

POLIMORFISME GEN HORMON PERTUMBUHAN PADA SAPI PESISIR SUMATERA BARAT

Yurnalis, Sarbaini, Arnim, Jamsari



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS ANDALAS
2013**

POLIMORFISME GROWTH HORMONE GENE IN PESISIR CATTLE WEST SUMATERA

Yurnalis^{1,2}, Sarbaini¹, Arnim¹, Jamsari³
¹Fakultas Peternakan Universitas Andalas
³Fakultas Pertanian Universitas Andalas
²autor email yurnalisunand@yahoo.com

ABSTRACT

The objective of this study were (1) to identify polymorphism of growth hormone gene and to characterize nucleotide changes and its position in the DNA sequence from exon three to 3' flanking region in Pesisir cattle (2) to determine the association between the polymorphism of growth hormone gene and body weight in Pesisir cattle.

The body weight of Pesisir cattle showed a high variability. This finding study suggested the body weight can improves through selection. The sequenced data from four PCR product showed high variability in bGH gene of Pesisir cattle. Comparing with NCBI GenBank Acess M57464.1. From four fragmen 18 deletions, 15 insertions, and 21 mutations were identified.

Of the 18 bGH gene deletion in the Pesisir cattle 6 are specific to these cattle because it occurs at all samples and not yet found in other sequeunce in NCBI GenBank, that are deletion of A at position 1408, deletion of G at position 1410, deletion of T at position 1412 , deletion of C at position 1414/1415, deletion of A at position 1429, and the deletion of T at position 2432. Of the 18 deletions 10 of them are polymorphic and 8 others are monomorphic.

Of the 15 insertions in the bGH gene Pesisir cattle, 2 of which were specific to these cattle since it occurs at all samples and not yet found in other bGH sequence in the NCBI GenBank, that are G insertion at position 1549-1551, C insertion at position 1895. From 15 insertion 4 of which are polymorphic and 11 are monomorphic.

Of the 21 mutations in the bGH gene Pesisir cattle 3 of which were specific to Pesisir cattle since it occurs at all samples and not yet found in other bGH sequence in the NCBI GenBank. The mutation are T → G mutation at position 1947, C → G mutation at position 2639, C → A mutation at position 2813. Of the 21 mutations are 17 of them are polymorphic and the other 4 are monomorphic.

The results of the χ^2 analysis showed no relationship between bGH gene polymorphisms and two weight groups of Pesisir cattle.

Key words: Pesisir cattle, growth hormone gene, polymorphism, Snp

PENDAHULUAN

Sapi Pesisir merupakan sapi asli yang berkembang di daerah Pesisir Selatan Sumatera Barat dan telah beradaptasi dengan baik dengan kondisi daerah pesisir. Sapi Pesisir mempunyai potensi genetik yang baik karena mempunyai daya adaptasi tinggi, baik terhadap pakan yang berkualitas rendah, maupun terhadap perubahan suhu lingkungan sehingga Sapi Pesisir jarang sekali terserang penyakit.

Sapi Pesisir pada umumnya dipelihara secara bebas (berkeliaran) dan masih sangat sedikit perhatian peternak dalam pemeliharannya. Konsumen lebih menyukai Sapi Pesisir, karena struktur dagingnya yang halus dan rasanya gurih. Menurut Dinas Peternakan Kabupaten Pesisir Selatan pada tahun 2008 populasi sapi di Pesisir Selatan 84.000 ekor sebahagian besar adalah sapi lokal pesisir, dengan jumlah peternak 35.000 KK, dan

populasi terbanyak pada Kecamatan Lengayang (16.000 ekor) dan Bayang (14.000 ekor).

Sapi ini ukuran badannya relatif lebih kecil dibanding sapi-sapi jenis lainnya, seperti Peranakan Ongole, Sapi Bali, Sapi Madura, Sapi Aceh. Meskipun tergolong sapi kecil, Sapi Pesisir memiliki persentase karkas cukup tinggi. Menurut Khasrat (2006) Sapi Pesisir yang diberi 75% konsentrat ditambah 25% jerami amoniasi persentase karkasnya 53%. Persentase karkas ini lebih tinggi dari persentase karkas Sapi Ongole (48,8%), Sapi Madura (47,2%), Sapi PO (45%) dan kerbau (39,3%), namun sedikit lebih rendah dari persentase karkas Sapi Bali (56,9%).

Seleksi yang terjadi pada Sapi Pesisir adalah seleksi yang berjalan kearah yang negatif yaitu ada kecendrungan sapi yang dipertahankan oleh peternak adalah sapi yang bobot badannya lebih kecil, sedangkan sapi yang berbobot badan lebih besar dijual untuk mendapatkan harga yang lebih tinggi. Hal ini terjadi karena tingginya permintaan terhadap Sapi Pesisir terutama menjelang Hari Raya Idul Adha. Perbaikan genetik berpeluang untuk memacu peningkatan produktivitas dan kenaikan populasi ternak Sapi Pesisir. Namun demikian informasi mengenai Sapi Pesisir masih sangat terbatas, khususnya mengenai aspek biologis dan genetiknya.

Salah satu gen yang diduga memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan adalah gen hormon pertumbuhan (*bovine growth hormon gene* = bGH). Gen bGH pada sapi pedaging merupakan salah satu gen kandidat yang

berhubungan dengan bobot hidup (Reis *et al.*, 2001), penambahan bobot badan (Tambasco *et al.*, 2003) yang mengkode dan menghasilkan hormon pertumbuhan untuk mengatur pertumbuhan dan perkembangan sel ternak (Pierzchala *et al.*, 2004). Selain itu gen hormon pertumbuhan berperan sebagai pengatur utama pertumbuhan setelah lahir dan proses metabolisme yang dapat mempengaruhi laju pertumbuhan, komposisi tubuh, kesehatan, produksi susu dan penuaan melalui penyesuaian dengan gen-gen lain (Ge *et al.*, 2003).

Gen bGH diketahui memiliki keragaman yang tinggi. Ferraz *et al.* (2006) mendapatkan adanya variasi pada posisi 160, 161 dimana GT diganti dengan CTG, adanya delesi pada posisi 191 dan 193, dan pergantian T menjadi C pada posisi 247 dan 297 jika dibandingkan dengan sekuen bGH Gordon *et al.* (1983). Zang *et al.* (1992 dan 1993) menemukan tempat polimorfisme untuk enzim pemotong *MspI* terletak pada intron 3 dengan posisi 1547, sedangkan Lucy *et al.*, (1991) mendapatkan dua bentuk polimorfisme pada exon ke-5 dengan enzim pemotong *AluI* yaitu terdapatnya substitusi *cytosine* (C) menjadi *guanine* (G). Unanian *et al.*, (1994) juga menemukan adanya polimorfisme gen bGH dengan menggunakan enzim pemotong *HaellI* yang terletak pada exon ke-5 dan daerah pengapitnya. Selanjutnya Zakizadeh *et al.*, (2006) mendapatkan polimorfisme fragmen bGH pada intron 3 dan exon 5 dengan menggunakan enzim pemotong *MspI*, *AluI* dan *DdeI*. Tatsuda *et al.* (2008)

melaporkan adanya mutasi pada gen GH posisi 127 dan 172 exon 5..

Keterkaitan polimorfisme gen bGH dengan sifat-sifat produksi secara intensif telah dipelajari pada ternak sapi terutama polimorfisme pada intron 3 dan exon 5. Polimorfisme pada *locus* ini berhubungan dengan sifat produksi seperti persentase protein susu (Lagziel *et al.*, 1996; Vukasinovic *et al.*, 1999; Dybus *et al.*, 2002), berat karkas dan pelemakan rendah (Barendse *et al.*, 2006; Tatsuda *et al.*, 2008), pertumbuhan dan berat badan (Reis *et al.*, 2001), konsentrasi GH plasma (Schelee *et al.*, 1994). Polimorfisme pada exon 5 berhubungan dengan dua bentuk hormon dilaporkan oleh Lucy *et al.* (1991). Chrenek *et al.* (1998) melaporkan adanya hubungan antara polimorfisme bGH-*AluI* dengan sifat produksi daging pada sapi Slovak Simmental.

Apabila polimorfisme bGH menunjukkan keterkaitan dengan sifat-sifat produksi yang menguntungkan terutama sifat-sifat yang ekonomis, maka penciri tersebut dapat digunakan sebagai salah satu kriteria seleksi atau yang lebih populer dikenal dengan MAS (*Marker Assisted Selection*).

Penelitian pada Sapi Pesisir baru sebatas keragaman mikrosatelit (Sarbaini, 2006) dan keragaman GH-*AluI* dan GH-*MspI*, sedangkan keragaman sekuens lainnya pada Sapi Pesisir belum ada. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini mencoba menganalisis keragaman sekuens gen GH pada Sapi Pesisir pada daerah Intron 3 sampai daerah ujung dari Gen GH.

Penentuan keragaman genetik ini dapat dipakai sebagai informasi awal dalam rangka untuk melakukan seleksi genetik Sapi Pesisir.

BAHAN DAN METODA

Data penelitian ini berasal dari data penelitian lapangan dan penelitian laboratorium. Penelitian ini merupakan penelitian lapangan untuk mendapatkan 210 data bobot badan serta sampel darah Sapi Pesisir berumur 1,5 tahun yang dilaksanakan di Kabupaten Pesisir Selatan dari bulan Maret sampai Juni 2009. Dari 210 sampel sapi umur 1,5 diambil 30 ekor dengan berat tinggi dan 30 ekor berat badan rendah.

Penelitian Laboratorium

Penelitian di laboratorium dilakukan untuk menganalisis variasi sekuens fragmen-fragmen gen hormon pertumbuhan. Isolasi DNA dan amplifikasi fragmen bGH dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas dari bulan Juni 2009 to Agustus 2010 dan di Departemen Genetika Universitas Kassel Jerman dari bulan Oktober sampai Januari 2011. Sekuensing dilakukan SeqLab Laboratories Gottingen Jerman.

Isolasi DNA dan Amplifikasi Fragmen bGH

Isolasi DNA genomik dari darah sapi dilakukan dengan menggunakan protokol Genomic DNA Purification Kit dari Promega. Selanjutnya diamplifikasi menggunakan empat pasang primer yang diharapkan mampu mengamplifikasi gen hormon pertumbuhan. Primer tersebut disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Sekuen dan posisi oligonukleotida yang digunakan untuk PCR Gen GH pada Sapi Pesisir.

Fragmen	Primer	Sekuen Primer	Lokasi	Panjang (bp)
GH4	P1	5'-GGACAGAGATACTCCATCCAG-3'	1380/1724	345
	P2	5'-AGATGCGAAGCAGCTCCAAGT-3'		
GH5	P3	5'-TTGGAGCTGCTTCGCATCTCA-3'	1706/2071	366
	P4	5'-ATTTTCCACCCTCCCCTACAG3'		
GH6	P5	5'-TAGGGGAGGGTGGAAAATGGA-3'	2054/2457	404
	P6	5'-GACACCTACTCAGACAATGC-3'		
GH7	P7	5'-CACTCCCCTGTCCTTTCCTA-3'	2396/2850	455
	P8	5'-ACTTCCTCACATGTTGGAGGC-3'		

Sumber Yao *et al* (1996)

Prosedur amplikasi PCR menggunakan ready To Go PCR (RTG-PCR dari GE-Healthcare-UK) dengan komposisi sebagai berikut : 25 µl campuran reaksi yang terdiri dari

Gel Purifikasi dan Sekuensing

Karena fragmen hasil amplifikasi PCR tidak spesifik, maka gel yang berisikan fragmen target dipotong dengan menggunakan *scalpel* steril kemudian dilakukan purifikasi dengan Nucleo Spin Purifikasi Kit berdasarkan procedure yang disarankan produsen. Selanjutnya fragmen hasil purifikasi dikirim untuk sekuensing.

Analisis Data

Analisis statistik deskriptif untuk memperoleh karakterisasi bobot tubuh Sapi Pesisir dilakukan dengan menghitung rata-rata (\bar{x}), simpangan baku (s), dan koefisien keragaman (KK).

Untuk menguji apakah ada hubungan antara SNP dengan dengan berat badan dibuat tabel kontingensi antara keduanya kemudian diuji dengan uji χ^2 ;

$$\chi^2 = \sum \sum \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

4 µl masing-masing primer (pasangan primer), 2 µl DNA genom, dan 19 µl ddH₂O dimasukkan kedalam tabung RTG-PCR. Amplikasi dilakukan dengan temperature annealing 62°C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata Berat Badan.

Rataan berat badan, standar deviasi dan koefisien keragaman sapi umur 1,5 tahun pada kedua kelompok berat badan (rendah dan tinggi) dan gabungan kedua kelompok berat badan disajikan pada Tabel 2. berikut.

Dari Tabel 2 dapat dilihat rata-rata berat badan Sapi Pesisir sangat variatif sekali yang terlihat dari besarnya koefisien keragaman sampel (23,42%) sehingga sangat terbuka peluang untuk melakukan seleksi pada Sapi Pesisir terkait bobot badan. Rataan bobot badan ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Sarbaini (2004) yang memperoleh rata-rata bobot sapi anak 84.4 ± 16.0 kg dan bobot badan sapi muda 124.4 ± 23.6 kg, akan tetapi jauh lebih kecil dari penelitian Saladin (1983) melaporkan rata-rata bobot badan Sapi Pesisir jantan dewasa umur 1-2 tahun adalah 190.9 kg.

Tabel 2. Rata-rata bobot badan sapi pada kedua kelompok.

Kelompok Berat Badan	Rata-rata (\bar{x})	Standar deviasi (s)	Koefesien Keragaman (KK)
Kelompok rendah	63,46	6,69	10,54
Kelompok tinggi	131,50	13,00	9,89
Populasi	98,00	23,42	23,90

Bobot badan Sapi Pesisir umur 1,5 tahun ini lebih rendah dari bobot badan Sapi Aceh umur 1 tahun yaitu 123,34 kg (Abdullah, 2008) dan jauh lebih rendah dari bobot badan Sapi Bali umur 1 tahun yaitu 140,92 kg (Sukmasari, 2001) yang mengindikasikan bobot badan Sapi Pesisir lebih kecil dari Sapi Aceh dan jauh lebih kecil dari Sapi Bali.

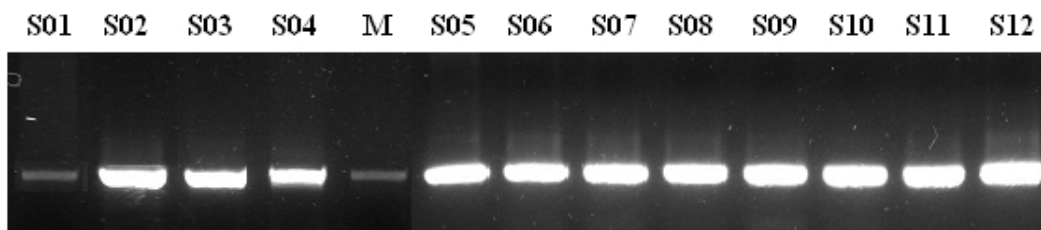
Isolasi DNA Total

Hasil isolasi DNA 60 sampel darah sapi menunjukkan kualitas dan kuantitas DNA yang cukup baik yang diperkirakan sekitar 50 – 400 ng/ul. Dari Gambar 2, 3, dan 4 terlihat hasil amplifikasi dengan pasangan primer GH4, GH5, dan GH7 tidak menghasilkan fragmen yang spesifik, pada semua sampel minimal ada 2 fragmen yang teramplifikasi.

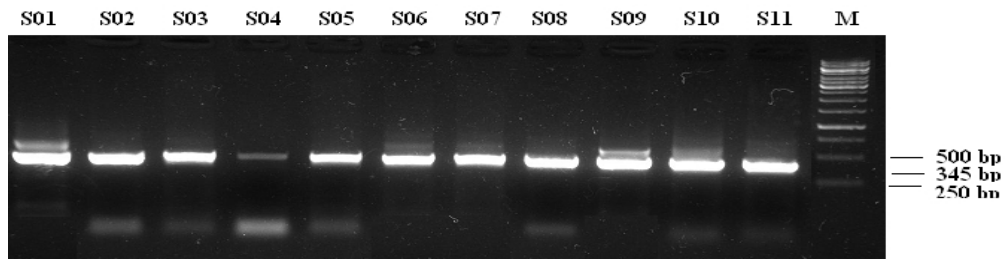
Untuk memurnikan fragmen maka gel yang diduga berisi fragmen yang diinginkan dipotong dengan *skalpel* steril dan di purifikasi dengan Nucleo Spin II Kit. Hasil purifikasi ini dikirim ke SeqLab Laboratories Gottingen Jerman untuk di sekuensing. Semua sampel yang dikirim berhasil disekuensing dengan kualitas yang cukup baik.

Keragaman Sekuen dan Frekuensi Alel.

Amplifikasi PCR menggunakan pasangan primer GH4L dan GH4R menghasilkan fragmen sepanjang 345 bp, yang meliputi daerah Exon 3 dan Intron 3. Dengan menggunakan sekuen Gordon *et al.* (1983) sebagai dasar analisis ditemukan adanya 6 delesi, 8 insersi, dan 4 mutasi sebagaimana disajikan pada Tabel 3.

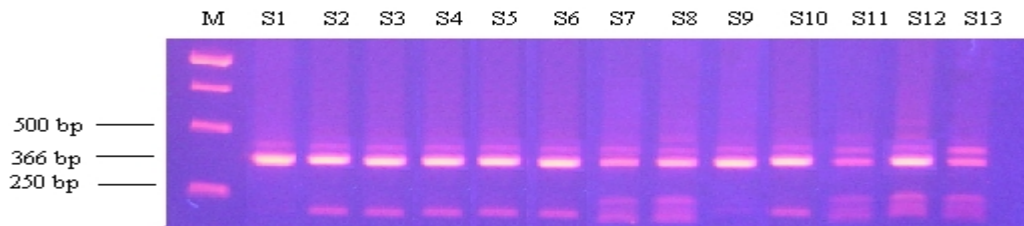


Keterangan : M = marker 25 ng/ul, S1-S12= sampel individu
Gambar 1. Elektroforesis DNA total hasil isolasi



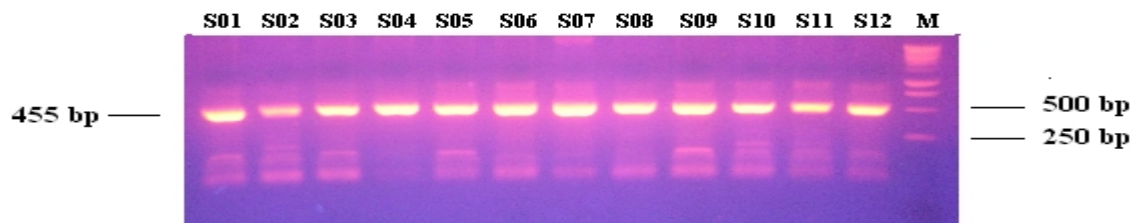
Keterangan : M = Marker , S1-S11 = sampel individu

Gambar 2. Elektroforesis 25 μ l produk PCR gen hormon pertumbuhan intron 3 exon 3 hasil amplifikasi menggunakan pasangan primer GH4L dan GH4R



Keterangan : M = Marker , S1-S13 = sampel individu

Gambar 3. Elektroforesis 25 μ l produk PCR gen hormon pertumbuhan daerah exon 4 dan sebahagian intron 4 menggunakan primer GH5L dan GH5R



Gambar 4. Elektroforesis 25 μ l hasil amplifikasi daerah ujung gen GH dengan pasangan primer GH7L dan GH7R

Tabel 3. Keragaman sekuen fragmen GH4

No.	N	Mutasi	Posisi	Fre.
1	17	Delesi A	1408	1.00
2	24	Delesi G	1410	1.00
3	24	Delesi T	1412	1.00
4	27	Delesi C	1414	1.00
5	28	Delesi T	1419	0.07
6	44	Delesi A	1429	1.00
7	57	Inseri A	1467	0.04
8	57	Inseri G	1481	0.04
9	56	GG \rightarrow AA	1482	0.30
10	57	Inseri C	1508	0.03
11	57	Inseri A	1521	0.03
12	57	G \rightarrow T	1524	0.03
13	57	Inseri A	1525	0.03
14	57	Inseri A/C	1539	0.03
15	57	Inseri T	1541	1.00
16	57	C \rightarrow T	1547	0.95
17	57	Inseri G	1548	1.00
18	55	C \rightarrow T	1578	0.11

Dari Tabel 3 dapat dikemukakan bahwa enam delesi A, G, T, C, T, dan A berturut-turut terjadi pada posisi 1408, 1410, 1412, 1414/1415, 1419, dan 1429 semuanya merupakan delesi baru yang belum ditemukan pada sekuen di *NCBI GenBank*. Lima delesi diantaranya yaitu delesi A, G, T, C, A terjadi pada semua sampel yang dianalisis, sedangkan delesi T pada posisi 1419 hanya terjadi pada 2 sampel dari 28 sampel yang bisa dianalisis. Delesi pada posisi 1408, 1410, 1412, dan 1414 akan merubah sekuen AGGTTGC menjadi GTGC yang belum pernah dilaporkan terjadi pada sekuen sapi lain, sehingga ada kemungkinan sekuen pada posisi ini bisa dijadikan sebagai marker untuk Sapi Pesisir. Terjadinya delesi pada daerah exon 3 tentu saja akan merubah struktur protein dari gen GH, perubahan struktur protein ini mungkin saja sebagai penyebab kecilnya tubuh Sapi Pesisir.

Dari Tabel 3. dapat dikemukakan terdapat adanya 4 mutasi baru yaitu mutasi GG → AA pada posisi 1482, transversi G → T pada posisi 1524, transisi C → T pada posisi 1547 dan 1578 yang belum pernah dilaporkan pada semua sekuen gen GH di *NCBI GenBank*. Dari Tabel 3. dapat pula dikemukakan terdapat 8 insersi pada posisi 1467, 1481, 1508, 1521, 1525, 1539, 1541, dan 1549-1551. Insersi T pada posisi 1541 juga terdapat pada sapi Hereford acces no. J00008.1 dan AC000176.1 sedangkan insersi G pada posisi 1549-1551 adalah spesifik pada Sapi Pesisir karena semua sampel mengalami insersi dan belum ada laporan

adanya insersi pada posisi ini pada sapi lainnya. Insersi pada posisi 1467, 1481, 1508, 1521, 1525, dan 1539 bersifat monomorfik karena frekuensi allelnya kurang atau sama dari 0,05 (Hartl and Clark, 1989) sehingga belum dapat digunakan sebagai marker genetik untuk mengidentifikasi hubungan antara mutasi pada posisi ini dengan sifat-sifat produksi yang bernilai ekonomis. Sedangkan delesi T pada posisi 1419, insersi G pada posisi 1481, mutasi GG → AA pada posisi 1482, transisi C → T pada posisi 1547 dan pada posisi 1578 semuanya bersifat polimorfik karena frekuensinya > 0,05. Dari analisis sekuen fragmen GH4 Sapi Pesisir tidak ditemukan adanya keragaman pada posisi 1438 – 1439, yang mengungkapkan pada 345 bp fragmen ini tidak adanya keragaman sisi pemotong enzim *MspI*. Hasil penelitian ini bertentangan dengan hasil penelitian Cowan *et al.* (1989) pada sapi FH dimana mereka mendapatkan adanya keragaman pada posisi 1438 – 1439, akan tetapi hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Yao *et al.* (1996) pada sapi *Bos taurus*. Keragaman pada posisi 1547, yang menimbulkan adanya sisi pemotong *MspI*, hasilnya berlawanan dengan frekuensi allele yang dilaporkan oleh beberapa peneliti pada *breed taurine* di Eropa Utara, negara-negara Mediterania, dan benua Amerika. Misalnya 0,26 pada sapi Holstein (Zhang *et al.*, 1993; Zhou *et al.*, 2005); 0,00 pada Hereford, 0,15 pada Jersey, 0,35 pada Limousine, 0,14 pada Angus; 0,13 pada Polish Black dan White (Dybus *et al.*,

2004); 0.05 pada Red Danish (Høj *et al.*, 1993); dan 0,50 pada breed asli Iran dan 0,45 pada Sapi Sarabi Iran (Zakizadeh *et al.*, 2006). Frekuensi allele *MspI* (-) pada penelitian ini sedikit lebih tinggi jika dibandingkan dengan frekuensi allele *MspI* (-) pada Sapi Sahiwal yaitu 0.86 (Mitra *et al.*, 1995); 0,82 pada Brazilian Nellore (Lagziel *et al.*, 2000). dan juga sedikit lebih tinggi dari penelitian Sodhi *et al.*, (2007) yang melaporkan frekuensi allele 0,83 pada sapi Zebu India (*Bos indicus*) dan 0,81 – 0,87 pada Zebu India (Pawar *et al.*, 2007); 0,82 – 0,85 pada Nellore Brazil (Unanian *et al.*, 2002).

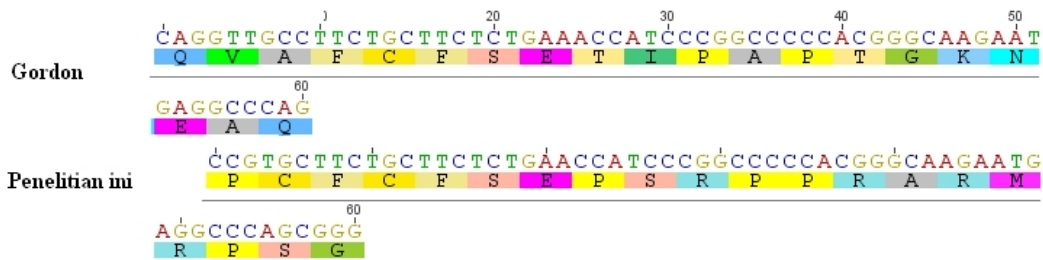
Berdasarkan frekuensi allele *MspI* (-) ini Sapi Pesisir lebih dekat hubungannya dengan Sapi Zebu India (*Bos Indicus*). Tingginya frekuensi allele GH-*MspI* (-) allele pada Sapi Pesisir menggugurkan sebagian hypothesis yang dikemukakan oleh Lagziel and Soller (1999) dan Lagziel *et al.*, (2000) yang menyatakan makin jauh suatu daerah dari India maka makin rendah frekuensi allele GH-*MspI* (-) nya. Turunnya nilai frekuensi allele GH-*MspI* (-) hanya berlaku kearah Barat dari India, sedangkan untuk kearah Timur seperti Indonesia hipotesis ini sepertinya tidak berlaku.

Jika sekuen pada daerah exon 3 ini ditransformasikan ke asam amino maka akan menghasilkan struktur asam amino yang berbeda dibandingkan dengan struktur asam amino sekuen Gordon *et al.* (1983) dan Woychick *et al.* (1982). Delesi pada posisi 1408, 1410, 1412, dan 1414 akan menghilangkan codon CAG dan merubah codon

GTT dan GCC menjadi CCG dan TGC, yang mengakibatkan hilangnya asam amino Gln dan berubahnya asam amino Val dan Ala menjadi Pro dan Cys. Sedangkan delesi A pada posisi 1429 akan merubah codon ACC, ATC, CCG, GCC, CCC, ACG, GGC, AAG, AAT, GAG, dan GCC berturut-turut menjadi codon CCA, TCC, CGG, CCC, CCA, CGG, GCA, AGA, ATG, AGG, CCC, dan AGC. Perbandingan asam amino dengan Gordon *et al.* (1983) dengan menggunakan *software Geneious Basic* 5.6.3. dapat dilihat pada Gambar 5.

Polimorfisme Daerah Exon 4 dan Sebagian Intron 4

Menggunakan sekuen Gordon *et al.* (1983) sebagai dasar analisis pada exon 4 dijumpai adanya 7 delesi dan 2 insersi sedangkan pada intron 4 dijumpai adanya 1 insersi dan 5 mutasi sebagaimana dapat dilihat pada (Tabel 4). Dari 7 delesi yang ditemukan, 5 delesi baru teridentifikasi dari sekuen fragmen ini pada Sapi Pesisir yaitu delesi C pada posisi 1743, delesi T pada posisi 1745, delesi G pada posisi 1747, delesi T pada posisi 1749, delesi G pada posisi 1753, dan delesi C pada posisi 1754. Lima mutasi baru juga terdeteksi pada fragmen ini yaitu transversi C → G pada posisi 1915, transisi G → A pada posisi 1930, transversi T → G pada posisi 1947, transisi T → C pada posisi 1980, dan transisi A → G pada posisi 2025. Kecuali insersi C pada posisi 1895 dan transversi T → G pada posisi 1947, keragaman lainnya bersifat polimorfik.



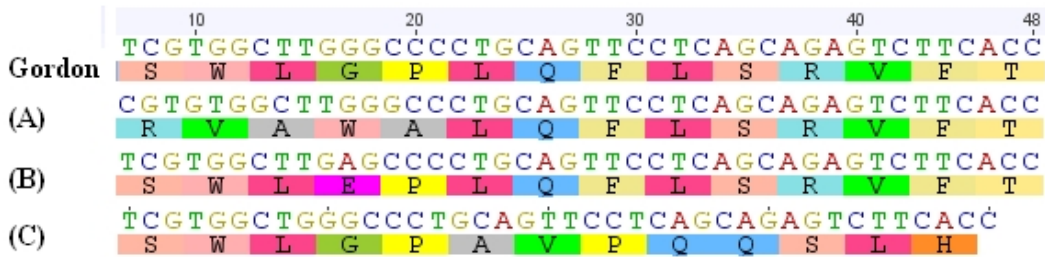
Gambar 5. Perbandingan urutan asam amino pada daerah exon 3 dengan Gordon *et al.* (1983)

Tabel 4. Polimorfisme gene GH fragmen 5

No	N	Mutasi	Posisi	Fre. Alele
1	2	Delesi A	1740	1,00
2	10	Delesi C	1743	0,20
3	11	Delesi T	1745	0,18
4	17	Delesi G	1747	0,125
5	21	Delesi T	1749	0,43
6	21	Delesi T	1750	0,14
7	29	Delesi G	1753	0,07
8	29	Inseri C	1754	0,31
9	46	Inseri C	1789	0,03
10	53	Inseri C	1895	1,00
11	49	C → G	1915	0,51
12	49	G → A	1930	0,51
13	43	T → G	1947	1,00
14	48	T → C	1980	0,40
15	53	A → G	2025	0,26

Delesi pada posisi 1740, 1743, dan 1753 (penotip A) akan merubah sekuen dari CAGTCGTGGCTTGGGCC menjadi CGTGTGGCTTGGGCC yang akan merubah codon CAG, TCG, TGG, CTT, GGG, CCC menjadi codon CGT, GTG, GCT, TGG, GCC sehingga merubah struktur asam amino dari Glisine, Serine, Tryptophan, Leusine, Glisine, Proline menjadi Arginin,

Valine, Valine, Tryptophan, Alanine. Delesi pada posisi 1745, 1749, dan 1754 (penotip B) akan merubah sekuen TCGTGGCTTGGGCCCTG menjadi TCGGGCTGGGCCCTG sehingga susunan codon berubah dari TCG, TGG, CTT, GGG, CCC, CTG menjadi TCG, GGC, TGG, GCC, CTG yang merubah susunan asam amino dari Serine, Tryptophan, Leusine, Glisine, Proline, dan Leusine menjadi Serine, Glisine, Tryptophan, Alanine, dan Leusine. Delesi pada posisi 1749 dan 1754 (penotip C) akan merubah sekuen TCGTGGCTTGGGCCCT menjadi TCGTGGCTGGGCCCT. yang merubah codon TCG, TGG, CTT, GGG, CCC, dan CTG menjadi TCG, TGG, CTG, GGC, CCT, dan seterusnya yang merubah urutan amino dari Serine, Tryptophan, Leusine, Glisine, Proline, dan Leusine menjadi Serine, Tryptophan, Leusine, Glisine, Proline dan Alanine. Perbandingan asam amino dengan Gordon *et al.* (1983) menggunakan *software Geneious Basic* 5.6.3 dapat dilihat pada Gambar 43.



Gambar 43. Perbandingan urutan asam amino pada daerah exon 4 pada ketiga penotip (A, B, dan C) dengan Gordon *et al.* (1983)

Polimorfisme Daerah Exon 5.

Amplifikasi menggunakan pasangan primer GH6L dan GH6R menghasilkan fragmen sepanjang 405 bp pada daerah Exon 5. Menggunakan sekuen Gordon *et al.*, (1983) sebagai dasar analisis pada fragmen GH5 dijumpai adanya 3 insersi, dan 2 mutasi (Tabel 4).

Tabel 4. Polymorfisme gene GH fragmen 6

No	N.	Mutasi	Posisi	Fre. Allel
1	57	C → T	2230	0,47
2	60	A → C	2291	0,72
3	56	Insersi C	2379	0,05
4	56	Insersi C	2386	0,05
5	56	Insersi G	2393	0,05

Dari hasil analisis ditemukan 3 insersi baru pada fragmen ini yaitu insersi C pada posisi 2379 dan 2386, dan insersi G pada posisi 2393. Sedangkan transversi A → C pada posisi 2291 telah pernah dilaporkan oleh Yao *et al.* (1986) yang bisa dideteksi oleh enzim restriksi *DdeI*. Transisi C → T pada posisi 2230 sama dengan titik mutasi yang ditemukan pada sapi Zebu di China (kode akses EU344985) dan sapi Sahiwal (kode akses EF451795) dan Sapi Aceh

(Sari, 2011). Semua polimorfisme pada exon 5 ini bersifat polimorfik karena frekuensi allelnya lebih besar dari 0,05. Karena ke 5 keragaman sekuen ini bersifat polimorfik, maka keragaman ini berpotensi untuk dijadikan marker genetik dan dapat diuji lebih lanjut untuk dapat dijadikan kandidat marker.

4.5.4. Polimorfisme Daerah Ujung Gen GH.

Amplifikasi PCR menggunakan pasangan primer GH7L dan GH7R menghasilkan fragmen sepanjang 455 bp. Menggunakan sekuen Gordon *et al.* (1983) sebagai dasar analisis pada daerah ujung dijumpai adanya 5 delesi baru (Tabel 4.5), yaitu delesi T pada posisi 2432, delesi G pada posisi 2433, delesi A pada posisi 2435, delesi T pada posisi 2731, dan delesi C pada posisi 2732 dengan. Juga ditemukan 10 substitusi baru yaitu transisi A → G pada posisi 2429, transisi T → C pada posisi 2436, transversi G → T pada posisi 2537 dan posisi 2567, transversi C → G pada posisi 2639, transisi T → C pada posisi 2647, transversi A → G pada posisi 2703, transversi C → T pada posisi 2710 dan 2732, dan transisi G → A pada posisi 2813. Juga ditemukan insersi T pada posisi 2459.

Tabel 5. Polymorfisme gene GH fragmen 7

N0	N	Mutasi	Posisi	Frekuensi Allele
1	12	A → G	2429	0,93
2	15	Delesi T	2432	1,00
3	20	Delesi G	2433	0,15
4	25	Delesi A	2435	0,20
5	29	T → C	2436	0,35
6	58	Insersi T	2459	0,02
7	45	G → T	2537	0,62
8	52	G → T	2567	0,96
9	52	C → G	2639	1,00
10	41	T → C	2647	0,63
11	49	A → G	2703	0,47
12	51	C → T	2710	0,65
13	50	Delesi T	2731	0,04
14	40	C → T	2732	0,92
15	40	Delesi C	2732	0,05
16	30	G → A	2813	1,00

Dari 16 polimorfisme pada daerah ujung gen GH pada Sapi Pesisir 11 diantaranya bersifat polimorfik dan yang lainnya bersifat monomorfik.

Dari semua polimorfisme yang polimorfik pada daerah exon 3 sampai daerah ujung gen GH setelah diuji dengan *Chi-Square* tidak ada satupun dari keragaman ini yang berhubungan dengan dua kelompok berat badan, hal ini disebabkan karena bobot badan tidak hanya dipengaruhi oleh gen GH, tapi dipengaruhi gen lainnya seperti GHR dan IGF1 (Ge *et al.*, 2003), disamping juga disebabkan sedikitnya sampel yang digunakan. dan juga disebabkan karena berat badan disamping dipengaruhi faktor genetik juga dipengaruhi oleh lingkungan. Walaupun demikian keragaman ini berpotensi untuk dijadikan marker genetik karena bersifat polimorfik dan dapat diuji lebih lanjut untuk dapat dijadikan kandidat marker.

Berdasarkan keragaman pada fragmen GH4 sampai dengan GH7 daerah-daerah conserved berada pada daerah 1791 – 1903, 1981 – 2153, 2156 - 2229, 2568 – 2646, 2648 – 2702, dan 2733 – 2850 karena pada daerah tersebut tidak ditemui adanya keragaman sekuen.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat dikemukakan kesimpulan sebagai berikut:

1. Sapi Pesisir mempunyai keragaman gen GH yang tinggi dimana dari 4 fragmen yang diteliti ditemukan 18 delesi, 15 insersi dan 21 mutasi dimana 16 delesi, 12 insersi dan 19 mutasi diantaranya merupakan mutasi baru yang belum ditemukan pada gen GH yang ada di NCBI gen Bank.
2. Dari 18 delesi, 15 insersi dan 21 mutasi terdapat 10 delesi, 4 insersi, dan 17 mutasi bersifat polimorfik sehingga berpotensi untuk dijadikan marker genetik dan dapat diuji lebih lanjut untuk dapat dijadikan kandidat marker.
3. Dari 18 delesi, 15 insersi dan 21 mutasi pada gen GH Sapi Pesisir ada 6 delesi, 3 insersi dan 3 mutasi yang spesifik pada Sapi Pesisir karena terjadi pada semua sampel dan belum ditemukan pada sapi lainnya sehingga dapat digunakan sebagai marker Sapi Pesisir.
4. Berdasarkan hasil uji *Chi-square* tidak ditemukan adanya hubungan antara delesi, dan mutasi yang polimorfik dengan dua kelompok berat Sapi Pesisir.

5. Dibandingkan dengan sekuen yang ada di NCBI gen bank diperoleh kesamaan dengan sekuen Sapi Pesisir antara 96 – 99 %.
6. Sapi Pesisir mempunyai keragaman berat badan dan ukuran-ukuran tubuh yang sangat tinggi sehingga berpeluang untuk diperbaiki melalui seleksi
7. Delesi pada gen GH Sapi Pesisir menyebabkan struktur asam amino gen GH Sapi Pesisir berbeda dibandingkan dengan struktur asam amino sapi yang ada di NCBI gen Bank.

Saran

1. Dengan keragaman berat badan dan ukuran-ukuran tubuh yang cukup tinggi Sapi Pesisir sangat mungkin ditingkatkan mutu

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M.A.N. 2008. Karakterisasi Genetik Sapi Aceh Menggunakan Analisis Keragaman Fenotipik, Daerah *d-loop* DNA Mitokondria dan DNA Mikrosatelit. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
- Barendse, W., R.J. Bunch, B.E. Harrison and M.B. Thomas. 2006. The growth hormone 1 GH1:c.457C>G mutation is associated with intramuscular and rump fat distribution in a large sampel of Australian feedlot cattle. *Animal Genetics*. 37: 211-214.
- Chrenek, P., J. Kmef, I. Sakowski, D. Va_icek, J. Huba and J. Chrenek. 1998. Relationships of growth hormon genotypes with meat production traits of Slovak Pied bulls. *Czech J. Anim. Sci.* 43: 541-544.
- Cowan, C.M., M.R. Dentine, R.L. Ax and L.A Schuler. 1989. Restriction fragment length polymorphism associated with growth hormon and prolactin gene in Holstein

genetiknya sehingga dihasilkan Sapi Pesisir yang lebih efisien dibandingkan dengan yang ada saat ini.

2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan yang mengarah pada hubungan keragaman gen GH yang polimorfik dengan performance Sapi Pesisir. Disamping itu, perlu pula dilakukan penelitian eksplorasi terhadap gen fungsional lainnya (GHR, IGF1, IGF2, dll) dan kaitannya dengan performanse Sapi Pesisir.

bull. evidence for a novel growth hormon allele. *Anim Gent*. 20:157.

- Dinas Peternakan Pesisir Selatan. 2008. 2010 Pessel Swasembada Sapi. *Harian Singgalang Selasa*, 22 Juli 2008
- Dybus A 2002a. Association of Growth Hormon and Prolactin genes polymorphisms with milk production traits in Polish Black and White Cattle. *Anim. Sci.* 20:203-212.
- Dybus A 2002b. Associations between Leu/Val polymorphism of growth hormon gene and milk production traits in Black and White cattle. *Arch. Tierz. Dummerstorf*. 45:421-428
- Dybus, A., G. Wilhelm, S. Iwona and B. Piotr. 2004. Association between the growth hormon combined genotypes and dairy traits in Polish Black-and-White cows. *Animal Science Papers and Reports* 22:185-194
- Dybus, A., M. Kmiec, Z. Sobek and B. Wisniewski. 2002. Association between polymorphism of the growht hormon gene and production traits of Limousin

- cattle. *Animal Science Papers and Report* 20:203-212.
- Ferraz, A. L. J., J.C. Bortolossi, R.A. Curi, M.I.T. Ferro, J.A. Ferro and L.R. Furlan. 2006. Identification and characterization of polymorphisms within the 5' flanking region, first exon and part of first intron of bovine GH gen. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 123 :208-212.
- Ge, W., M.E. Davis, H.C. Hines, K.M. Irvin and R.C.M. Simmen. 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
- Gordon, D.F., D.P. Quick, C.R. Erwin, J.E. Donelson and R.A. Maurer. 1983. Nucleotide sequence of the bovine growth hormone chromosomal gene. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 33:81-95.
- Hartl D.L. and A.G. Clarck. 1989. *Principles of Population Genetics*. 2nd Ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.
- Hoj, S., M. Fredholm, N.J. Larsen and V.H. Nielsen. 1993. Growth hormone gene polymorphism associated with selection for milk fat production in lines of cattle. *Anim. Genet.* 24:91–95.
- Jakaria. 2008. Keragaman Genetik Gen Homon Pertumbuhan Pada Sapi Pesisir Sumatera Barat. Disertasi Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Khasrat. 2006. Pertumbuhan Karakteristik Karkas dan Kualitas Daging Sapi Pesisir Yang Diperlihara Secara Intensif Pada Periode Waktu Yang Berbeda. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Andalas
- Lagziel, A., S. DeNise, O. Hanotte, S. Dhara, V. Glazko, A. Broadhead, R. Davoli, V. Russo, and M. Soller. 2000. Geographic and breed distribution of an *MspI* PCR-RFLP in the bovine growth hormone (bGH) gene. *Anim. Genet.* 31:210-213
- Lagziel, A., E. Lipkin and M. Soller. 1996. Association between SSCP haplotypes at the bovine growth hormone gene and milk production traits. *Genetics*. 142: 945-951.
- Lucy, M. C., S. D. Hauser, P. J. Eppard, G. G. Krivi and R. J. Collier. 1991. Genetic polymorphism within the bovine somatotropin (bST) gene detected by polymerase chain reaction and endonuclease digestion. *J. Dairy Sci.* 74(Suppl. 1):284.
- Lucy, M.C., S.D. Hauser, P.J. Eppard, G.G. Krivi, J.H. Clark, D.E. Bauman and R.J. Collier. 1993. Variants of somatotropin allele in cattle: Gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. *Dom. Anim. Endocrinol.* 10:325-333.
- Mitra A, P. Sciile, CR Balakrisiinan, F. Pirciiner. 1995. Polymorphisms at growth hormone and proclatin loci in Indian cattle and buffalo. *J. Anim. Breed. Genet.* 112:71-74
- Pawar R.S., K.R. Tajane, C.G. Joshi, D.N. Rank, B.P. Bramkshtri. 2007. Growth hormone gene polymorphism and its association with lactation yield in dairy cattle. *Indian J. Anim. Sci.* 77: 884-888.
- Pierzchala, M., T. Blicharski and J. Kuryl. 2004. Growth rate and carcass quality in relation to *GHIMspl* and *GHIHaell* PCR-RFLP polymorphism in pig *Animal Science Papers and Report* 22:57-64.
- Reis, C., D. Navas., N. Pereira., and A. Cravador. 2001. Growth hormone Alul polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds *Arch. Zootec.* 50:41-48.
- Saladin, R. 1983. Penampilan Sifat-sifat Produksi dan Reproduksi Sapi Lokal Pesisir Selatan di Propinsi Sumatera Barat. Disertasi. Fakultas Pascasarjana IPB. Bogor.
- Sarbaini. 2004. Kajian Keragaman Karakteristik Eksternal dan DNA Mikrosatelit Sapi Pesisir Sumatera Barat. Disertasi Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.

- Sari, E.M. 2011. Keragaman Genetik Gen Hormon Pertumbuhan (Gh) Dan Hubungannya Dengan Kualitas Karkas Pada Sapi Aceh. Disertasi. Sekolah Pascasarjana IPB Bogor.
- Sodhi, M., M. Mukesh, B. Prakash, B. Mishra, R. Sobti, K. Singh, S. Singh and S. Ahlawat. 2007. *MspI* Allelic Pattern of Bovine Growth Hormon Gene in Indian Zebu Cattle (*Bos indicus*) Breeds. *Biochemical Genetics*. 45:145-153
- Soller, M., and J. S. Beckmann. 1983. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theor. Appl. Genet.* 76:25-33
- Tambasco, D.D., C.C.P. Paz., M.T. Stuart, A.P. Pereira, M.M. Alencar, A.R. Freitas, L.L. Coutinho, I.U. Packer and L.C.A. Regitano. 2003. Candidate genes for growth traits in beef cattle crosses *Bos taurus* x *Bos indicus*. Abstract. *J. An. Breeding and Genetics*. 120:51
- Tatsuda, K., A. Oka, E. Iwamoto, Y. Kuroda, H. Takeshita, H. Kataoka and S. Kouno. 2008. Relationship of the bovine growth hormon Gene to Carcass Traits in Japanese Black Cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 125:45-49
- Unanian, M.M., C.C. Baretto, C.M.T. Cordeiro, A.R. Freitas and L.A. Josahkian. 2002. Possible association between bovine growth hormone gene polymorphism and reproductive traits. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 45:293-299
- Unanian, M.M., C.C. Barreto, A.R. de Freitas, C.M.T. Cordeiro and L.A. Josahkian. 2000. Association between growth hormon gene polymorphism and weight traits in Nellore Novines. *Rev Bras. Zootec.* 29:1380-1386.
- Unanian, M.M., S.K. DeNise, H.M. Zhang. R.L. Ax. 1994. Rapid communication polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism in the bovine growth hormon gene. *J. Anim. Sci.* 72:2203
- Woychik, R.P., S.A. Camper, R.H. Lyons, S. Ho-rowitz, E.C. Goodwin and F.M. Rottman. 1982. Cloning and nucleotide sequence of the bovine growth hormon gene. *Nucleic Acids Res.* 10:7197-7210.
- Yao, J., S. E. Aggrey, D. Zadworny, J. F. Hayes and U. Kuhnlein. 1996. Sequence variations in the bovine growth hormon gene characterized by single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis and their association with milk production traits in Holsteins. *Genetics*. 144:1809-1816.
- Zakizadeh, S., S.G. Rahimi, S.R. Mirae-Ashtiani, A. Nejati-Javeremi, M. Moradi-Shahrbabak, P. Reinecke, M. Reissmann, A.A. Masoudi, C. Amiriana and S.A. Mirhadi. 2006. Analisis of bovine growth hormon gene polymorphism in three Iranian Native Breed and Holstein cattle by RFLP-PCR. *Biotechnology*. 5:385-390.
- Zhang, H.M., D.R. Brown, S.K. Denise and R.L. Ax. 1992. Nucleotide sequence determination of a bovine somatotropin allele. *Anim. Genet.* 23:578.
- Zhang, H.M., D.R. Brown, S.K. Denise and R.L. Ax. 1993. Rapid communication: polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of the bovine somatotropin gene. *J. Anim. Genet.* 71:2276.
- Zhou, G.L., H.G. Liu, C. Liu, S.L. Guo, Q. Zhu, Y.H. Wu 2005. Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows. *J Biosci.* 30::595-598.