataran rendah dan dataran tinggi di Provinsi Jambi.

Lokasi	n	<i>Polymorphic Informative Content</i> (PIC)	
		Fragmen Gen GH <i>MspI</i>	Fragmen Gen GH <i>AluI</i>
Dataran Tinggi	240	0.3797	0.2815
Dataran Rendah	240	0.3975	0.3677

Berdasarkan nilai PIC yang diperoleh dapat dinyatakan bahwa penciri PCR-RFLP fragmen gen GH *AluI* tidak berbeda dengan penciri PCR-RFLP fragmen gen GH *MspI* *AluI* pada dataran rendah dan dataran tinggi. Nilai PIC yang diperoleh termasuk dalam kategori sedang (Moderat), sehingga dapat dinyatakan nilai tersebut cukup informative sebagai penciri untuk fragmen gen GH *MspI* dan *AluI*. Botstein *et al.*, (1980) menyatakan bahwa nilai PIC dapat dijadikan dasar dalam penentuan informative tidaknya suatu penciri dan menentukan ada tidaknya suatu alel polimorfik selain berdasarkan nilai heterozigositas, Selanjutnya Puja *et al.*, (2013) menyatakan bahwa nilai PIC yang cukup tinggi memberi indikasi bahwa populasi sampel sangat heterogen dan terindikasi sedikit terjadi seleksi untuk karakteristik tertentu sedangkan nilai PIC yang kecil memberi indikasi bahwa populasi sampel sangat homogen dan terindikasi adanya seleksi untuk karakteristik tertentu.

#### 4.7. Hubungan Antara Polimorfisme Gen GH dengan karakteristik kuantitatif

Rata-rata karakteristik kuantitatif DET pada dataran tinggi dan dataran rendah fragmen gen GH menggunakan PCR-RFLP *MspI* dan *AluI*, disajikan pada Lampiran 1 .

Rata rata karakteristik kuantitatif DET, di dataran tinggi dan dataran rendah gen GH menggunakan penciri PCR-RFLP *MspI* dan *AluI* Genotipe  $+/+$  >  $+/-$  >  $-/-$  (Lampiran 1). Hasil analisis uji *t* antara genotipe ( $+/+$ ,  $+/-$  dan  $-/-$ ) terhadap karakteristik kuantitatif DET di dataran tinggi dan dataran rendah mempunyai pola yang sama yaitu berbeda nyata (  $P < 0.05$ ). Hasil yang diperoleh ini mengindikasikan bahwa ada hubungan antara genotipe gen GH dengan karakteristik kuantitatif DET yang dianalisis. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hajihosseino *et al.* (2013) bahwa pada domba makooe, frekuensi genotipe mempunyai hubungan dengan karekteristik ternak. Frekuensi genotipe dapat dijadikan sebagai gen penanda molekul sifat pertumbuhan (Alakili *et al.* 2012). Selanjutnya Hua *et al.*, (2009). Manyatakan bahwa keragaman haplotip gen GH *HaeIII* pada kambing Boer berpengaruh terhadap bobot lahir, bobot sapih, pertambahan bobot badan perhari sebelum sapih dan bobot badan umur 11 bulan. Dengan demikian berdasarkan hasil penelitian ini dapat dinyatakan bahwa penciri PCR-RFLP dapat dijadikan sebagi alat seleksi atau keragaman frekuensi genotipe dapat dijadikan dasar seleksi dan program pemuliaan yang sangat berguna dalam rangka meningkatkan keberhasilan usaha pemeliharaan ternak DET di Provinsi Jambi.

#### 4.8. Sekuens Gen Hormon Pertumbuhan tinggi

Hasil analisis pensejajaran fragmen gen GH primer GHY1, GHY2, GHY3 serta gabungan ketiga primer tersebut dengan *BLAST* baik di dataran tinggi maupun dataram rendah



menunjukkan kesamaan (*homology*) yang tinggi dengan dengan sekuen gen *ovis aries growth hormone*. GHY1 dengan nomor aksesori DQ461656.1-2056, EF077162.1-1973 bp, KM386510.1-1973 bp, DQ461657.1-2055, bp dan X12546.1- 2162 bp yaitu 99 %. GHY2 dengan nomor aksesori EF077162.1-1973 bp, KM 386510.1-1973 bp, DQ461681.1-2980 bp, DQ461679. 1-2095 bp dan X12546.1- 2162 bp yaitu, 99%. GHY3 dengan nomor aksesori EF077162.1-1973 bp, DQ461677,1-2987bp, DQ461669.1-2924 bp, DQ461667.1-4804 bp, dan X12546.1- 2162 bp yaitu 98%. Gabungan GHY1, GHY2 dan GHY3 dengan nomor aksesori EF077162.1-1973bp, DQ461677,1-2987bp, DQ461669.1-2924 bp, DQ461667.1-4804 bp, dan X12546.1- 2162 bp yaitu 98%, Hasil ini menunjukkan bahwa fragmen gen GH yang diampifikasi adalah fragmen gen GH dari domba (*Ovis aries*). Hasil analisis homologi primer GHY1, GHY2 dan GHY3, dan gabungan dengan nomor aksesori yang sama yaitu EF077162.1-1973bp, DQ461677,1-2987bp, DQ461669.1-2924 bp, DQ461667.1-4804 bp, dan X12546.1- 2162 bp secara berurutan diperoleh 99%, 99%, 98%, dan 98%.

*Multiple Alignment* dipakai untuk memprediksi struktur dan fungsi protein. Salah satu metode yang digunakan yaitu *ClustalW*. Hasil *clustalW* baik Primer GHY1, GHY2, GHY3 dan gabungan diperoleh kesamaan secara berurutan yaitu 98,57, 98,19 %, 98,30 % dan 98,86 %. Berdasarkan hasil analisis sekuens diperoleh bahwa kemungkinan mutasi yang terjadi pada kedua situs tersebut adalah mutasi antara basa sitosin (C) menjadi timin (T) dan basa sitosin (C) menjadi guanin (G). Mutasi PCR-RFLP gen GH *MspI* (C\*CGG) perubahan basanya C → T posisi 319 bp yaitu pada exon 1, sedangkan PCR-RFLP gen GH *AluI* (AG\*CT) C → G posisi 983 bp yaitu pada exon 3.

Berdasarkan hasil yang diperoleh terlihat adanya perubahan basa dengan menggunakan enzim restriksi *MspI* maupun *AluI*, walaupun ada peluang perubahan (mutasi) dengan basa-basa yang lain. Hal ini karena masih terbatasnya jumlah sampel sekuen yang di analisis. Namun hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan Malewa *et. al.*, (2014) dan Mahroush *et. al.* (2014) menyatakan ada perubahan antara basa sitosin (C) menjadi timin (T) dan basa sitosin (C) menjadi guanin (G) pada *Ovis aries* domba ekor gemuk, domba Mesir dan domba Arab Saudi. Selanjutnya menurut Jakaria (2008), bahwa perubahan basa nucleotida yang terjadi pada situs *MspI* (C → T) dan *AluI* (C → G). Ge *et al* (2003) menyatakan perubahan yang terjadi pada situs *AluI* dapat mengubah asam amino dari leusin (L) (CTG) menjadi valin (V) (GTG) dari hormone pertumbuhan.

Mutasi yang diperoleh dalam penelitian ini dikategorikan mutasi substitusi, dimana tipe mutasi transisi untuk enzim restriksi *MspI* dan tipe mutasi transversasi enzim restriksi *AluI* . Hal ini sesuai dengan pernyataan Li dan Gaur (1991) bahwa mutasi yang terjadi akibat adanya substitusi basa adenine dengan guanin (purin) atau antara sitosin dan timin (pirimidin). Mutasi transversasi karena adanya pertukaran antara basa purin (A,G) dengan pirimidin (C, T). Mutasi penting dipelajari karena menyebabkan terjadinya keragaman genetik, sehingga bisa digunakan untuk mengetahui jarak genetik (Mahrous *et al.*, 2014), ciri ciri bangsa (Elkorshy *et al.*, 2013), hubungan dengan sifat sifat pertumbuhan (Moradian *et al.*, 2014 ; Jia *et. al.*, 2014) dan terhadap kemampuan reproduksi (Moradband *et al.*, 2011).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Karakteristik kuantitatif DET baik jantan maupun betina di dataran tinggi lebih baik dibanding di dataran rendah di Provinsi Jambi.
2. Penciri *PCR-RFLP MspI* dan *AluI* menunjukkan adanya adanya polimorfisme gen GH baik di dataran tinggi maupun di dataran rendah di Provinsi Jambi.

3. Karakteristik kuantitatif DET mempunyai hubungan positif dengan frekuensi genotipe gen GH *MspI* dan *AluI* baik pada dataran tinggi maupun dataran rendah di Provinsi Jambi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alakilli YM, Mahrous KF, Salem LM, Ahmed ES (2012). Genetic polymorphism of five genes associated with growth traits in goat. *Afr. J. Biotechnol.* 11 (82) : 14738-14748.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, and Davis RW (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J. Hum. Genet.* 32:314–331.
- Calderon A, Armstrong DV, Ray DE, Denise SK, Enns RM and Howison CM (2005). Productive and reproductive response of Holstein and Brown Swiss heat stressed dairy cows to two different cooling systems. *J. Anim Vet* 4:572-578.
- Elkorshy N, Karima F, Mahrous, Salem LM (2013). Genetic Polymorphism Detection in Four Genes in Egyptian and Saudi Sheep Breeds. *World Applied Sciences Journal.* 27 (1): 33-43.
- Gasper V. 2006. Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan. Penerbit. Tarsito Bandung.
- Ge W, Davis ME, Hines HC, Irvin KM and Simmen RCM (2003). Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. *J. Anim. Sci.* 81: 641-648.
- Hajihosseini A, Semsarnejad A, Abollow E, Hashrafi F, Negahdary M (2013). Effect of GH gene polymorphisms on biometric traits in Makooei sheep. *Annals of Biological Research.* 4 (6) : 351-355.
- <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>, Diakses 9 Januari 2015
- <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST.cgi>, Diakses 9 Januari 2015
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techrflp/>, Diakses 9 Januari 2015
- Hua GH, Chen SL, Yu JN, Cai KL, Wu CJ, Li QL, Zhang CY, Liang AX, Han L, Geng LY, Shen Z, Xu DQ, Yang LG (2009). Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks. *Meat Science.* 81 (2) : 391–395.
- Idris A, Kijora C, El-Hag FM, Salih AM and Elmola SAF (2014) Climate change adaptation strategies for sheep production in range land of Kordofan Region. *World Essays Journal.* 1 (1): 20-25
- Jakaria and Noor RR (2011). Analysis on *Alu-I* growth hormone (*GHAlu-I*) gene in Bali cattle. *J Indon Trop Anim Agric* 36 (2): 77- 82.
- Javanmard A, Nader A, Mohammad B, Javad T (2005). The allele and genotype frequencies of bovine pituitary specific transcription factor and leptin genes in Iranian cattle and buffalo population using PCR-RFLP. *Iranian Journal of Biotechnology.* 3 (2) : 104-108.
- Jia JL, Zhang LP, Wu JP, Ha ZJ, Li WW (2014). Study of the correlation between *GH* gene polymorphism and growth traits in sheep. *Genetics and Molecular Research.* 13 (3): 7190-7200.
- Johari S, Kurnianto E, Sutopo dan Aminah S (2007). Keragaman protein darah sebagai parameter biogenetik pada sapi jawa. *J. Indonesian Trop. Agri.*, 32 (2) : 112-118.
- Kumari R, Kumar R, Meena AS, Jyotsana B, Prince LLL, Kumar S (2014). Genetic polymorphism of growth hormone gene in native sheep breeds of india. *The Indian Journal of Small Ruminants*, 20 (2): 15-18.
- Li, WH and Graur D (1991) *Fundamentals of Molecular Evolution.* Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts.

- Liu MF and Makarechian M (1990). Comparison of phenotypic variation within paternal half sib families for weaning wight in purebred and synthetic beef cattle population. *Can. Jurnal Anim. Sci.* 70 (2) : 703-706.
- Mahrous KF, Sabry NM, Altwaty NH, Salem LM (2014). Molecular comparative study of growth hormone receptor (*GHR*) gene in Egyptian and Saudi breeds of sheep (*Ovis aries*). *International Journal of Advanced Research.* 2 (10) : 1102-1111.
- Malewa AD, Hakim L, Maylinda S and Husain MH (2014). Growth hormone gene polymorphisms of Indonesia fat tailed sheep using PCR-RFLP and their relationship with growth traits. *Livestock Research for Rural Development.* 26 (6).
- Marai IFM, El-Darawany AA, Fadiel A, Abdel-Hafez MAM (2007). Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review. *Small Ruminant Research.* 71 : 1–12.
- Mariana E (2011). Analisis Keragaman Gen Laktoferin Pada Sapi Friesian-Holstein Dengan Metode PCR-RFLP. *Agripet.* 11 (1) : 15 – 21.
- Moradband F, Rahimi G dan Gholizadeh M (2011). Association of Polymorphisms in Fecundity Genes of GDF9, BMP15 and BMP15-1B with Litter Size in Iranian Baluchi Sheep. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24 (9): 1179 – 1183.
- Moradian C, Mohamadi N, Sheshdeh SAR, Hajihosseino A and Ashrafi F (2013). Effects of genetic polymorphisms at the growth hormone gene on growth traits in Makoei sheep. *European Journal of Experimental Biology.* 3(3): 101-105.
- Nei M (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York. Columbia University Press.
- Nei M and Kumar S (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press. Inc. New York.
- NseAbasi N. Etim and Mary AO (2014). Environmental and Management Stressors: Implications for Reproductive and Productive Performances of Farm Animals in the Tropics. *Journal of Agriculture and Sustainability.* 5 (2) : 153 – 170.
- NseAbasi N, Etim, Edem EA, Offiong, MetiAbasi D, Udo, Mary EW and Emem I.E (2014). Physiological Relationship between Stress and Reproductive Efficiency. *Agric. Biol. J. N. Am.* 4 (6) : 600-604.
- Popoola MA, Bolarinwa MO, Yahaya MO, Adebisi GL and Saka AA (2014). Thermal comfort effects on physiological adaptations and growth performance of west african dwarf goats raised in nigeria. *European Scientific Journal. Special edition.* 3 : 275-281.
- Puja IK, Wandia IN, Suastika P, dan Sulabda IN (2013). Asosiasi polimorfisme genitika lokus *deoxynucleic acid* (dna) mikrosatelit gen *bovine lymphocyte antigen* (BoLA) dengan kualitas semen pada sapi Bali. *Jurnal Kedokteran Hewan.* 2 (7) : 163 – 165.
- Sambrook, J. and Russell, D. (2001). *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, 3rd edn. Cold Spring Harbor, NY. Cold Spring Harbor Laboratory.
- Sanger FS, Nicklen, and Coulson AR (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci . USA.* 74 : 5463.
- Ulupi N, Muladno, Sumantri C. and Wibawan I WT (2014). Study of kampung chicken resistance against Salmonella enteritidis using tlr4 gene as marker. *Int. J. Poult. Sci.* 13 : 467-472.
- Yurnalis, Sarbaini, Arnim, Jamsari, and Wolfgang N. 2013. Identification of single nucleotide polymorphism of growth hormone gene exon 4 and intron 4 in Pesisir cattle, local cattle reeds in West Sumatera Province of Indonesia. *African Journal of Biotechnology.* 12 (3) :: 249-252.

Lampiran 1. Rata-rata karakteristik DET fragmen gen GH menggunakan penciri *MspI* dan *AluI* pada dataran tinggi dan dataran rendah

Lokasi/ Karakteristik	Genotipe		
	AA	AB	BB
<b>Dataran Tinggi <i>MspI</i></b>			
PBB	0,0899±0,0114 <sup>a</sup>	0,0759±0,0064 <sup>b</sup>	0,0645±0,0075 <sup>c</sup>
BB	22,2519±2,5286 <sup>a</sup>	21,1458±1,7935 <sup>b</sup>	20,5311±2,6702 <sup>c</sup>
PB	58,8688±2,2773 <sup>a</sup>	58,1198±2,0864 <sup>b</sup>	56,8361±3,0573 <sup>c</sup>
TP	55,4084±2,6777 <sup>a</sup>	54,9001±1,9705 <sup>b</sup>	54,4013±2,9319 <sup>c</sup>
LiD	64,4261±2,4150 <sup>a</sup>	63,9291±1,8306 <sup>b</sup>	63,0101±2,5642 <sup>c</sup>
DD	25,5693±1,6429 <sup>a</sup>	25,0791±1,1344 <sup>b</sup>	24,7515±1,8240 <sup>c</sup>
LeD	15,4803±1,1689 <sup>a</sup>	15,1133±0,8910 <sup>b</sup>	14,9986±1,0956 <sup>c</sup>
<b>Dataran Rendah <i>MspI</i></b>			
PBB	0,0764±0,0158 <sup>a</sup>	0,0591±0,0047 <sup>b</sup>	0,0481±0,0058 <sup>c</sup>
BB	21,1274±2,2441 <sup>a</sup>	18,5504±1,6586 <sup>b</sup>	16,6256±1,1799 <sup>c</sup>
PB	56,5173±2,3176 <sup>a</sup>	54,0838±1,6564 <sup>b</sup>	53,1163±1,3145 <sup>c</sup>
TP	52,3217±2,2593 <sup>a</sup>	50,1349±1,5269 <sup>b</sup>	49,1647±0,7901 <sup>c</sup>
LiD	60,9372±1,9024 <sup>a</sup>	59,4086±1,0630 <sup>b</sup>	58,7667±0,4279 <sup>c</sup>
DD	22,9243±1,3990 <sup>a</sup>	21,0286±1,5550 <sup>b</sup>	21,1440±0,8657 <sup>c</sup>
LeD	13,8673±1,6257 <sup>a</sup>	12,1718±1,4473 <sup>b</sup>	11,7451±0,8958 <sup>c</sup>
<b>Dataran Tinggi <i>AluI</i></b>			
PBB	0,0861±0,0131 <sup>a</sup>	0,0741±0,0069 <sup>b</sup>	0,0625±0,0095 <sup>c</sup>
BB	21,9588±2,4528 <sup>a</sup>	21,0263±2,2706 <sup>b</sup>	19,1183±0,6954 <sup>c</sup>
PB	58,6303±2,3587 <sup>a</sup>	57,9232±2,1549 <sup>b</sup>	54,0423±1,9300 <sup>c</sup>
TP	55,3233±2,5692 <sup>a</sup>	55,1358±1,9046 <sup>b</sup>	52,3763±1,8106 <sup>c</sup>
LiD	64,1657±2,3955 <sup>a</sup>	63,9673±2,0305 <sup>b</sup>	61,1494±1,9163 <sup>c</sup>
DD	25,3835±1,6619 <sup>a</sup>	24,9335±1,6760 <sup>b</sup>	23,2856±2,1599 <sup>c</sup>
LeD	15,4032±1,1677 <sup>a</sup>	15,0934±0,7866 <sup>b</sup>	14,4004±0,6543 <sup>c</sup>
<b>Dataran Rendah <i>AluI</i></b>			
PBB	0,0717±0,0160 <sup>a</sup>	0,0583±0,0092 <sup>b</sup>	0,0478±0,0101 <sup>c</sup>
BB	20,5331±2,3714 <sup>a</sup>	17,7270±1,6610 <sup>b</sup>	17,0133±1,9803 <sup>c</sup>
PB	55,9954±2,3897 <sup>a</sup>	53,8307±1,4541 <sup>b</sup>	52,7504±1,3055 <sup>c</sup>
TP	51,8231±2,3417 <sup>a</sup>	49,7834±1,1692 <sup>b</sup>	49,2165±0,7234 <sup>c</sup>
LiD	60,6445±1,7416 <sup>a</sup>	58,9798±1,3423 <sup>b</sup>	58,7706±0,6189 <sup>c</sup>
DD	22,4275±1,6705 <sup>a</sup>	21,3825±1,1932 <sup>b</sup>	21,0119±1,4642 <sup>c</sup>
LeD	13,4447±1,8072 <sup>a</sup>	12,1186±1,1632 <sup>b</sup>	11,8340±0,6611 <sup>c</sup>

Keterangan : Hurup kecil berbeda pada baris yang sama berbeda nyata,  $db = n - 2$   $t_{tabel} 5\% = 1,645$ .