

KERAGAMAN GEN HORMON PERTUMBUHAN DOMBA PALU DENGAN METODE PCR-RFLP

The diversity of the Palu Sheep Growth Hormone Gene using the PCR-RFLP Method

Amirudin Dg. Malewa

Peternakan, Fakultas Peternakan dan Perikanan, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia
 E-mail: amirmalewauntad@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian bertujuan mengidentifikasi keragaman (polimorfisme) gen Hormon Pertumbuhan (GH) pada domba Palu sebagai gen kandidat potensial yang mengendalikan sifat pertumbuhan. Sampel darah domba dari lokasi peternakan rakyat (Kota Palu Sulteng) yang digunakan sebanyak 55 ekor, diekstraksi untuk mendapatkan sampel DNA genom. Pendeteksian keragaman pada gen GH dilakukan menggunakan pendekatan Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP dengan enzim HaeIII). Genom DNA diekstrak menggunakan protokol phenol-kloroform dan diamplifikasi dengan teknik polymerase chain reaction (PCR), kemudian PCR produk dipotong dengan enzim. Potongan fragmen dari gen GH lokus GH-HaeIII (GG-CC) dideteksi dengan metoda pewarnaan perak. Suatu basa dengan panjang 288 pb (PB) dari gen GH berhasil diamplifikasi dari domba lokal Palu. Enzim pemotong HaeIII memotong produk PCR kedalam dua fragmen berbeda berurutan pada 192 dan 96 dan dinyatakan sebagai alel B atau genotip BB (homozigot). Kesimpulannya Lokus GH-HaeIII BB (homozigot). Hasil restriksi seluruh produk PCR diperoleh hasil yang seragam (tidak ada polimorfisme) dengan kata lain semua sampel domba Palu dalam keadaan monomorfik. Pola DNA pada gen GH belum tepat untuk digunakan sebagai Marka Pembantu Seleksi (Marker Assisted Selection), karena bersifat monomorfik.

Kata Kunci: Keragaman, Domba Palu, Gen GH

ABSTRACT

This study aims to identify the diversity (polymorphism) of the Growth Hormone (GH) gene in Palu sheep as a potential candidate gene that controls the nature of growth. Sheep blood samples from the location of community farms (Palu, Central Sulawesi) which were used as many as 55 animals, were extracted to obtain genomic DNA samples. The detection of diversity in the GH gene was carried out using the Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP approach with the HaeIII enzyme). The DNA genome was extracted using the phenol-chloroform protocol and amplified with the polymerase chain reaction (PCR) technique, then the product PCR was cut with enzymes. Fragment fragments of the GH-HaeIII locus GH gene (GG-CC) were detected by the silver staining method. A base with a length of 288 bp (PB) from the GH gene was successfully amplified from Palu local sheep. The HaeIII cutting enzyme cuts the PCR product into two different fragments sequentially at 192 and 96 and is expressed as the B allele or BB genotype (homozygous). In conclusion, GH-HaeIII BB locus (homozygous). The restriction results for all PCR products obtained uniform results (no polymorphism) in other words all samples of Palu sheep in a monomorphic state. The DNA pattern in the GH gene is not appropriate for use as a Marker Assisted Selection, because it is monomorphic.

Keywords: Diversity, Palu Sheep, GH Gen

PENDAHULUAN

Domba Palu sebagai aset plasma nutfah/Sumber daya genetik Sulawesi Tengah, berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber daging. Domba Palu merupakan ternak ruminansia kecil yang telah dipelihara secara turun temurun di lembah Kota Palu dan sekitarnya dan memiliki kontribusi besar terhadap rakyat kecil. Ternak ini sangat mudah pemeliharaannya, ruang pemeliharaan yang tidak luas dan umumnya dipelihara untuk tujuan produksi daging dan sebagian sebagai tabungan.

Domba Palu merupakan salah satu domba tipe pedaging yang diharapkan memiliki kontribusi dalam pemenuhan kebutuhan protein hewani. Hanyasaja kontribusinya dalam skala nasional baru mencapai 0,07 % disamping produktivitasnya yang masih rendah dibanding domba-domba lain di Indonesia. Upaya yang dapat dilakukan dalam meningkatkan kualitas genetik domba Palu adalah melalui seleksi. Sebelum program seleksi dilaksanakan perlu dilakukan karakterisasi fenotip dan genotip sebagai sumber informasi yang menunjang implementasi dilapangan.

Sebagai domba tipe pedaging, maka seleksi domba Palu diarahkan untuk peningkatan bobot badan. Bobot badan juga merupakan indikator pertumbuhan dan merupakan salah satu penciri untuk sifat yang bernilai ekonomis tinggi. Bobot badan merupakan salah satu sifat kuantitatif (fenotip) yang ekspresinya dipengaruhi oleh lingkungan juga ditentukan oleh banyak pasang gen (genotip). Diantara gen tersebut ada gen yang pengaruhnya besar/utama (*major gene*) sampai yang pengaruhnya kecil (*minor gene*). Salah satu gen yang diduga merupakan gen utama dalam mempengaruhi pertumbuhan adalah gen pengkode hormon pertumbuhan yang mempengaruhi sekresi hormon pertumbuhan. Pertumbuhan seekor ternak dimanifestasikan dengan berubahnya bobot badan secara bersamaan. Selain digunakan untuk menentukan kondisi ternak, bobot badan sering digunakan sebagai kriteria seleksi.

Salah satu problem peternakan adalah antara pentingnya mempertahankan bibit yang berkualitas dan tuntutan ekonomi peternak. Bibit yang baik merupakan modal awal dari proses budidaya domba dan menentukan produktivitas generasi selanjutnya. Namun pada musim-musim tertentu jika peternak membutuhkan Dana untuk kebutuhan keluarga, peternak menjual ternaknya tanpa mempertimbangkan kualitas ternak yang dijual. Untuk mempertahankan bibit yang baik, peternak perlu memahami ternak ternak-ternak mana yang boleh dijual dan ternak mana yang dipertahankan. Oleh karena itu disinilah pentingnya pengetahuan tentang seleksi bagi peternak.

Karakteristik fenotip dilakukan agar keragaman bobot badan yang diperoleh menjadi informasi yang membantu dalam menetapkan batas seleksi. Parameter pertumbuhan yang telah diamati pada penelitian sebelumnya adalah bobot lahir, bobot sapih termasuk penambahan bobot badan (PBB). Namun informasi tersebut dianggap kurang cukup mengingat pengaruh gen Hormon Pertumbuhan memungkinkan masih dapat dideteksi pada bobot badan dan ukuran tubuh sebelum dan sesudah umur setahun sampai umur dewasa. Pada penelitian sebelumnya pengambilan sampel masih terbatas pada peternak domba wilayah Palu Timur dengan jumlah sampel yang masih kurang. Pada penelitian ini sampel diambil pada wilayah kelurahan (Kawatuna, Poboya, Taipa, Petobo) Kota Palu.

Penelitian molekuler seperti metode PCR-SSCP untuk mengamati keragaman gen Hormon Pertumbuhan telah banyak dikembangkan untuk mengidentifikasi faktor-faktor yang mempengaruhi peningkatan bobot badan ternak termasuk pada domba Palu melalui metode PCR yang digunakan PCR-RFLP. Namun penelitian polimorfisme gen Hormon Pertumbuhan dan hubungan dengan bobot badan dewasa dan ukuran tubuh dengan metode

PCR-RFLP pada domba lokal Indonesia khususnya pada domba Palu masih terbatas. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan mendeteksi keragaman gen Hormon Pertumbuhan domba Palu. Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi pada pengembangan iptek khususnya pemuliaan ternak, sekaligus membantu proses pembuatan kebijakan terkait seleksi dengan pemanfaatan gen Hormon Pertumbuhan guna meningkatkan kualitas genetik domba Palu menjadi domba unggul.

Penelitian sebelumnya berjudul “Analisis polimorfisme gen Growth Hormon dan hubungannya dengan bobot badan domba Ekor Gemuk (Donggala dan domba UPT Garahan Jember)” (Malewa 2013). Hasil yang diperoleh dengan menggunakan metode PCR-RFLP HaeIII disimpulkan bahwa polimorfisme gen Hormon Pertumbuhan berpengaruh secara positif terhadap PBB dan bobot sapih. Informasi molekuler pada domba Palu masih sangat sedikit. Diantara informasi tersebut terkait dengan gen Kalpastatin dan hubungannya dengan bobot badan (Sumantri *dkk.*, 2008), gen Growth Hormon dan hubungannya dengan bobot lahir, bobot sapih dan PBB (Malewa, 2013). Polymorphisme gen GH domba Donggala dengan PCR-RFLP/HINF1 dan sekuensing (Malewa, 2019). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis polimorfisme genetik melalui analisis gen hormon Pertumbuhan dengan metode PCR-RFLP HaeIII.

BAHAN DAN METODE

Penelitian menggunakan 55 ekor domba, di wilayah peternakan domba rakyat lembah Palu di 4 Kelurahan (Kawatuna, Poboya, Taipa dan Petobo). Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel darah adalah jarum vacutainer no 21G, Tabung Vacutainer+EDTA 6mm, Ice-box, ice jelly pack. Pengambilan sampel darah dilakukan pada domba yang dikumpulkan data bobot badan dan ukuran tubuhnya. Pengambilan sampel darah dilakukan pada pagi hari pukul 7.00-9.00. Sampel darah diambil melalui pembuluh darah balik (vena jugularis) di bagian leher dengan jarum vacutainer sebanyak 6 ml darah dimasukkan ke dalam tabung vacutainer yang sudah berisi 1 ml EDTA 10%. Disimpan dalam ice-box yang telah disiapkan dan diisi ice jelly pack (selama di lapang). Sampel ini selanjutnya disimpan dalam freezer sebelum diisolasi. Penelitian di laboratorium adalah untuk memperoleh gambaran polimorfisme gen GH, serta hubungan polimorfisme gen GH tersebut dengan bobot badan dan ukuran tubuh domba dewasa. Prosedur analisis laboratorium dilakukan langkah sebagai berikut:

Isolasi DNA Total

Isolasi DNA meliputi ekstraksi dan pemurnian DNA yang dilakukan dengan materi darah total (*whole blood*). Isolasi DNA total dilakukan dengan menggunakan metode fenol yang dimodifikasi (Sambrook *et al.*, 1989), selain itu menggunakan Blood genomic DNA Isolation Kit (NORGEN Canada). Isolasi DNA, PCR dan RFLP dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA), Universitas Brawijaya.

Sampel darah yang telah diawetkan diambil sebanyak 200 µl ditempatkan di dalam tabung eppendorf 1,5 ml, kemudian ditambah 300 µl Cell Lysis Buffer ditambahkan 20 µl SDS 10%, divortex dan diinkubasi water bath pada suhu 55 °C selama 1 jam. Setelah inkubasi, campuran diekstraksi dengan penambahan PCI sebanyak 300 µl. masing-masing divortex kemudian di sentrifus 12000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit.

Upper phase (larutan bagian atas) masing-masing sampel dipindah ke tabung baru (Mikrotube) ditambahkan 300 µl Clorofom, divortex dan disentrifus 12000 rpm pada suhu

4°C selama 10 menit. Upper phase (larutan bagian atas) Dipindah lagi ke tabung baru (Mikrotube) ditambahkan etanol absolute 700 µl ditambahkan 20 µl Na asetat 3 M (mikro tube dibolak balik) kemudian diinkubasi pada suhu -20°C selama 1 jam. Setelah diinkubasi, selanjutnya sampel di sentrifus 12000 rpm dengan suhu 4°C selama 10 menit. Pelet yang tertinggal dalam mikrotube ditambahkan 200 µl etanol 70% kemudian disentrifus 12000 rpm, 10 menit, suhu 4°C. Selanjutnya pelet dikeringkan pada suhu 55oC (sampai bau etanol hilang) sekitar 15-20 menit. Setelah kering, pelet (DNA) kemudian ditambahkan 30 µl ddH₂O dipanaskan di oven 55°C sekitar 10 menit dan sampel DNA total disimpan di freezer (-20oC). Hasil isolasi DNA Total tersebut dimigrasikan pada gel Agarose 1% yang diberi Ethidium Bromide dengan buffer 1xTBE (1 M tris, 0,9 M asam borat, 0,01 M EDTA pH 8.0) dengan piranti submarine electrophoresis (Hoeffer USA). Hasil elektroforesis diamati dengan bantuan sinar UV 200-400 nm kemudian difoto untuk dokumentasi dan DNA yang keluar menjadi bahan untuk analisis selanjutnya.

Amplifikasi DNA dengan Polymerase Chain Reaction (PCR)

Analisis DNA dilakukan dengan metode PCR-RFLP dan elektroforesis berdasarkan petunjuk (Fatchiyah, *dkk.*, 2009). Sepasang primer oligonukleotida yang spesifik digunakan untuk membuat hibrid dengan ujung-5' menuju ujung-3' untai DNA target dan mengamplifikasi untuk urutan yang diinginkan. Primer yang digunakan untuk PCR didesain sendiri menggunakan software oligo eksplorer dengan memanfaatkan sebagian sekuen gen Hormon Pertumbuhan pada domba breed Lohi dengan nomor akses GenBank KX032517.1 (Elsayed, *et al.*, 2016).

Primer yang digunakan adalah GH-5 F: 5'-CTTGGCAGGAGCTGGAAGAT- 3', GH-5 R: 5'-AAAGGACAGTGGGCACTGGA -3. Adapun komposisi larutan untuk PCR adalah sebagai berikut: DdH₂O 2 µl, Primer F 1 µl, Primer R 1 µl, PCR mic (Promega) 5 µl dan Whole Genome 1 µl. Program PCR untuk mengamplifikasi fragmen gen Hormon Pertumbuhan (Tabel 1).

Tabel 1. Program PCR untuk mengamplifikasi fragmen gen Hormon Pertumbuhan

Tahapan	Temperatur (°C)	Lama
- Predenaturasi	94	3 menit
- Denaturasi	94	30 detik
- Annealing	52	30 detik
- Ekstension	72	30 detik
- Pos Ekstension	72	10 menit
- Siklus		35 kali

Deteksi Polimorfisme Dengan Teknik RFLP

Hasil PCR , merupakan bahan dasar pemotongan DNA dengan enzim restriksi. Untuk setiap 10 ul keseluruhan larutan digest, diperlukan 1 ul buffer digest. Double digest dilakukan pada buffer yang sesuai. Untuk setiap 50 ul solution dalam satu tabung 1.5 ml berisi urutan sebagai berikut: a.). H₂O 30-33ul, b). Digest Buffer 5 ul, c.). DNA/hasil PCR 1-5ul, d.). Enzim restriksi 0.5-1 ul dan mix gentle kemudian spindown sejenak. Secara umum kerja Enzim restriksi (ER) diinkubasi pada temperatur 37 °C, tetapi untuk ER tertentu pada temperature tertentu, inkubasi minimal 1 jam sampai semalaman. Stop

aktivitas ER pada temperatur 70°C, 15 menit. ditambahkan Loading dye pada hasil restriksi, dan running dalam gel agarose dengan konsentrasi antara 1-2%, tergantung pada potongan pita DNA yang diinginkan.

Elektroforesis

Proses ini bertujuan untuk mengetahui variasi dalam panjang fragmen hasil pemotongan oleh enzim restriksi terhadap untai DNA pada lokus tertentu. Prinsip dari elektroforesis adalah proses migrasi dari fragmen DNA di dalam gel yang direndam dalam larutan penyangga, dalam hal mana fragmen yang berukuran kecil bermigrasi lebih cepat daripada fragmen yang berukuran besar (Fatchiyah et al., 2009). Elektroforesis juga dilakukan pada gel Poliakrilamida 6% dengan tegangan konstan 100 V, 20 mAmpere selama 100 menit dan pewarnaan perak.

Interpretasi Hasil Elektroforesis

Pembacaan pita hasil elektroforesis dengan memperhatikan fragmen (ukuran pita) yang terpotong oleh enzim HaeIII, interpretasi dengan membandingkannya dengan size marker 100 pb kemudian dilakukan perhitungan berdasarkan jumlah sampel terhadap frekuensi Genotipe (AA, AB dan BB), frekuensi alel atau gen (A atau p dan B atau q) serta pengujian keseimbangan Hardy Weinberg, polimorfisme dengan nilai PIC (polymorphic information content) domba Palu serta analisis statistik. Guna menganalisis polimorfisme dalam populasi digunakan : Persen (%) heterozigositas DEG dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$PIC_i = 1 - \sum p_{2ij} \text{ atau } PIC_i = 1 - (p^2 + q^2)$$

Keterangan :

PIC_i = Polymorphic Information Content untuk lokus ke i,

p_{ij} = frekuensi alel ke j dari lokus ke i (Budak et al., 2003).

Pola pita pada Fragmen DNA hasil pemotongan oleh enzim HaeIII dianalisis misalnya Alel yg dihasilkan (+) normal atau terpotong, dan (–) mutasi atau tidak terpotong (Dybus, 2002). Alel (+) diberi notasi A, sedangkan alel (–) diberi notasi B.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman genetik gen GH pada domba Palu

Pasangan primer yang digunakan dalam penelitian ini merupakan pasangan primer yang didesain berdasarkan informasi sekuen gen GH yang tersedia di GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) dengan nomor akses KX032517.1. Berdasarkan informasi sekuen tersebut, pasangan primer yang digunakan dalam penelitian ini akan menghasilkan fragmen DNA gen GH dengan panjang sekitar 288 pb. Berdasarkan visualisasi hasil amplifikasi gen GH diketahui bahwa gen GH pada sampel domba Palu dalam penelitian ini berhasil teramplifikasi dengan ukuran sesuai target.

Struktur gen GH pada domba dicantumkan pada Gambar 1. Primer yang digunakan berhasil mengamplifikasi fragmen dari gen GH sebesar 288 bp dengan menggunakan primer GH 5 yaitu (Marques et al, 2003).

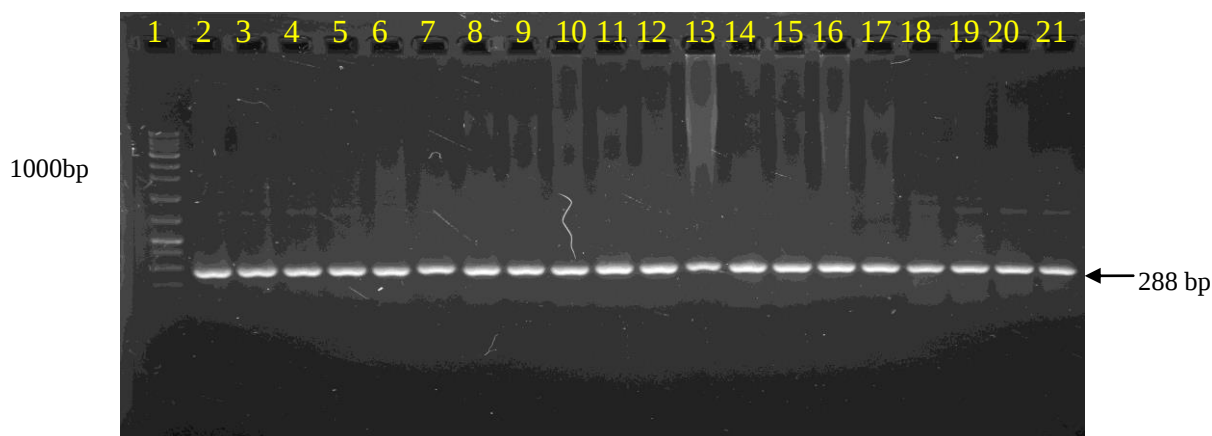
Pola Pemotongan

```
>KX032517.1 Capra hircus breed Baladi growth hormone (GH) gene, complete cds
ATTCTTTATGGCTGAGCCACCTGGGAAGCCATTTCGTTTCTGTACCTCCCCCTTAAAAAGAAAACCTAT
GGGGTGGGCTCTCAAGCTGAGACCCTGTGTGTACAGCCCTCAGGCTGGTGGCAGTGGAGAGGGGATGATG
ACGAGCCTGGGGGACATGACCCAGAGAAGGAACGGGAACAGGATGAGTGAGAGGAGGTTCTAAATTATC
CATTAGCACAGGCTGCCAGTGGTCCCTTGCATAAATGTATAGAGCACACAGGTGGGGGGAAAGGGAGAGAG
AAGAAGCCAGGGTATAAAAAGGGCCAGCAGAGACCAATTCCAGGATCCCAGGACCCAGTTCACCAGACG
ACTCAGGGTCTGTGTCAGAGCTACCAACTATGATGGCTGCAGGTAAGCTCACAAAAATCCCTCCATTA
GCGTGTCTAAGGGGGTGATGCGGGGAACTGCCGATGGATGTGTCCACAGCTTTGGGTTTTAGGGCTTC
TGAATGCGAACATAGGTATCTGCACCCAGACATTTGGCCAAGTTTGAATGTTCTCAGTCCCTGGAGGGA
AGGGCAGGGGGGGCTGGCAGGAGATCAGGCATCCAGCTCTCTGGGCCCTCCGTGCGGGCCCTCTGGT
CTCTCCCTAGGGCCCCGGACCTCCCTGCTCTGGCTTTCACCCCTGCTCTGCTGCCCCTGGACTCAGGTGG
TGGGCGCCTTCCCAGCCATGTCTTGTCCGGCCTGTTTGCCAACGCTGTGTCCGGGCTCAGCACCTGCA
TCAACTGGCTGTGACACCTTCAAAGAGTTTGTAAAGCTCCCCAGAGATGTGTCCTAGAGGTGGGGAGGCA
GGAAGGGGTGAATCCGCACCCCTCCACACAATGGGAGGGAAGTGAAGACCTCAGTGGTATTTTATCCAA
GTAAGGATGTGGTCAGGGGAGTAGAAATGGGGGTGTGTGGGGTGGGGAGGGTTCCGAATAAGGCATGAG
GGGAACCACACACCAGCTTAGACCCGGGTGGGTGTGTCTCCCCCAGGAGCGCACCTACATCCCGGAGG
GACAGAGATACTCCATCCAGAACCCAGGTTGCCCTCTGCTTCTCTGAAACCATCCCGGCCCCACGGG
CAAGAATGAGGCCCAGCAGAAATCAGTGAGTGGCCACCTAGGACCGAGGAGCAGGGGACCTCCTTCATCT
TAAGTAGGCTGCCCCAGCTCTCTGCACCGGCCTGGGGTGGCCTTCTCCCTGAGGTGGCAGAGGGTGTG
GATGGCAGTGGAGGATGATGGTTGGTGGTGGTGGCAGGAGTCCCGGGCAGAGGCCGACCTTGACGGGC
TGCCCCGAGCCCGGGCACCACCAACCACCATCTGCCAGCAGGACTTGGAGCTGCTTCGCATCTCACT
GCTCCTTATCCAGTCTGGCTTGGGCCCTGCAGTTCTCAGCAGAGTCTTCACCAACAGCCTGGTGTGTT
GGCACCTCGGACCGTGTCTATGAGAAGCTGAAGGACCTGGAGGAAGGCATCCTGGCCCTGATGCGGGTGA
GGATGGCGTTGTTAGGTCCCTTCCATGCTGGGGGCCATGCCACCCTCTCCTGGCTTAGCCAGGAGAACA
CACGTGGGCTGGGGGAGAGAGATCCCTGCTCTCTCTCTCTCTTCTAGCAGCCAGTCTTGACCCAGGAG
AAACCTCTTCCGTTTTGAACCTCCTTCTCGCCCTTCTCCAAGCCTATAGGGGAGGGTGGAAAAATGGA
GGGGCAGAGGGAGCGCTCCTGAGGGCCCTTCGGCTCTCTGTCTCTCCTCCCTTGGCAGGAGCTGG
AAGATGTTACCCCCCGGGCTGGGCAGATCCTCAAGCAGACCTATGACAAATTTGACACAAACATGCGCAG
TGACGACGCGCTGCTCAAGAACTACGGTCTGCTCTCTCTGCTTCCGGAAGGACCTGCACAAGACGGAACG
TACCTGAGGGTCATGAAGTGTGCGCGCTTCGGGGAAGCTGCGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTT
GTTACCCCTCCCCGTGCCCTTCTAGACCTGGAAGGTGCCACCTCCAGTGGCCACTGTCCTTTCTTAATA
AAGCGAGGAAATTGCATCAGATTGTCTGAGTAGGTGTATTCTATCTAGGGGGTGGGGTCAAGGAGGAT
AGCGAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGGATGCTGTGGGCTCTATGGGTACCCAGGTGCTGAATA
ATTGACCCGGTTCTTCTGGGCCAGAAAGGAGCAGGCACATCCCTTCTCTGTGACACACCCGGTCCCTCG
CCCCTGGTCTTAGTTCAGCCCCACTCATAGGACACTCATAGCTCAGGAGGGCTCTGCCTTCAGTCCCA
CCCCTAAAGTGCTTGGAGCGGTTTCTCCTTCCCTCATCAGCCACCAACCAACCTAGCCTCCAAGAG
TGGAAGA
```

Gambar 1. Sekuen nukleotida gen GH pada lokus masing-masing primer forward dan primer reverse dan tanda panah menunjukkan situs pemotong enzim HaeIII (GG-CC).

Amplifikasi gen GH

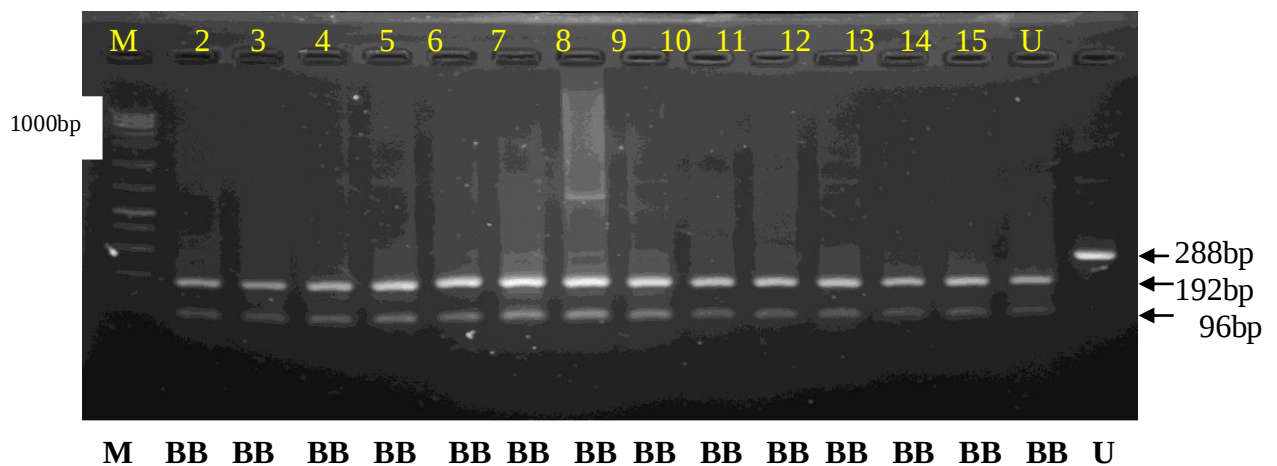
Amplifikasi gen GH pada domba Palu menggunakan pasangan primer spesifik menghasilkan fragmen DNA dengan panjang sekitar 288 pasang basa (pb). Hasil amplifikasi gen GH dalam penelitian ini ditampilkan dalam Gambar 2.



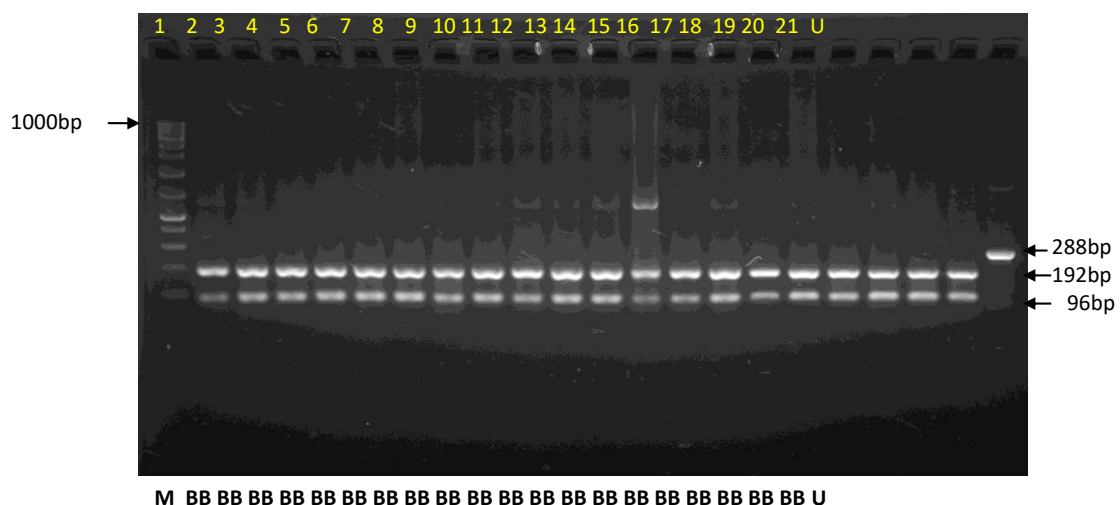
Gambar 2. Visualisasi hasil amplifikasi (PCR) gen GH pada sampel Domba Palu (M = DNA Ladder 1 kb; 2-21= nomor sampel).

Identifikasi Keragaman Gen GH

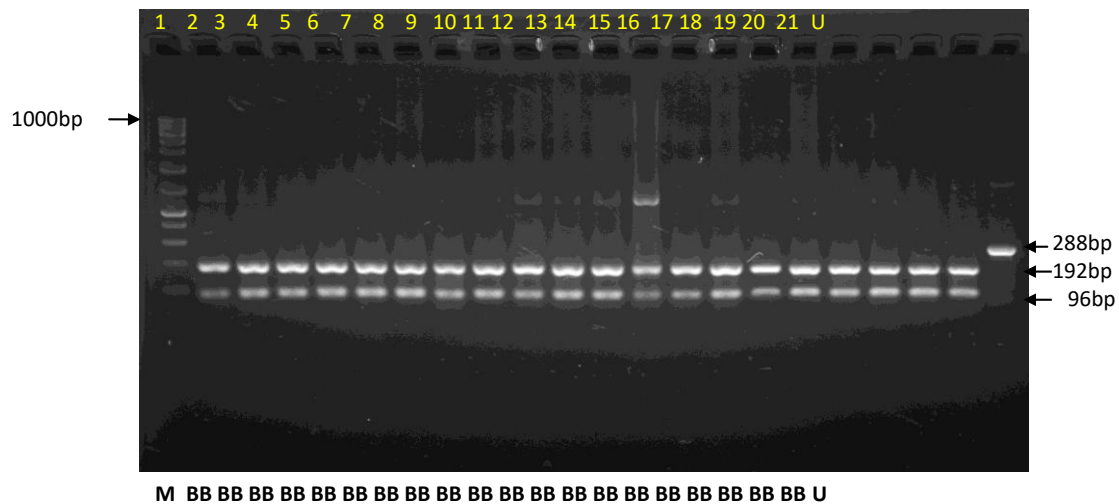
Identifikasi keragaman gen GH pada sampel domba Palu dilakukan dengan metode PCR-RFLP menggunakan enzim restriksi *HaeIII* (Biolabs Inc., New England) yang spesifik memotong urutan basa GG||CC. Semua sampel diberi perlakuan yang sama agar enzim *HaeIII* dapat bekerja (suhu dan waktu inkubasi mengikuti panduan produsen). Hasil pemotongan fragmen DNA gen GH beberapa domba Palu (Domba Kelurahan Taipa, Kelurahan Poboya, Kelurahan Kawatuna dan Kelurahan Petobo) ditampilkan dalam Gambar 3.



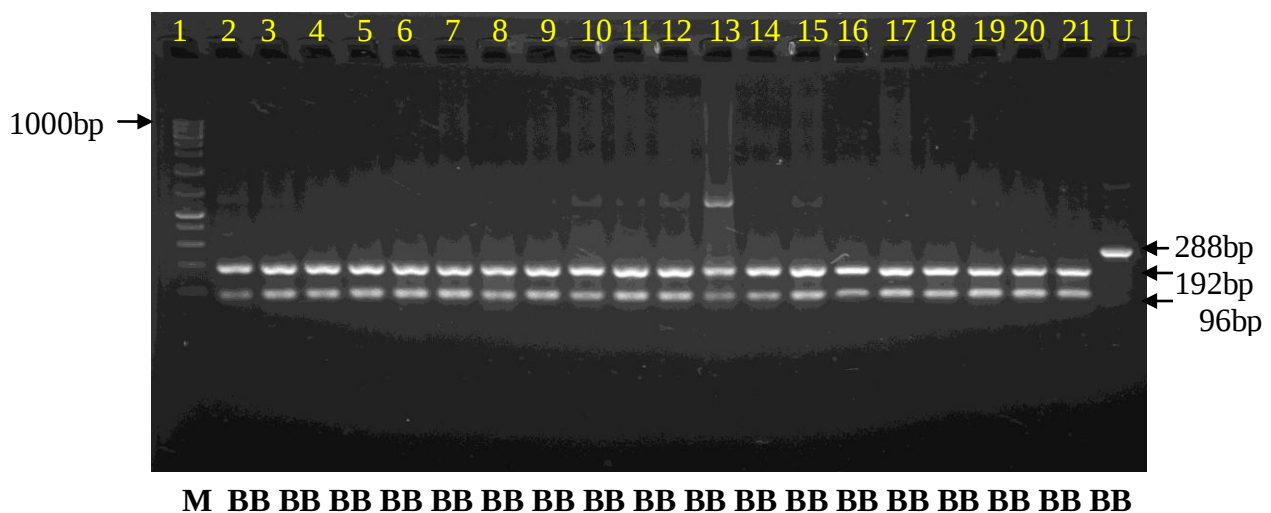
Gambar 3. Visualisasi hasil RFLP *HaeIII* gen GH pada sampel Domba Kelurahan Taipa. (M = DNA Ladder 1 kb; BB = Genotipe domba sampel ; U = Uncut (DNA hasil PCR yang tidak menggunakan enzim RFLP; bp = base pair)



Gambar 4. Visualisasi hasil RFLP *HaeIII* gen GH pada sampel Domba Kelurahan Poboya (M = DNA Ladder 1 kb; BB = Genotipe domba sampel; U = Uncut (DNA hasil PCR yang tidak menggunakan enzim RFLP; bp = base pair)



Gambar 5. Visualisasi hasil RFLP *HaeIII* gen GH pada sampel Domba Kelurahan Kawatuna (M = DNA Ladder 1 kb; BB = Genotipe domba sampel; U = Uncut (DNA hasil PCR yang tidak menggunakan enzim RFLP; bp = base pair)



Gambar 6. Visualisasi hasil RFLP *HaeIII* gen GH pada sampel Domba Kelurahan Petobo. (M = DNA Ladder 1 kb; BB = Genotipe domba sampel; U = Uncut (DNA hasil PCR yang tidak menggunakan enzim RFLP; bp = base pair)

Hasil pemotongan fragmen DNA gen GH pada sampel domba Palu dengan enzim restriksi HaeIII divisualisasikan menggunakan media agarose 3% memberikan informasi adanya 2 pola pemotongan yang sama pada semua sampel. Hal ini menunjukkan bahwa gen GH domba Palu penelitian bersifat monomorfik. Enzim restriksi HaeIII memotong produk PCR 288 bp menghasilkan 2 fragmen yaitu 192 dan 96 basa. Pola pemotongan enzim HaeIII yang sama menyebabkan persamaan ukuran dan jumlah potongan fragmen DNA gen GH. Ditemukan adanya satu genotipe, yaitu genotipe BB yang masing-masing sampel domba penelitian penelitian.

Pada penelitian ini, gen GH bersifat monomorfik pada Domba Palu dengan jumlah sampel 55 ekor. Sumantri *et al.*, (2007) melaporkan hal yang sama juga ditemukan pada Domba Ekor Gemuk Madura dengan jumlah sampel 17 ekor. Ada beberapa kemungkinan yang menyebabkan gen GH pada Domba Palu bersifat monomorfik. Kemungkinan pertama yaitu jumlah sampel yang digunakan kurang banyak, sebab pada penelitian sebelumnya (Malewa *dkk*, 2019) gen GH pada domba Palu bergenotip Polimorfik. Kedua, tidak terjadi introduksi gen asing ke dalam populasi domba Palu sejak introduksi Domba Merbas 1996. Adanya gen GH yang monomorfik menunjukkan inbreeding tinggi pada domba Palu.

Pada penelitian ini hanya ditemukan genotipe BB yang dapat diterjemahkan sebagai informasi bahwa gen GH pada domba Palu dari semua lokasi berada dalam kondisi seragam (monomorfik). Hasil identifikasi keragaman gen GH pada domba Palu dalam penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Jakaria dan Noor (2008) yang menemukan hanya ada satu alel (alel L) gen GH pada sapi Bali dengan metode PCR-RFLP menggunakan enzim AluI.

Menurut Marson *et al.* (2005), keragaman genetik populasi dapat diukur dengan menggunakan nilai heterozigositas dengan tujuan membantu program seleksi. Namun, dari keseluruhan sampel yang dianalisis menunjukkan monomorfik dengan kata lain tidak ada keragaman (homozigositas) disemua populasi karena alel B monomorfik. Hasil nilai homozigositas dalam penelitian ini seperti yang dijelaskan oleh Javanmard *et al.* (2005) bahwa jika nilai heterozigositas di bawah 0,5 maka variabilitas gen tertentu dalam populasi rendah. Homozigositas pada semua lokus dalam penelitian ini menunjukkan terjadinya perkawinan sedarah pada populasi domba Palu penelitian. Kenyataan ini kemungkinan disebabkan karena kondisi peternakan rakyat masih tradisional dan belum ada program pemuliaan terarah. Domba terbesar dan terbaik biasanya dijual atau disembelih sehingga seleksi negatif terjadi pada populasi domba Palu. Berkurangnya keragaman genetik domba Palu menyebabkan perubahan dalam proporsi genotipe dan hanya hewan yang memiliki genotipe tertentu yang tersedia untuk diwarisi ke keturunan berikutnya. Noor (2008) menyatakan bahwa kawin sedarah adalah bentuk isolasi genetik karena populasi yang terisolasi akan menyebabkan keterbatasan dalam pilihan kawin, dengan demikian alel homozigot akan diturunkan ke anak.

Keseragaman genetik pada suatu kelompok ternak yang diakibatkan telah terjadinya proses seleksi dan minimnya introduksi pejantan baru pada suatu populasi, misalnya pada domba Palu dalam penelitian ini. Perkawinan domba Palu belum dilakukan secara terarah sehingga kemungkinan inbreeding tinggi. Salah satu kelemahan peternak domba di lokasi penelitian, seperti umumnya dipeternak domba adalah belum adanya catatan (recording) ternak. Recording merupakan salah satu prasyarat untuk kegiatan pemuliaan yang berkelanjutan, dengan adanya recording peternak akan memiliki informasi mengenai ternaknya yang akan berguna untuk manajemen ternak maupun kegiatan pemuliaan. Mason dan Buvanendran (1982) mengemukakan bahwa pada kondisi pengetahuan petani masih rendah dan prasarana masih kurang, recording

sebaiknya dilakukan untuk sifat-sifat penting yang mudah diukur serta bernilai ekonomis, sistemnya harus sederhana, tidak banyak yang harus dicatat, berguna dalam manajemen ternak serta efisien dalam penggunaan waktu dan biaya.

PENUTUP

Hasil analisis Produk PCR-RFLP yang dihasilkan sepanjang 288 pb terdapat dua fragmen yang sama pada semua sampel Domba Palu yang bersifat monomorfik. Dengan demikian pola Fragmen DNA pada gen GH belum tepat untuk digunakan sebagai Marka Pembantu Seleksi (*Marker Assisted Selection*).

DAFTAR PUSTAKA

- Elsayed, Y.A., El-Halawany, N.K., Shawky, A.-E.-M.A., Al-Tohamy, A.F.M. and Abdel-Shafy, H. 2016. Capra Hircus Breed Baladi Growth Hormone (GH) Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KX032517.1>
- Budak H., F. Pedraza., P. B. Cregan, P. S. Baenziger, and I. Dweikat. 2003. Development and Utilization of SSRs to Estimate the Degree of Genetic Relationships in a Collection of Pearl Millet Germplasm. *Crop Science Society of America*. 43:2284–2290.
- Fatchiyah., E.L. Arumingtyas., S. Widyarti, and S. Rahayu. 2009. Dasar-dasar Analisa Biologi Molekuler. Lembaga Penerbitan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
- Javanmard A, Asadzadeh N, Banabazi MH, Tavakolian J. 2005. The allele and genotype frequencies of bovine pituitary-specific transcription factor and leptin genes in Iranian cattle and buffalo populations using PCRRFLP. *Iran J Biotechol*. 3(2):104-108.
- Malewa, A. 2013. Analisis Polimorfisme Gen Growth Hormon dan Hubungannya dengan Bobot Badan Domba Ekor Gemuk (Donggala dan UPT Garahan Jember). Laporan Akhir Hibah Doktor. Lemlit Universitas Tadulako.
- Malewa, A., L. Hakim, dan S Maylinda 2019. Polimorfisme Gen Gh Pada Domba Donggala. *J. AgriSains* 20, 1 (2019): 46-56. <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php>
- Marson, E. P., J. B. S. Ferraz, F. V. Meirelles, J. C. C. Balieiro, J.P. Eler, L. G. G. Figuerido, & G. B. Mourao. 2005. Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. *Genet. Mol. Res*. 4:496-505
- Mason, I. I. & V. Buvanendran. 1982. Breeding Plans for Ruminant Livestock in the Tropic. Rome: Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- Noor, R. R. 2008. Genetika Ternak. Penebar Swadaya, Jakarta
- Sumantri, C., R. Diyono, A. Farajallah dan I. Inounu. 2008. Polimorfisme gen *calpastatin* (*cast-msp1*) dan pengaruhnya terhadap bobot hidup domba lokal. *JITV*. 13 (2): 117-126.
- Sumatri, C., A. Einstiana, J.F. Salamea dan I. Inounu. 2017. Keragaan dan hubungan phylogenetik antar domba lokal di Indonesia melalui pendekatan analisis morfologi *JITV* Vol. 12 No. 1: 42-54
- Sambrook, J., E.F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning; a Laboratory Manual. CSH Laboratory Press. USA.