



**LAPORAN TAHUN TERAKHIR
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PDUPT)**

KKC
KK
LP 29/19
Mar
P



**PROTEIN SIGNAL TRANSDUCERS AND ACTIVATORS TRANSCRIPTION (STAT)
SEBAGAI PEMACU PERTUMBUHAN**

Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun

Prof. Dr. Anwar Ma'ruf, M.Kes., drh – NIDN : 0009056502

Ratna Damayanti, M.Kes., Drh - NIDN : 0026096603

Sundari Indah Wiyasihati, M.Si., dr - NIDN :0028058403

DIBIYAI OLEH :
DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR : 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
NOVEMBER 2018**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Protein Signal Transducers and Activators Transcription (STAT) sebagai Pemacu Pertumbuhan

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. drh. ANWAR MA RUF, M.Kes
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
NIDN : 0009056502
Jabatan Fungsional : Guru Besar
Program Studi : Kedokteran Hewan
Nomor HP : 08165446186
Alamat surel (e-mail) : anwarmaruf@fkh.unair.ac.id dan anwarunair@gmail.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : RATNA DAMAYANTI M.Kes
NIDN : 0026096603
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Anggota (2)

Nama Lengkap : dr. SUNDARI INDAH WIYASIHATI S.Ked, M.Si
NIDN : 0028058403
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 98,000,000
Biaya Keseluruhan : Rp 92,032,000



Mengetahui,
Direktur Sekolah Pascasarjana

(Prof. Dr. Hj. Sji Iswati, SE, M.Si, Ak)
NIP/NIK 196311211991032001

Kota Surabaya, 13 - 11 - 2018
Ketua,

(Dr. drh. ANWAR MA RUF, M.Kes)
NIP/NIK 196509051993031004

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi



(Prof. H. Hery Purnobasuki, M.Si, Ph.D)
NIP/NIK 196705071991021001

RINGKASAN

Peningkatan pertumbuhan dalam dunia peternakan mempunyai implikasi dan daya tarik yang besar bagi dunia perunggasan. Tetapi protein *signaling* STAT dan pola ekspresinya pada ayam pedaging selama masa pertumbuhan sampai saat ini belum diketahui secara jelas. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efisiensi protein STAT-1 dan STAT-3 yang ada pada jaringan hepar sebagai dasar untuk membuat protein STAT sintetis sebagai pemacu pertumbuhan ayam pedaging yang aman bagi manusia dan hewan.

Growth hormone mempunyai arti penting dalam mengatur pertumbuhan dan metabolisme tubuh. Efek metabolik GH terjadi bila reseptor GH berasosiasi dengan dan mengaktifkan tirosin kinase. Terikatnya GH dengan reseptornya dapat mengaktifkan *Janus Kinase 2* (JAK 2) dan selanjutnya memfosforilasi tirosin dalam kompleks GH-reseptor-JAK 2. Tirosin ini kemudian membentuk tempat ikatan untuk sejumlah protein *signaling*, seperti *signal transducers and activators of transcription* (STAT) untuk menimbulkan efek pertumbuhan. Peningkatan pertumbuhan ini mempunyai implikasi dan daya tarik yang besar bagi dunia perunggasan. Tetapi protein *signaling* STAT dan pola ekspresinya pada ayam pedaging selama masa pertumbuhan sampai saat ini belum diketahui secara jelas. Jadi dengan diketahuinya berat molekul dan susunan asam amino protein *signaling* STAT ayam pedaging pada masa pertumbuhan akibat meningkatnya GH dapat digunakan untuk membuat protein STAT sintetis untuk memacu pertumbuhan unggas

Penelitian ini menggunakan ayam pedaging *Lohman* (MB 202 P) dari PT. Multibreeder Indonesia Tbk berjenis kelamin jantan sebanyak 25 ekor. Ayam di tempatkan dalam kandang baterai dengan kapasitas satu ekor satu kandang dengan mendapat pakan dua kali sehari yaitu pukul 06.00 WIB dan 18.00 WIB dengan jumlah 10 % lebih kecil dari standar. Pada umur 21 hari ayam dipotong untuk diambil sampelnya berupa jaringan hepar sebanyak 5 g untuk dilakukan pemeriksaan susunan asam amino protein STAT 1, STAT 3 dengan metode MALDI-TOP di Proteomic International Australia sebagai bahan untuk memproduksi protein STAT sintetis. Dengan telah dibentuknya protein STAT sintetis dilakukan percobaan pada hewan coba.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa berat molekul protein STAT 1 pada ayam pedaging adalah 59,3 kDa, protein STAT 3 adalah 59,4 kDa dan susunan asam amino protein STAT 1 adalah *Isnqmevggv qntmtgmldk qkeldakvka vknsvtdveq diktledvqd eydfkhkftq*, dan

protein **STAT-3** adalah taaqqggqat hptaavvtek qqmleqhlqd vrkrvqdleq kmkvvenlqd ddfnfykttk.

Dengan diketahuinya susunan asam amino protein STAT-1 dan STAT-3 maka dapat digunakan sebagai dasar untuk membuat protein sintesis STAT-1 dan STAT-3. Pembuatan protein sintesis STAT-1 dan STAT-3 dilakukan di PT. Genetika Science Indonesia. Protein sintesis STAT-1 dan STAT-3 kemudian nantinya diharapkan dapat digunakan untuk memperpanjang kerja atau efek dari *growth hormone*. Peningkatan efek *growth hormone* akan memacu pertumbuhan ternak.

Protein sintesis STAT kemudian dapat dicobakan sebagai substitusi pakan pada hewan coba untuk melihat kemampuannya dalam memperpanjang kerja dari *growth hormone*. Apabila hal ini terbukti maka kedepan dapat digunakan sebagai bahan pemacu pertumbuhan ternak secara alami.

Kata Kunci : Sintesis STAT-1, sintesis STAT-3, pemacu pertumbuhan dan ayam pedaging

Luaran Wajib : Proceeding terindeks Scopus

Jurnal yang dituju : PJVM (Phillippine Journal of Veterinary Medicine)

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan penelitian ini. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga melalui Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Airlangga yang telah mengizinkan dan membiayai penelitian ini melalui sumber dana DIPA Universitas Airlangga sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2018
2. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah mengizinkan penulis untuk melaksanakan penelitian.
3. Kepala Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
4. Semua pihak yang telah membantu kelancaran pelaksanaan penelitian.

Akhirnya penulis sangat mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan laporan penelitian ini, semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, 10 September 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN.....	iii
PRAKATA.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Growth Hormone.....	3
2.2 Reseptor Growth Hormone	5
2.3 Efek Metabolik Growth Hormone	6
2.4 Aktivasi Protein STAT oleh Growth Hormone.....	6
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	11
3.1 Tujuan Penelitian.....	11
3.1.1 Tujuan umum.....	11
3.1.2 Tujuan khusus.....	12
3.2 Manfaat Penelitian.....	12
BAB 4. METODE PENELITIAN	12
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	12
4.2 Rancangan Riset.....	12
4.3 Sampel dan Besar Sampel.....	12
4.4 Prosedur Penelitian.....	12
4.5 Ekstraksi Protein Sampel.....	13
4.6 SDS-PAGE Protein STAT	13
4.6.1 Persiapan gel	13
4.6.2 Injeksi sampel protein.....	13
4.7 Western Blot STAT 1 dan STAT 3.....	14
4.8 Identifikasi Asam Amino Protein STAT-1 dan STAT-3.....	15
4.9 Pembuatan Protein Sintetis STAT-1 dan STAT-3.....	15
4.10 Analisis Data.....	15
BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI.....	16
5.1 SDS Page Protein STAT 1 dan STAT 3.....	16
5.2 Western Blot Protein STAT 1.....	19
5.3 Western Blot Protein STAT 3.....	21
5.4 Hasil MALDI TOP Asam Amino Protein STAT-1 dan STAT-3.....	25
5.5 Pembuatan Protein Sintetis STAT-1 dan STAT-3.....	26
BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA.....	27
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	28
6.1 Kesimpulan.....	28
6.2 Saran.....	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.1. Perhitungan Berat Molekul hasil SDS PAGE protein STAT pada jaringan hepar ayam pedaging.....	18
5.2. Perhitungan Berat Molekul hasil <i>Western Blot</i> protein STAT-1 pada jaringan hepar ayam pedaging	20
5.3. Perhitungan Berat Molekul hasil <i>Western Blot</i> protein STAT-3 pada jaringan hepar ayam pedaging.....	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur protein STAT.....	7
2.2 Protein STAT dan faktor yang menginduksi terjadinya fosforilasi.....	8
2.3 Growth hormone receptor (GHR) signaling melalui protein STAT.....	9
5.1 SDS-PAGE protein STAT dari jaringan hepar ayam pedaging	16
5.2 <i>Western blot</i> protein STAT-1 dari jaringan hepar ayam pedaging ...	19
5.3 <i>Western blot</i> protein STAT-3 dari jaringan hepar ayam pedaging..	21



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sekresi *growth hormone* dibawah control neural dari *hypothalamus* melalui sedikitnya dua dan mungkin tiga faktor *hypophysiotropic* yaitu GHRH (*growth hormone releasing hormone*), somatostatin, dan ghrelin (Becker,2001).

Growth hormone disekresi dalam suatu pola pulsatil, meningkat dan menurun. Mekanisme yang mengatur sekresi *growth hormone* secara tepat belum sepenuhnya dipahami , namun beberapa faktor yang berkaitan dengan nutrisi dan stress dapat merangsang sekresinya, yaitu (1) kelaparan, terutama pada difisiensi protein berat, (2) hipoglikemia atau juga rendahnya konsentrasi asam lemak dalam darah, (3) latihan atau olah raga (4) ketegangan dan (5) trauma. *Growth hormone* juga secara khas meningkat pada 2 jam pertama tidur lelap. Sebaliknya pada keadaan dimana terjadi peningkatan glukosa darah , peningkatan asam lemak bebas , hormon somatostatin merupakan faktor yang menghambat sekresi produksi *growth hormone*.

Growth hormone mempunyai arti penting dalam mengatur pertumbuhan dan metabolisme tubuh. Efek metabolik GH terjadi bila reseptor GH berasosiasi dengan dan mengaktifkan tirosin kinase. Terikatnya GH dengan reseptornya dapat mengaktifkan *Janus Kinase 2* (JAK 2) dan selanjutnya memfosforilasi tirosin dalam kompleks GH-reseptor-JAK 2. Tirosin ini kemudian membentuk tempat ikatan untuk sejumlah protein *signaling*, seperti *signal transducers and activators of transcription* (STAT) untuk menimbulkan efek pertumbuhan. Protein STAT yang berperan dalam memerikan signaling pertumbuhan adalah STAT-1, STAT-3, STAT-5a dan STAT-5b. Protein STAT sangat berperan dalam mengatur efek metabolik maupun pertumbuhan.

Peningkatan pertumbuhan dalam dunia peternakan mempunyai implikasi dan daya tarik yang besar bagi dunia perunggasan. Tetapi protein *signaling* STAT dan pola ekspresinya pada ayam pedaging selama masa pertumbuhan sampai saat ini belum diketahui secara jelas. Jadi dengan diketahuinya berat molekul dan susunan asam amino protein *signaling* STAT ayam pedaging pada masa pertumbuhan akibat meningkatnya GH dapat digunakan untuk membuat protein STAT sintetis untuk memacu pertumbuhan ayam pedaging. Sampai saat ini baru diketahui bahwa berat molekul protein STAT-1 pada ayam pedaging adalah 59,3 kDa (Anwar dkk., 2006), protein STAT-3 adalah 59,4 kDa (Anwar dkk., 2008), protein STAT-5a adalah 91 kDa, protein STAT-5b adalah 90 kDa (Anwar dkk., 2012). Susunan asam amino protein STAT-5a yaitu **ciggppkvmnmeesn** atau cysteine, isoleucine, glycine, glycine, proline, proline, lysine, valine, methionine, asparagine, methionine, glutamate, glutamate, serine, asparagines dan STAT-5b yaitu **datnilspvylypdip** atau aspartate, alanine, threonine, asparagine, isoleucine, leucine, valine, serine, proline, valine, tyrosine, leucine, tyrosine, proline, aspartate, isoleucine, proline. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membuat protein sintetis STAT-1 dan STAT-3 untuk selanjutnya dilakukan penelitian pada hewan coba sebagai substitusi pakan sebagai pemacu pertumbuhan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut diatas maka rumusan masalah yang diajukan adalah protein STAT-1 dan STAT-3 dapat dibuat protein STAT sintetis sebagai pemacu pertumbuhan pada ayam pedaging ?

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Growth Hormone* (GH)

Hormon pertumbuhan (*somatotropin, somatotropic hormone*) sebagaimana hormon protein lainnya sangat berbeda susunan kimianya pada setiap spesies. Hormon pertumbuhan manusia terdiri dari rantai polipeptida tunggal yang tersusun atas 191 asam amino dengan berat molekul 21-22 kD. (Guyton dan Hall, 2005; Murray, 2003).

Sintesis GH sebagaimana sintesis protein terletak pada gen yang terdapat di kromosom 17 (Murray, 2003). Bagian intron dari DNA akan ditranskripsi menjadi *precursor mRNA*. *Precursor mRNA* kemudian mengalami *excision* dan *splicing* membentuk *mature mRNA*. *Matur mRNA* inilah yang kemudian ditranslasi menjadi preprohormon. Selanjutnya preprohormon diproses menjadi prohormon dan kemudian menjadi GH yang siap untuk disekresi.

Sekresi *growth hormon* dibawah *control neural* dari *hypothalamus* melalui sedikitnya dua dan mungkin tiga faktor *hypophysiotropic* yaitu GHRH (*growth hormone realeasing hormone*), somatostatin, dan ghrelin (Becker,2001).

Growth hormone disekresi dalam suatu pola pulsatil, meningkat dan menurun. Mekanisme yang mengatur sekresi *growth hormone* secara tepat belum sepenuhnya dipahami, namun beberapa faktor yang berkaitan dengan nutrisi dan *stress* dapat merangsang sekresinya, yaitu (1) kelaparan, terutama pada defisiensi protein berat, (2) hipoglikemia atau juga rendahnya konsentrasi asam lemak dalam darah, (3) latihan atau olah raga (4) ketegangan dan (5) trauma. *Growth hormone* juga secara khas meningkat pada 2 jam pertama tidur lelap. Sebaliknya pada keadaan dimana terjadi peningkatan glukosa darah,

peningkatan asam lemak bebas , hormon somatostatin merupakan faktor yang menghambat sekresi produksi *growth hormone*.

Pada keadaan akut, hipoglikemia merupakan perangsang sekresi *growth hormone* yang jauh lebih kuat daripada pengurangan ambilan protein dengan cepat. Sebaliknya pada keadaan kronis, sekresi *growth hormone* tampaknya lebih berhubungan dengan derajat deplesi protein selular daripada derajat insufisiensi glukosa. Sebagai contoh, sangat tingginya kadar hormon pertumbuhan selama kelaparan sangat erat berhubungan dengan jumlah deplesi protein. Pada keadaan malnutrisi protein yang berat , maka dengan penambahan kalori saja tidak bisa memperbaiki produksi *growth hormone* yang berlebihan , namun pemberian protein dapat memperbaiki produksi *growth hormone* yang berlebihan tersebut.

GH eksogen mengurangi ekspresi mRNA ghrelin lambung dan konsentrasi ghrelin plasma, tetapi tidak mempengaruhi penyimpanan ghrelin lambung (Qi X *et al*, 2003). Berdasarkan hasil tersebut *GH* pituitari menunjukkan pengaturan umpan balik (*feed back regulation*) produksi ghrelin lambung. Lagipula hubungan antara ghrelin dan pulsatil *GH* menunjukkan bahwa ghrelin berpartisipasi pelepasan *GH* pulsatil atau juga kedua hormon tersebut secara simultan saling mengatur satu sama lain (Koutkia *et al*, 2004).

Pada bangsa burung injeksi intravena ghrelin akan meningkatkan *GH* plasma (Ahmed *and* Harvey , 2002 ; Kaiya *et al*, 2002 ; Baudet *and* Harvey, 2003).

2.2 Reseptor *Growth Hormone*

Growth Hormone Receptor (GHR) adalah anggota famili reseptor membran termasuk reseptor berbagai sitokin (*interleukin* dan *interferon*) (Burnside, 1996). Penentuan letak seluler reseptor GH sangat penting untuk mengetahui target kerja GH (Hull, 1996). Pertama kali dideteksi mRNA reseptor GH dengan *northing blotting* pada limfa, bursa *fabricius* dan *thymus* unggas domestik. Analisis dengan *polymerase chain reaction* (PCR) menunjukkan bahwa *sequence* mRNA yang mengkode domain intraseluler dan ekstraseluler reseptor GH ada pada semua jaringan dengan homologi tertinggi pada transkripsi hepatic.

Pada tikus GH akan mengikat reseptor pada plasma membran. Kompleks GH-GHR (*growth hormone reseptor*) adalah bagian dari *recycle* dimana reseptor selalu disintesis oleh *golgi apparatus* dan kemudian ditransfer ke plasma membran. Kadar GHR plasma meningkat sesuai dengan pulsatil GH plasma. Reseptor yang disekresi *golgi apparatus* dengan yang ada dalam plasma membran akan disesuaikan dengan pulsatil GH sehingga dapat disimpulkan bahwa GHR banyak terdapat di *golgi apparatus* dan kemudian ditransfer ke plasma membran yang selnya peka terhadap GH (Vleoric, 1996).

Efek GH sangat dipengaruhi oleh terikat tidaknya GH dengan GHR. Mutasi gen GHR (*deletions, abnormal splicing, missense mutation*) akan menurunkan atau mencegah pengikatan GH ditempat target. Ayam *sex linked dwarf* (SLD) mengalami gangguan pertumbuhan padahal GH plasma normal dan bahkan berlebih. Ternyata serum ayam SLD mengandung sejumlah besar *protein binding* yang homolog dengan GHR sehingga GH banyak yang tidak terikat pada reseptor dan akibatnya tidak ada efek pertumbuhan (Hull, 1996).

2.3 Efek Metabolik *Growth Hormone*

Growth hormone memainkan peran dalam mengatur pertumbuhan dan komposisi tubuh (Foster, 1998). *Growth hormone* secara nyata mempunyai efek biologik yang dipengaruhi oleh *insulin-like growth factor I* (IGF-I) dalam meningkatkan pertumbuhan otot skelet (Younken, 2000). Pemberian faktor pertumbuhan secara *in vivo* pada ayam pedaging menyebabkan peningkatan kecepatan pertumbuhan dan massa otot sebesar 15 % dan diperlukan pakan 6,5 % lebih sedikit dari pakan normal. Peningkatan pertumbuhan ini mempunyai implikasi dan daya tarik yang besar bagi dunia perunggasan. Tetapi pola ekspresi gen faktor pertumbuhan selama masa pertumbuhan sampai saat ini belum diketahui secara jelas (Killefer, 2000).

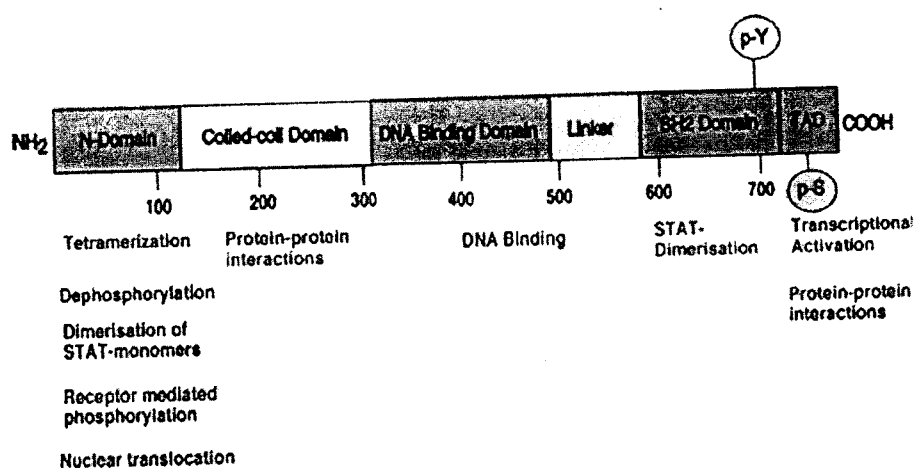
Untuk meningkatkan pertumbuhan maka perlu adanya peningkatan sekresi GH. Peningkatan sekresi GH ayam pedaging dapat dilakukan dengan pemberian pakan dua kali sehari dengan jumlah 10 % di bawah jumlah pakan standar (Anwar, 2004; Anwar dan Sarmanu, 2004; Anwar dkk., 2003). Efek metabolik hormon pertumbuhan meliputi peningkatan kecepatan sintesis protein di seluruh tubuh, peningkatan pengangkutan asam lemak dari jaringan lemak dan peningkatan penggunaan asam lemak sebagai sumber energi (Anwar dkk., 1999;). Hormon pertumbuhan juga dapat menyebabkan penurunan jaringan adiposa, penurunan kandungan lemak tubuh dan peningkatan *density* tulang (Anwar dkk., 2000)

2.4 Aktivasi Protein STAT oleh *Growth Hormone*

Protein STAT berperan penting dalam regulasi transkripsi gen oleh GH dan sitokin lain yang mengaktifkan *Janus Kinase* (JAK). Protein STAT yang semula diidentifikasi dalam jalur *signaling* interferon (IFN) (Darnell *et al.*, 1994) adalah faktor sitoplasmik yang mengandung domain SH-2 seperti Gambar 1. Pada fosforilasi tirosil yang sering melalui

kaskade berinisiasi JAK kinase, protein STAT sitoplasma membentuk suatu kompleks dengan protein STAT lain melalui interaksi tirosin yang mengalami fosforilasi pada domain SH-2, mengadakan translokasi menuju ke nukleus, berikatan dengan DNA dan selanjutnya mengaktifkan transkripsi pada gen sasaran (Ihle, 1996). *Growth hormone* diketahui mengaktifkan STATs 1, 3, 5A dan 5B seperti Gambar 2.

Fosforilasi tirosil STATs 1, 3, 5A dan 5B yang tergantung GH dijumpai dalam fibroblas 3T3-F442A, hepar tikus yang mengalami hipofisektomi, biakan sel hati dan pada berbagai sistem overekspresi. Fosforilasi tirosil STATs 5A dan 5B juga dijumpai pada sel IM-9 manusia dan otot, hepar serta otot rangka tikus normal (Smit *et.al.*, 1999).

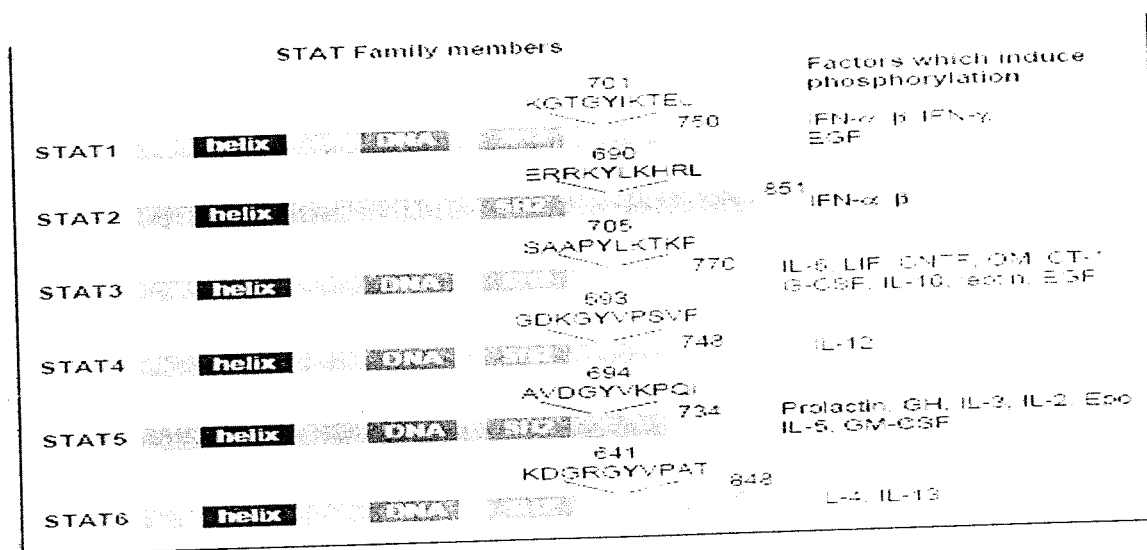


Gambar 2.1. Struktur protein STAT (Hendry dan John, 2004)

STAT-1 yang juga disebut P91, diidentifikasi sebagai anggota kompleks gen faktor 3 yang dirangsang oleh IFN α . Protein STAT-3 diidentifikasi sebagai *acute phase response factor* (APRF) yang memperantarai regulasi transkripsi protein terhadap IL-6. Protein STAT-1 ayam pedaging mempunyai berat molekul 59,3 kDa (Anwar dkk., 2006) dan STAT-3 berat molekulnya 59,4 kDa (Anwar dkk. 2008). STAT-5 atau *mammary gland factor* (MGF) diidentifikasi sebagai faktor transkripsi yang dirangsang oleh prolaktin (PRL), meskipun gen STAT-5 awalnya tunggal yang ditemukan pada domba, saat ini ada 2 bentuk

protein STAT yaitu STAT-5A dan STAT-5B yang ditemukan pada mencit, tikus dan manusia (Silva *et al.*, 1996). Gen yang mengkode STAT-5A dan STAT-5B sangat homolog dengan 90 % sekuens kode yang identik. Protein STAT-5A dan STAT-5B terutama berbeda pada domain aktivasi transkripsi COOH-terminal, spesifisitas ikatan DNA dan distribusinya dalam jaringan (Verdier *et al.*, 1998). Hal ini menunjukkan bahwa protein STAT-5A dan STAT-5B mempunyai peran yang saling tumpang tindih dalam *signaling* GH.

Analisis *signaling* GH pada sel defisiensi JAK2 dan sel yang mengalami mutasi dalam mengekspresikan reseptor GH menunjukkan bahwa aktivasi STATs 1, 3, 5A dan 5B yang tergantung GH memerlukan aktivasi JAK2. Hal ini sesuai dengan temuan bahwa aktivasi JAKs diperlukan untuk aktivasi STAT. JAK1 atau JAK2 yang diekspresikan berlebih secara aktif dalam sel COS akan merangsang terikatnya STAT1 ke DNA (Smit *et al.*, 1999).



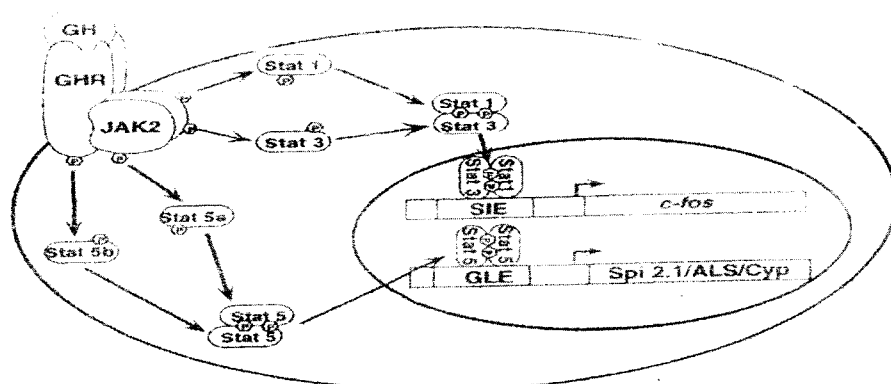
Gambar 2.2 Protein STAT dan faktor yang menginduksi terjadinya fosforilasi (Akira, 1999)

Aktivasi JAK2 yang diekspresikan berlebih tampaknya cukup untuk fosforilasi STAT-1 dan STAT-3 dan pengikatan DNA, namun tidak cukup untuk aktivasi STAT-5. Hal ini menunjukkan bahwa aktivasi STAT-5 oleh GH memerlukan fosforilasi residu tirosin spesifik dalam reseptor GH sehingga menghasilkan tempat ikatan berafinitas tinggi untuk

domain SH2 dalam protein STAT. Tirosin spesifik pada reseptor GH babi (Y534, Y566 dan Y627 ekuivalen dengan Y534, Y566 dan Y626 pada reseptor GH tikus) diketahui diperlukan untuk fosforilasi tirosil STATs tergantung GH dan transkripsi promotor Spi 2.1 (Wang *et al.*, 1996).

Bentuk reseptor GH yang kekurangan sebagian besar tirosin terfosforilasi dapat memperantarai fosforilasi tirosil STATs 1 dan 3 yang diinduksi GH dan ikatan STATs 1 dan 3 pada *Sis inducible element* (SIE) dari *c-fos*. Meskipun demikian tirosin terfosforilasi dalam reseptor GH dapat menyebabkan aktivasi maksimal STAT-1 dan STAT-3 (Smit *et al.*, 1999).

Fosforilasi tirosil diperlukan untuk aktivasi pengikatan DNA STAT. Penelitian terbaru juga menunjukkan bahwa fosforilasi juga berperan dalam regulasi protein STAT. Pada pemeriksaan *Western Blots* terbukti bahwa *band* STAT-3 dan STAT-5 terfosforilasi tirosil akibat respon dari GH (Ram *et al.*, 1996). Protein STAT terfosforilasi pada residu serin dan tirosin seperti Gambar 3.



Gambar 2.3. Growth hormone receptor (GHR) signaling melalui protein STAT. P: fosfotirosines; JAK : Janus kinase; SIE : sis-inducible element; GLE : interferon- γ activated sequence-like element; Spi : serine protease inhibitor ALS : acid labilesubunit; Cyp : cytochrome p450.(Smit *et al.*, 1999).

Penelitian tidak langsung menunjukkan bahwa GH menstimulasi fosforilasi STATs 1, 3 dan 5 pada serin atau treonin dalam hepar. Fosforilasi ini akan meningkatkan pengikatan DNA STAT-1, DNA STAT-3 dan mengubah secara substansial pengikatan DNA STAT-5 (Ram *et al.*, 1996). STAT 1, 3, dan 5A mengandung *conserved consensus sequence* untuk

fosforilasi yaitu MAP kinase dan penelitian awal menunjukkan bahwa MAP kinase bertanggung jawab atas fosforilasi seril STAT-1, STAT-3 dan STAT-5A. Sedangkan STAT-5B karena tidak mengandung *conserved consensus sequence* maka fosforilasi dilakukan oleh kinase lain selain MAP kinase. Protein STAT 1, 3, 5A dan 5B juga mengandung protein kinase C dan kasein kinase untuk proses fosforilasi. Hal ini menunjukkan bahwa jalur *signaling* ganda dapat menyatu pada protein STAT untuk aktivasi transkripsi oleh GH.

BAB 3.TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

3.1.1 Tujuan Jangka Panjang

Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah untuk membuat protein STAT sintetis sebagai pemacu pertumbuhan pada ternak secara fisiologis sehingga aman bagi ternak dan manusia.

3.1.2 Tujuan Khusus

Membuat protein sintetis STAT-1 dan STAT-3 yang dicobakan pada hewan coba sebagai bahan pemacu pertumbuhan.

3.2 Manfaat Penelitian

Dengan dibuatnya protein sintetis STAT-1 dan STAT-3 maka dapat menjadi dasar pemacu pertumbuhan pada ayam pedaging dengan daging yang sehat dan berkualitas.



BAB 4. METODE PENELITIAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

4.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini direncanakan dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi FK Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Proteomic International Australia dan PT. Genetika Science Indonesia.

4.2 Rancangan Riset

Penelitian ini dilakukan dengan rancangan eksperimen murni (*true experimental*).

4.3 Sampel dan Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel berupa ayam pedaging jantan galur *Lohman* (MB 202 P) yang dipelihara mulai umur 1 hari sampai dengan 21 hari sebanyak 25 ekor

4.4 Prosedur Penelitian

Ayam umur sehari (*Day Old Chick*) ditempatkan dalam kandang *latter* selama 14 hari dengan pakan dan minum *ad libitum*. Pada umur 15 hari ayam kemudian ditempatkan dalam kandang baterai dengan kapasitas satu ekor satu kandang dengan mendapat pakan dua kali sehari yaitu pukul 06.00 WIB dan 18.00 WIB dengan jumlah 10 % lebih kecil dari standar. Pada umur 21 hari ayam dipotong untuk diambil sampelnya berupa jaringan hepar untuk dilakukan pemeriksaan sebagai berikut :

1. Isolasi protein *signaling* STAT dari jaringan hepar ayam pedaging
2. Identifikasi protein *signaling* STAT dari jaringan hepar ayam pedaging dengan menggunakan metode SDS-PAGE (*sodium dodecyl sulphat polyacrylamide gel electrophoreses*)
3. Analisis berat molekul protein *signaling* STAT-1 dan STAT-3 dengan metode *blotting* yaitu teknik *Western Blot* dengan menggunakan protein yang diuraikan secara *elektrophoreses* dari *gel polyacrylamide*.
4. Amplifikasi sekuens gen target dari protein STAT dengan menggunakan teknik MALDI-TOP
5. Hasil susunan asam amino protein STAT digunakan untuk membuat protein sintesis STAT-1 dan STAT-3 di PT. Genetika Science Indonesia.

4.5 Ekstraksi Protein Sampel

Setengah gram sampel di larutkan pada 1 mL buffer lysis pH 8 (50mM Tris Buffer, pH 8,0 yang mengandung 0,1% SDS, 0,5% Nonidet P-40, 120 mM NaCl, 100 μ M PMSF). Kemudian dilakukan homogenisasi menggunakan mortal dingin, inkubasi dan *sacking* dalam es selama 30 menit. Kemudian dilakukan sentrifugasi pada 14.000 rpm selama 20 menit 4°C. Setelah itu diambil supernatan untuk dilakukan analisis

4.6 SDS-PAGE Protein STAT

4.6.1 Persiapan Gel

Plat gel dibuat dengan merangkai dua plat kaca dengan jarak antara plat kurang lebih 1 mm. Gel dibuat dua lapis, yakni gel sebagai tempat pengumpulan sampel (*stacking gel*) dan gel sebagai media untuk pemisahan protein (*separating gel*). Separating gel 12% (1 plat) dibuat dengan menambahkan akuades 1700 μ L, LGB (lower gel buffer) 1300 μ L, dan T-acyl 30% sebanyak 2000 μ L, kemudian didegas selama 10 menit. Selanjutnya APS (amoniumpersulfat) 10% sebanyak 70 μ L dan TEMED 7 μ L secara berurutan, kemudian gelas beker digoyang perlahan-lahan untuk meratakan semua larutan. Segera larutan dituangkan kedalam plate menggunakan pipet sampai $\frac{3}{4}$ tinggi plate. Secara perlahan dituangkan air diatas larutan gel agar permukaan gel tidak bergelombang. Sementara menunggu separating gel memadat, stacking gel 3% (1 plate) disiapkan dengan cara: akuades 975 μ L, UGB (upper gel buffer) 415 μ L, T-acyl 30% sebanyak 267 μ L, dan secara berurutan APS 10% 20 μ L dan TEMED 2 μ L. Gelas beker digoyang perlahan dan segera larutan dituang kedalam plate. Secara perlahan diselipkan sisir pembentuk sampel. Setelah gel memadat sisir diangkat dan selanjutnya dilakukan pengisian sampel pada sumur gel.

4.6.2 Injeksi Sampel Protein

Sebanyak 20 μ L larutan protein dan protein standard masing-masing ditambah dengan 20 μ L buffer sampel (RSB atau reducing sample buffer) kemudian dipanaskan kedalam pemanas air pada suhu 100° C selama 3 menit. Setelah didinginkan sampel siap dimasukkan kedalam sumur gel dalam volume 24 μ L untuk setiap sumur. Protein satandard yang digunakan adalah protein standard broad range (BioRad).

4.7 Western Bloting STAT-1 dan STAT-3

Lembaran gel hasil SDS-PAGE yang mengandung pita protein dipindahkan pada kertas nitroselulosa menggunakan alat *semi dry bloter* buatan *Biorad* ditranfer pada nitroselulose dengan 300 mA selama 30 menit. Kemudian diwarna dengan *ponco* 2% yang mengandung TCA sampai konsentrasi mencapai 3%. Lakukan blocking *unspecific* protein pada BSA 3% dalam larutan TBE pH 7,4 dan *Tween* 20 konsentrasi 0,05%, inkubasi semalam. Cuci pada TBE pH 7,4 yang ditambah *Tween* 20 konsentrasi 0,05% sampai 2 kali , selama masing-masing 5 menit. Inkubasi pada antibodi primer Rabbit Anti-phospho STAT 1 (Tyr694) dengan konsentrasi 5 μ g/mL dalam TBE pH 7,4 yang mengandung larutan BSA konsentrasi 1%, kemudian digoyang selama 2 jam. Cuci pada TBE pH 7,4 yang mengandung Twen 20 konsentrasi 0,05%. Inkubasi pada antibodi sekunder berlabel biotin konsentrasi 1/1000 dalam TBE pH 7,4 dengan 1%BSA. Cuci dengan TBE pH 7,4 *Tween* 20 konsentrasi 0,05%, kemundian diinkubasi dengan SA-HRP selama 40 menit dan dicuci dengan TBE pH 7,4 *Tween* 20 konsentrasi 0,05% 2 kali selama 5 menit. Visualisasi pada Tetra methil bensidine (TMB),selama 30 menit. Bilas dengan H₂O 2 kali selama masing-masing 5 menit.

4.8 Identifikasi Asam Amino Protein STAT-1 dan STAT-3

Hasil Western Blot protein STAT-1, STAT-3, STAT-5a dan STAT-5b yang sudah diketahui berat molekulnya yaitu protein STAT-1 sebesar 59,3 kDa dan protein STAT-3 sebesar 59,4 kDa, protein STAT-5a adalah 91 kDa, protein STAT-5b adalah 90 kDa, dilakukan pemeriksaan asam aminonya. Pemeriksaan asam amino protein STAT dilakukan di Australia dengan mengirimkan hasil SDS Page dan pemeriksaan dengan metode MALDI TOP.

4.9 Pembuatan Protein Sintetis STAT-1 dan STAT-3

Dengan diketahunya susunan asam amino protein STAT-1 dan STAT-3 maka dapat digunakan sebagai dasar dalam membuat protein sintetis. Pembuatan protein sintetis STAT-1 dan STAT-3 dilakukan di PT. Genetika Science Indonesia.

4.10 Analisis Data

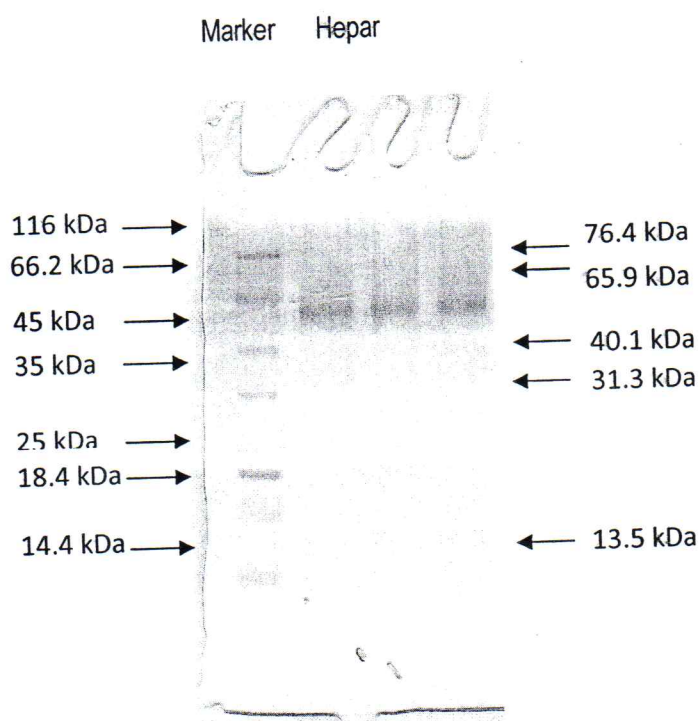
Data hasil penelitian berupa protein sintetis STAT-1 dan STAT-3 digunakan untuk percobaan substitusi pakan pada hewan coba untuk mengetahui peranya dalam menimbulkan efek sebagai pemacu pertumbuhan pada ayam pedaging yang mengalami pertumbuhan.

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

5.1 SDS-PAGE Protein STAT 1 dan STAT 3

Hasil SDS-PAGE protein STAT 1 pada jaringan,hepar menunjukkan adanya protein STAT 1 dan STAT 3 seperti pada Gambar 5.1



Gambar 5.1 Hasil SDS Page protein STAT pada jaringan hepar

Kemudian dilanjutkan uji analisis protein STAT yang ada pada jaringan hepar dengan SDS-PAGE. Hasil SDS-PAGE menunjukkan bahwa terdapat lima pita protein yang tampak antara marker 116 kDa dan 14,4 kDa baik pada jaringan hepar.

Pita protein yang terbentuk antara marker 116 kDa dengan 14,4 kDa dari hasil perhitungan (Tabel 5.1) mempunyai berat molekul 76,4 kDa, 65,9 kDa, 40,1 kDa, 31,3 kDa

dan 13,5 kDa. Pita protein yang terbentuk pada jaringan hepar tampak begitu jelas pada berat molekul 65,9 kDa.

Hasil SDS-PAGE protein jaringan hepar yang tampak pada pita protein yang paling jelas antara marker 66,2 kDa dengan 45 kDa diduga protein STAT 1 dan STAT 3. Protein hasil SDS-PAGE belum bisa menunjukkan secara pasti apakah itu protein STAT 1 atau STAT 3. Untuk membuktikan bahwa terbentuknya pita protein itu adalah protein STAT 1 dan STAT 3 maka perlu dilakukan pemeriksaan dengan *Western blot*.

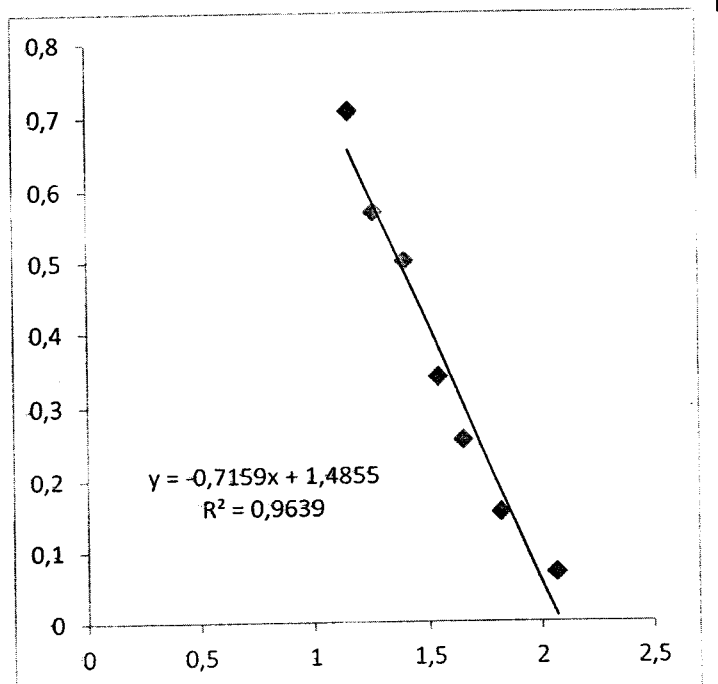
Tabel 5.1 Perhitungan Berat Molekul hasil SDS Page protein STAT pada jaringan hepar

Fermentas Low Protein Marker

BM(kDa)	Jarak Tracking	Log BM	Rf
116	0.45	2.0645	0.0692
66.2	1	1.8209	0.1538
45	1.65	1.6532	0.2538
35	2.2	1.5441	0.3385
25	3.25	1.3979	0.5
18.4	3.7	1.2648	0.5692
14.4	4.6	1.1584	0.7077

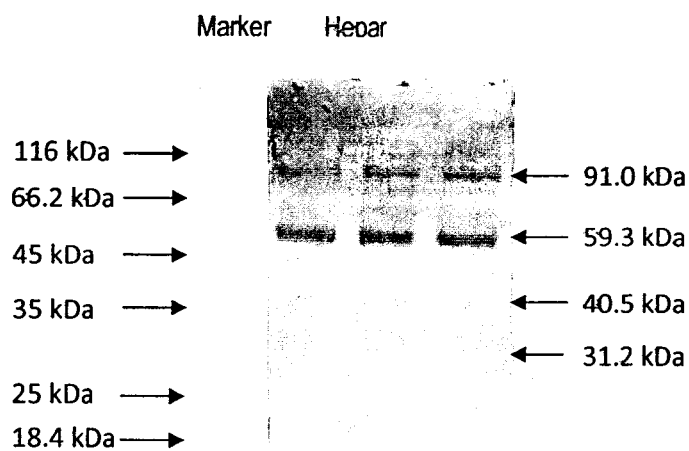
Sampel

BM(kDa)	Jarak Tracking	Log BM	Rf
76.4312	0.9	1.8833	0.1385
65.8749	1.2	1.8187	0.1846
40.1375	2.2	1.6036	0.3385
31.3304	2.7	1.496	0.4154
13.4951	4.4	1.1302	0.6769



5.2 Western Blot Protein STAT -1

Hasil *Western blot* protein STAT 1 pada jaringan otot, hepar dan adiposa menunjukkan adanya protein STAT 1 dengan berat molekul 59,3 kDa, seperti pada Gambar 5.2



Gambar 5.2 Hasil *Western blot* protein STAT 1 jaringan hepar

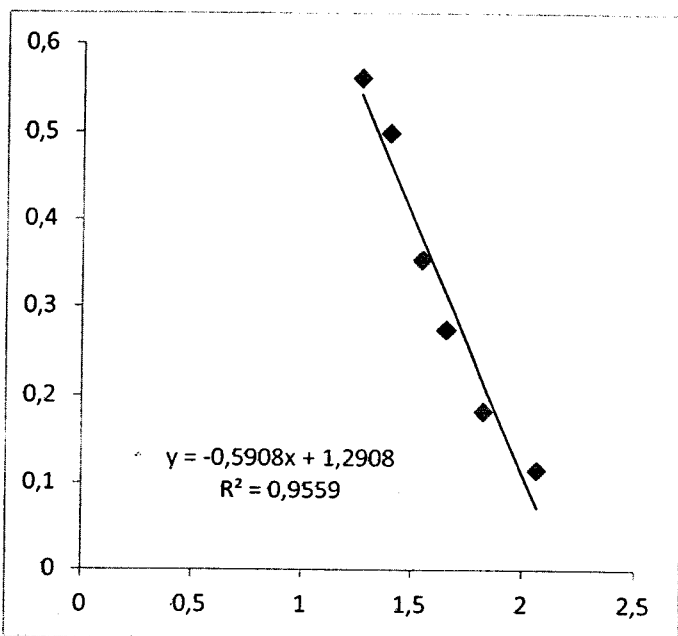
Tabel 5.2 Perhitungan Berat Molekul hasil Western Blott protein STAT 1 pada jaringan hepar

Fermentas Low Protein Marker

BM(kDa)	Jarak Tracking	Log BM	Rf
116	0.95	2.0645	0.1159
66.2	1.5	1.8209	0.1829
45	2.25	1.6532	0.2744
35	2.9	1.5441	0.3537
25	4.1	1.3979	0.5
18.4	4.6	1.2648	0.561

Sampel

BM(kDa)	Jarak Tracking	Log BM	Rf
91.0068	1.1	1.9591	0.1341
59.2989	2	1.773	0.2439
40.5218	2.8	1.6077	0.3415
31.1893	3.35	1.494	0.4085



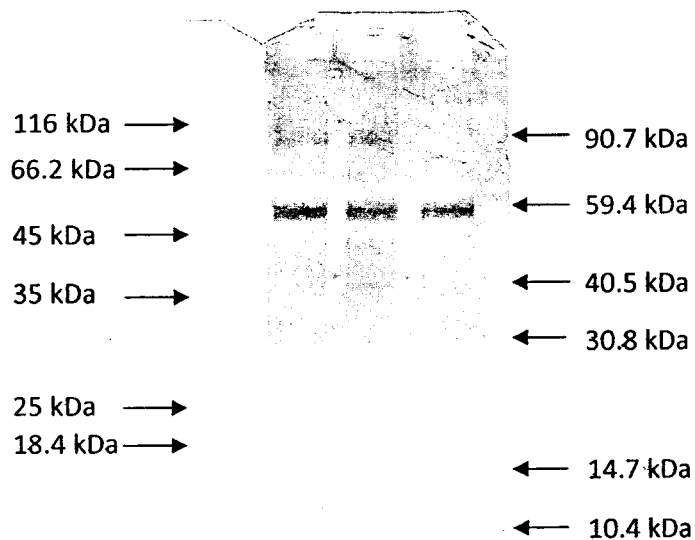
Untuk mengetahui bahwa hasil analisis protein dengan SDS-PAGE adalah protein STAT 1 maka dilakukan *Western blot* dengan menggunakan *rabbit polyclonal antibody* STAT 1 Ab-1 (*Labvision*). Pada Gambar 5.3 tampak terbentuk satu pita protein yang paling jelas diantara marker 66,2 kDa dengan 44 kDa, baik protein yang terbentuk pada jaringan

hepar. Pita protein yang terbentuk antara marker 116 kDa dengan 66,2 kDa, 45 kDa dengan 35 kDa dan 35 kDa dengan 25 kDa tidak begitu jelas.

Terbentuknya pita protein antara marker 66,2 kDa dengan 44 kDa setelah dilakukan perhitungan (Tabel 5.2) ternyata berat molekulnya adalah 59,3 kDa. Hal ini menunjukkan bawa protein hasil SDS-PAGE yang diuji dengan *Western blot* adalah protein STAT 1 ayam pedaging fase pertumbuhan dengan berat molekul 59,3 kDa. Terbentuknya pita protein dengan berat molekul 59,3 kDa yang sangat jelas karena terjadi ikatan antara protein STAT 1 hasil SDS-PAGE dengan *rabbit polyclonal antibody* STAT 1.

5.3 Hasil *Western Blot* Protein STAT-3

Hasil *Western blot* protein STAT-3 pada jaringan otot, hepar dan adiposa menunjukkan adanya protein STAT-3 dengan berat molekul 59,4 kDa, seperti pada Gambar 5.3



Gambar 5.3 Hasil *Western blot* protein STAT-3 jaringan hepar

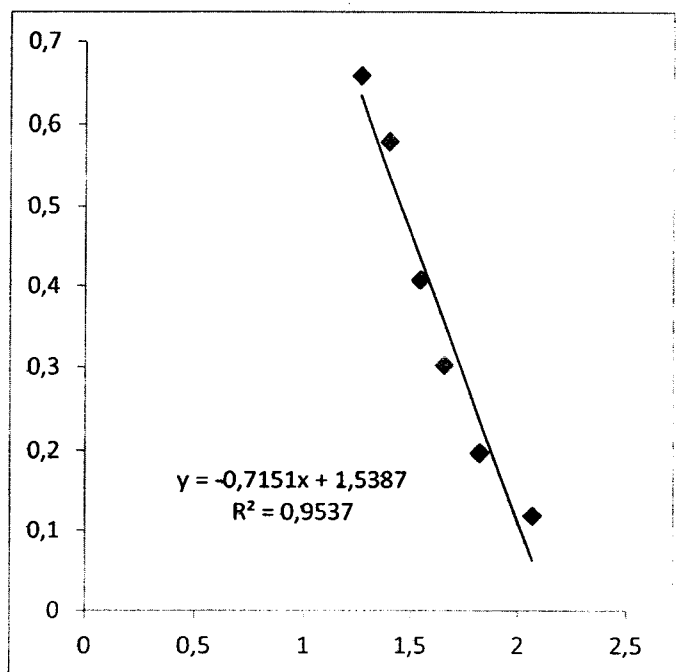
Tabel 5.3 Perhitungan Berat Molekul hasil Western Blott protein STAT-3 pada jaringan hepar

Fermentas Low Protein Marker

BM(kDa)	Jarak Tracking	Log BM	Rf
116	0.9	2.0645	0.1184
66.2	1.5	1.8209	0.1974
45	2.3	1.6532	0.3026
35	3.1	1.5441	0.4079
25	4.4	1.3979	0.5789
18.4	5	1.2648	0.6579

Sampel

BM(kDa)	Jarak Tracking	Log BM	Rf
90.7447	1.05	1.9578	0.1382
59.4011	2.05	1.7738	0.2697
40.5668	2.95	1.6082	0.3882
30.8002	3.6	1.4886	0.4737
14.6726	5.35	1.1665	0.7039
10.4541	6.15	1.0193	0.8092



Untuk memastikan bahwa hasil analisis protein dengan SDS-PAGE adalah protein STAT 3 maka dilakukan *Western blot* dengan menggunakan *rabbit polyclonal antibody* STAT 3 Ab-1 (*Labvision*). Pada Gambar 5.4 tampak terbentuk satu pita protein yang paling jelas diantara marker 66,2 kDa dengan 44 kDa, baik protein yang terbentuk pada jaringan adiposa, otot dan hepar. Pita protein yang terbentuk antara marker 116 kDa dengan 66,2 kDa, 45 kDa dengan 35 kDa dan 35 kDa dengan 25 kDa tidak begitu jelas

Terbentuknya pita protein antara marker 66,2 kDa dengan 44 kDa setelah dilakukan perhitungan (Tabel 5.3) ternyata berat molekulnya adalah 59,4 kDa. Hal ini menunjukkan bawa protein hasil SDS-PAGE yang diuji dengan *Western blot* adalah protein STAT 3 ayam pedaging fase pertumbuhan dengan berat molekul 59,4 kDa. Terbentuknya pita protein dengan berat molekul 59,4 kDa yang sangat jelas karena terjadi ikatan antara protein STAT 3 hasil SDS-PAGE dengan *rabbit polyclonal antibody* STAT 3

Protein STAT 1 dengan berat molekul 59,3 kDa dan STAT 3 berat molekul 59,4 kDa pada jaringan adiposa, otot dan hepar menunjukkan bahwa pada ayam pedaging fase pertumbuhan protein STAT 1 dan STAT 3 mempunyai berat molekul hampir sama. Diharapkan dengan diketahuinya berat molekul protein STAT 1 dan STAT 3 pada ayam pedaging akan menjadi dasar untuk mengetahui secara jelas mekanisme *growth hormone* dalam mengatur pertumbuhan dan metabolisme tubuh.

Growth hormone memainkan peran dalam mengatur pertumbuhan dan komposisi tubuh (Foster, 1998). *Growth hormone* secara nyata mempunyai efek biologik yang dipengaruhi oleh *insulin-like growth factor I* (IGF-I) dalam meningkatkan pertumbuhan otot skelet (Younken, 2000). Pemberian faktor pertumbuhan secara *in vivo* pada ayam pedaging menyebabkan peningkatan kecepatan pertumbuhan dan massa otot sebesar 15 % dan diperlukan pakan 6,5 % lebih sedikit dari pakan normal. Peningkatan pertumbuhan ini mempunyai implikasi dan daya tarik yang besar bagi dunia perunggasan. Tetapi pola ekspresi

gen faktor pertumbuhan selama masa pertumbuhan sampai saat ini belum diketahui secara jelas (Killefer, 2000).

Protein STAT berperan penting dalam regulasi transkripsi gen oleh GH dan sitokin lain yang mengaktifkan *Janus Kinase* (JAK). Protein STAT yang semula diidentifikasi dalam jalur *signaling* interferon (IFN) (Darnell *et al.*, 1994) adalah faktor sitoplasmik yang mengandung domain SH-2. Pada fosforilasi tirosil yang sering melalui kaskade berinisiasi JAK kinase, protein STAT sitoplasma membentuk suatu kompleks dengan protein STAT lain melalui interaksi tirosin yang mengalami fosforilasi pada domain SH-2, mengadakan translokasi menuju ke nukleus, berikatan dengan DNA dan selanjutnya mengaktifkan transkripsi pada gen sasaran (Ihle, 1996).

Growth hormone diketahui mengaktifkan STATs 1, 3, 5A dan 5B. Fosforilasi tirosil STATs 1, 3, 5A dan 5B yang tergantung GH dijumpai dalam fibroblas 3T3-F442A, hepar tikus yang mengalami hipofisektomi, biakan sel hati dan pada berbagai sistem over ekspresi. Fosforilasi tirosil STATs 5A dan 5B juga dijumpai pada sel IM-9 manusia dan otot hepar serta otot rangka tikus normal (Smit *et al.*, 1999).

STAT1 yang juga disebut P91, diidentifikasi sebagai anggota kompleks gen faktor 3 yang dirangsang oleh IFN α (FU, 1992). Analisis signaling GH pada sel defisiensi JAK2 dan sel yang mengalami mutasi dalam mengekspresikan reseptor GH menunjukkan bahwa aktivasi STATs 1, 3, 5A dan 5B yang tergantung GH memerlukan aktivasi JAK2 (Smit *et al.*, 1997). Hal ini sesuai dengan temuan bahwa aktivasi JAKs diperlukan untuk aktivasi STAT (Muller *et al.*, 1993). JAK1 atau JAK2 yang diekspresikan berlebih secara aktif dalam sel COS akan merangsang terikatnya STAT1 ke DNA (Silvennoinen, 1993).

Penelitian tidak langsung menunjukkan bahwa GH menstimulasi fosforilasi STATs 1, 3 dan 5 pada serin atau treonin dalam hepar. Fosforilasi ini akan meningkatkan pengikatan DNA STAT1, DNA STAT3 dan mengubah secara substansial pengikatan DNA STAT5 (Ram

et.al., 1996). STAT 1, 3, dan 5A mengandung *conserved consensus sequence* untuk fosforilasi yaitu MAP kinase dan penelitian awal menunjukkan bahwa MAP kinase bertanggung jawab atas fosforilasi seril STAT1, STAT3 dan STAT5A. Sedangkan STAT5B karena tidak mengandung *conserved consensus sequence* maka fosforilasi dilakukan oleh kinase lain selain MAP kinase. Protein STAT 1, 3, 5A dan 5B juga mengandung protein kinase C dan kasein kinase untuk proses fosforilasi. Hal ini menunjukkan bahwa jalur *signaling* ganda dapat menyatu pada protein STAT untuk aktivasi transkripsi oleh GH.

5.4 Hasil Pemeriksaan MALDI TOP Asam Amino Protein STAT-1 dan STAT-3

Pemeriksaan asam amino protein STAT-1 dan STAT-3 dilakukan di Australia dengan metode MALDI TOF dengan cara mengirimkan hasil SDS Page protein STAT-1 dan STAT-3 ke Australia.

Hasil pemeriksaan asam amino protein STAT-1 dan STAT-3 dengan metode MALDI TOF menunjukkan bahwa protein STAT-1 adalah *lsnqmevggv qntmtgml dk qkeldakvka vknsvtdveq diktledvqd eydfkhkthfq*, dan protein STAT-3 adalah *taaqqggqat hptaavvtek taaqqggqat hptaavvtek qqmleqhlqd vrkrvqdleq kmkvvenlqd ddfnykthk*

5.5 Pembuatan Protein Sintetis STAT-1 dan STAT-3

Hasil asam amino protein STAT-1 adalah *lsnqmevggv qntmtgml dk qkeldakvka vknsvtdveq diktledvqd eydfkhkthfq*, dan protein STAT-3 adalah *taaqqggqat hptaavvtek qqmleqhlqd vrkrvqdleq kmkvvenlqd ddfnykthk*, sebagai dasar untuk membuat protein sintetis STAT-1 dan STAT-3.

Pembuatan protein sintetis STAT-1 dan STAT-3 dilakukan di PT. Genetika Science Indonesia. Hasil pembuatan protein STAT-1 adalah Peptide 1-Crude Purity of HPLC dengan sequence : *lsnqmevggv qntmtgml dk qkeldakvka vknsvtdveq diktledvqd eydfkhkthfq* dan

STAT-3 adalah Peptide 1-Crude Prity of HPLC dengan sequence : taaqqggqat hptaavvtek
qqmleqhlqd vrkrvqdleq kmkvvenlqd ddfnyktk.

BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Setelah dibuatnya protein sintesis STAT-1 dan STAT-3 maka dapat digunakan untuk penelitian pada berbagai hewan coba dengan pakan yang disubstitusi protein sintesis STAT-1 dan STAT-3. Hasil dari percobaan berbagai hewan coba kemudian dianalisis untuk menentukan protein sintesis yang mana yang paling efektif.

Hasil proein sintesis yang paling memacu pertumbuhan pada ternak kemudian dapat diajukan sebagai hak Paten.



BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka dapat disimpulkan bahwa

1. **Protein STAT-1 sintetis** dibuat berdasarkan susunan asam amino STAT-1 adalah
Isnqmevggv qntmtgmldk qkeldakvka vknsvtdveq diktledvqd eydfkhktfq
2. **Protein STAT-3 sintetis** dibuat berdasarkan susunan asam amin STAT-3 adalah
taaqqggqat hptaavvtek qqmleqhlqd vrkrvqdleq kmkvvenlqd ddfnykltk

6.2 Saran

Dengan dibuatnya protein sintetis STAT-1 dan STAT-3, maka dapat digunakan sebagai dasar untuk melakukan percobaan pada hewan coba sebagai substitusi pakan dalam memacu pertumbuhan.



DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed S and Harvey S. 2002. Ghrelin : a Hypothalamic GH releasing factor in domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Journal of Endocrinology*, 172 : 117-125
- Anwar M, Romziah S, Mas'ud H dan Ratna D. 2008. Potensi protein STAT (signal transducers and activators of transcription) sebagai kandidat bahan pemacu pertumbuhan ternak. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Airlangga, Surabaya
- Anwar M, Tri Martini, Hidajati N, 2006. studi protein signaling stat (*signal transducers and activators of transcription*) pada ayam pedaging selama masa pertumbuhan melalui teknik blotting
- Anwar M dan Sarmanu, 2004. Fisiendokrinologi sekresi *growth hormone* (GH) dan *insulin-like growth factor I* (IGF-I) sebagai dasar peningkatan kualitas daging. Lembaga Penelitian, Unair, Surabaya.
- Anwar M, 1999. Pengaruh waktu dan jumlah pemberian pakan terhadap kadar lemak dan protein daging ayam pedaging. Tesis, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Anwar M, 2004. Peran pengaturan waktu dan jumlah pemberian pakan terhadap sekresi *growth hormone* (GH) dan *insulin-like growth factor I* (IGF-I) dalam mempengaruhi sintesis lemak dan protein daging ayam pedaging. Disertasi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Anwar M, Sarmanu dan Hidajati N, 2003. Studi sekresi leptin sebagai dasar diet penurunan berat badan. Lembaga Penelitian, Unair, Surabaya.
- Anwar M, Widjaja NMR, Hidajati N, 2000. Efektivitas pengurangan jumlah pakan dalam upaya menciptakan ayam pedaging yang langsing. Lembaga Penelitian, Unair, Surabaya.
- Akira S, 1999. Functional roles of STAT family proteins : lessons from knockout mice. *Stem Cell* 17:138-146
- Baeg G, Zhou R and Perrimon N, 2005. Genome-wide RNAi analysis of JAK/STAT signaling components in drosophila. *Genes & Dev.* 19:1861-1870
- Baudet ML and Harvey S. 2003. Ghrelin-induced GH secretion in domestic in domestic fowl in vivo and in vitro. *J. Endocrinol*, 179 : 97-105
- Becker KL. 2001. Principles and Practice Endocrinology and Metabolism, 3rd Edition. Elsevier Mosby, pp274, 305,536
- Burnside J. 1996. Intracellular mechanism of GH action. In (Bent M). *Livestock Productivity Enhancers : An Economic assessment*. CAB International, p 13
- Darnell J, Lodish H, Baltimore D., 1990. *Molecular cell biology*. 2nd Edition, New York : Scientific America Books, p 715
- Endo TA, Masuhara M, Yokuuchi M, *et al.*, 1997. *Nature* 387: 921-924

- Foster DN, Froudman JA, Harmon SA, Foster LK., 1998. Baculovirus-mediated expression of chicken GH. *Tektran* p 14
- Gebert CA, Park S-H and Waxman DJ., 1999. *Mol. Endocrinol.* 13:38-56
- Guyton AC, Hall JE, 2005. *Textbook of medical physiology*, 11th ed. WB Sounder Company, pp 933-942
- Hansen JA, Lindberg K, Hilton DJ et al., 1999. *Mol. Endocrinol.* 13:1832-1843
- Hendry I and John S, 2004. Regulation of STAT signaling by proteolytic processing. *Eur. J. Biochem* 271:4613-4620
- Herrington J, Smit LS, Schwartz L and Carter-Su C., 2000. *Oncogen* 19:2585-2597
- Hull KI, Harvey S., 1996. GH receptor in the avian immune system. In *Abstract Form : International Symposium on Avian Endocrinology*. Chateau Lake Louise, Alberta, p 30
- Ihle JN., 1996. *Cell* 84 : 331-334
- Kaiya H, Van Der Geyten S, Kojima M, Hosoda H, Kitajima Y, Matsumoto M, Geeliissen S, Darras VM and Kanagawa K. 2001. Chicken Ghrelin : purification cDNA cloning, and biological activity. *Endocrinology* 143 : 3463
- Killefer K, Kenny PB., 2000. *Anim Vet Sci* 1877.
- Lodige I, Marg A, Weisner B, Malecova B, Oelgeschlager and Vinkemeier V, 2005. Nuclear export determines the cytokine sensitivity of STAT transcription factor. *Journal of Biological Chemistry* 280:43087-44000
- Matsumoto A, Seki Y, Kubo M et al., 1999. *Mol. Cell. Biol.* 19:6396-6407
- Murrey RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW., 2003. *Harper's illustrated biochemistry*. 26th Edition. McGraw-Hill Companies, Inc, pp524-526
- Naka T, Narazaki M, Hirata M et al., 1997. *Nature* 387:924-929
- Ortmann RA, Cheng T, Visconti R, Frucht DM and O'Shea JJ, 2000. Janus kinases and signal transducers and activators of transcription : their role in cytokine signaling, development and immunoregulation. *Arthritis Ros* 2:16-32
- Ram PA and Waxman DJ., 1999. *J. Biol. Chem.* 274:35553-35561
- Ram PA, Park SH, Choi HK and Waxman DJ., 1996. *J. Biol. Chem.* 271:5929-5940
- Shadid S and Jensen DM, 2003. Effects of growth hormone administration in human obesity. *Obesity Research* 11(2):170-175
- Silva CM, Lu H and Day RN., 1996. *Mol. Endocrinol.* 10:508-518
- Smit LS, Meyer DJ, Argetsinger LS *et al.*, 1999 *Handbooks of Physiology*. Oxford University Press : New York, pp445-480.
- Stofega MR, Wang H, Ullrich A and Carter-Sue C., 2000. *J. Biol. Chem.* Submitted
- Tollet-Egnell P, Flores-Morales A, Stavreus-Evers A et al., 1999. *Endocrinology* 140:3693-3704
- Verdier F, Chretien S, Muller O et al., 1998. *J. Biol. Chem.* 273:28185-28190

- Vleuric L, Van Veldhoven PP, Decuypera E, Khun ER., 1996. Distribution of GH receptors in chicken liver. In Abstract Form : International Symposium on Avian Endocrinology. Chateau Lake Louise, Alberta, p 30
- Wang X, Darus CJ, Xu BC and Kopchick JJ., 1996. Mol. Endocrinol 10:1249-1260
- Waters MJ, Hoang HN, Fairlie DP, Pelekanos RA and Brown RJ, 2006. New insights into growth hormone action. J. Mol. Endo. 36:1-7
- Yasukawa H, Misawa H, Sakamoto H et al., 1999. EMBO J 18:1309-1320
- Younken RV, Zaou Y, Wang X et al., 2000. J Endocrinol 166:620-690
- Yu C-L, Jin Y-J and Burakoff SJ., 2000. J. Biol. Chem. 275:599-604

LAMPIRAN 1. Luaran Hasil Penelitian

The 2nd International Conference Postgraduate School Universitas Airlangga di Surabaya pada 9-10 Juli 2018.



ICPS 2018
The 2nd International Conference Postgraduate School Universitas Airlangga
July, 10th – 11th, 2018, Surabaya, East Java, Indonesia
Postgraduate School Universitas Airlangga
Website: www.postgraduate.unair.ac.id Email: internationalconference@pasca.unair.ac.id



ACCEPTANCE LETTER

Ref: 1900/UN.3.1.15/PPd/2018

Dear Authors,

Paper ID : 17
Title : PROTEINS SIGNAL TRANSDUCERS AND ACTIVATORS TRANSCRIPTION
(STAT) 5b AS A CANDIDATE GROWTH PROMOTER ON BROILER
CHICKEN
Authors : Anwar Ma'Ruf, Ratna Damayanti and Nove Hidajati
Affiliation : Universitas Airlangga

We are pleased to inform you that your paper submitted to The 2nd International Conference Postgraduate School (ICPS 2018) has been **accepted for publication** in SCITEPRESS – Science and Technology Publications.

On behalf of the committee, we would like to thank you for your participation in The 2nd International Conference Postgraduate School (ICPS 2018). This conference would not have been a success without you.

Sincerely yours,



Dr. Suryani Dyah Astuti, M.Si.
Conference Chair

Supported by:

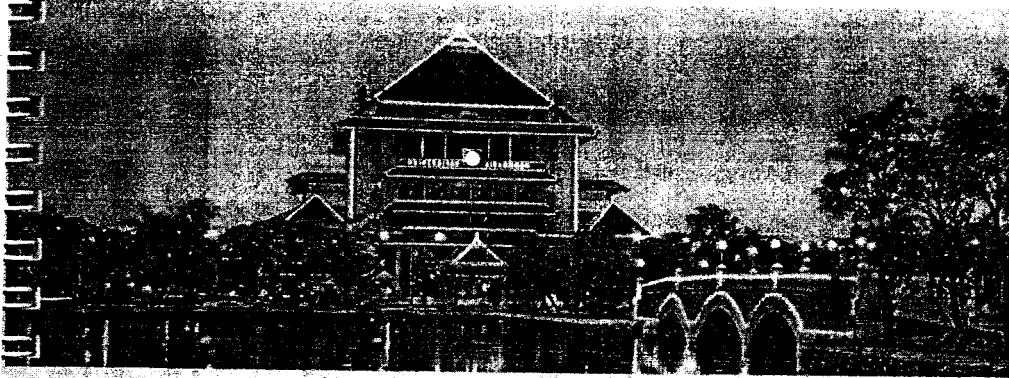


Organized by:



GUIDE BOOK

THE 2nd INTERNATIONAL CONFERENCE
POSTGRADUATE SCHOOL – ICPS 2018



**“Innovation of Technology and Bureaucracy
towards Good Governance to Improve The
Nation’s Competitiveness”**

Postgraduate School, Universitas Airlangga
Surabaya, July 10th-11th 2018

Supported by:

Sponsored by: Organized by:



July, 10th - 11th 2018, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia
The 2nd International Conference Postgraduate School (ICUPS 2018)

Topic: Life Science

Parallel Session 1 (13.00 – 15.00)

Tuesday, July 10th 2018

Room: R. Kuliah (208)- Postgraduate School

Moderator: Prof. Dr.Ir. Hari Suprpto, M.Sc.

NO	ID	Name	Title	Affiliation
1	17	Anwar Ma'Ruf, Ratna Damayanti and Nove Hidajati	Proteins Signal Transducers and Activators Transcription (STAT) 5b as A Candidate Growth Promoter on Broiler Chicken	Universitas Airlangga
2	18	Nove Hidajati, Anwar Ma'Ruf and Ratna Damayanti	Potential Protein Ghrelin as Materials for Energy Balance Settings Feed Efficiency of Broiler Chicken	Universitas Airlangga
3	23	Putu Angga Wiradana, Renita Efa Ratna Sari, Ida Bagus Gede Darmayasa and Ngarah Intan Wiratmini	Potential Test of <i>Saccharomyces</i> sp. Filtrate Culture to Inhibits the Growth of <i>Aspergillus flavus</i> FNCC6109 in Broiler Race Chicken Concentrate Feed Model	Universitas Udayana
4	39	Nunuk Lastuti, Poedji Hastutiek, Agus Sunarso and Dony Chrismanto	Antigenic protein of <i>Sarcoptes scabiei</i> Potentially as A Serological Diagnostic Candidate for Scabies in Goats.	Universitas Airlangga
5	41	M.A Hanny Ferry Fernanda, Reri Andriani, Zeli Estulenggani and Galuh Kusumo	Identification and Determination of Total Flavonoids in Ethanol Extract of Old and Young Angsana Leaves (<i>Pterocarpus Indicus Willd.</i>) Using Visible Spectrophotometry	Universitas Airlangga
6	51	Abdika Dwi Aflyanti, Didik Handijatno and Gandul Atik Yuliani	Leukocyte Count and Differential Leukocyte Count of Carp (<i>Cyprinus carpio</i> Linn.) After Infected by <i>Aeromonas salmonicida</i>	Universitas Airlangga
7	58	Achmad Khoirur Rozi	Evaluation of Implementation of Occupational Health Safety Management System (OHSMS) in PT. X Magetan East Java	Universitas Airlangga
8	61	Nur Prabowo Dwi Cahyo, Prima Ayu Wibawati, Hardany Primarizky, Ragil Angga Prastiya, Muhammad Thobawi Elzyad Purnama and Ratna Damayanti	The Effect of Tadpoles (<i>Rana catesbeiana</i>) Serum to Total and Differential Leukocytes Rats (<i>Rattus norvegicus</i>) That Induced Dimethylbenz- <i>a</i> -anthracene as An Animal Model Skin Cancer	Universitas Airlangga
9	67	Saikhu Husen, Salamun, Arif Ansoni, Raden Susilo, Suhailah Hayaza and Dwi Winarni	Antidiabetic and Antilipidemic Effects of Alpha-mangostin in Streptozotocin-induced Diabetic Mice	Universitas Airlangga
10	73	Aondoheмба Nege and Terhemen Akange	Amino Acid And Proximate Compositions Of Cultured And Wild <i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus 1758) From Makurdi-Nigeria	Universitas Airlangga

**THE 2ND INTERNATIONAL CONFERENCE
POSTGRADUATE SCHOOL
UNIVERSITAS AIRLANGGA**



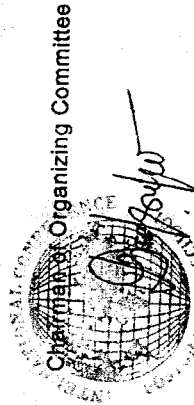
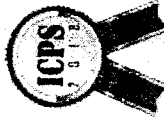
**Certificate
of Achievement**

We have undersigned do hereby proudly present this certificate of achievement for outstanding effort

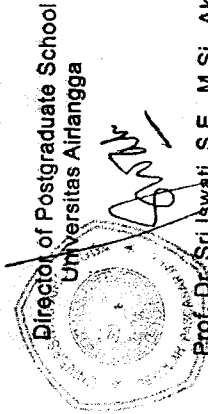
ANWAR MA'RUF

as Presenter

In the 2nd International Conference Postgraduate School on
Innovation of Technology and Bureaucracy Towards Good Governance
to Improve the Nation's Competitiveness



Dr. Suryani Dyah Astuti, S.Si., M.Si.



Prof. Dr. Sri Iwati, S.E., M.Si., Ak.

