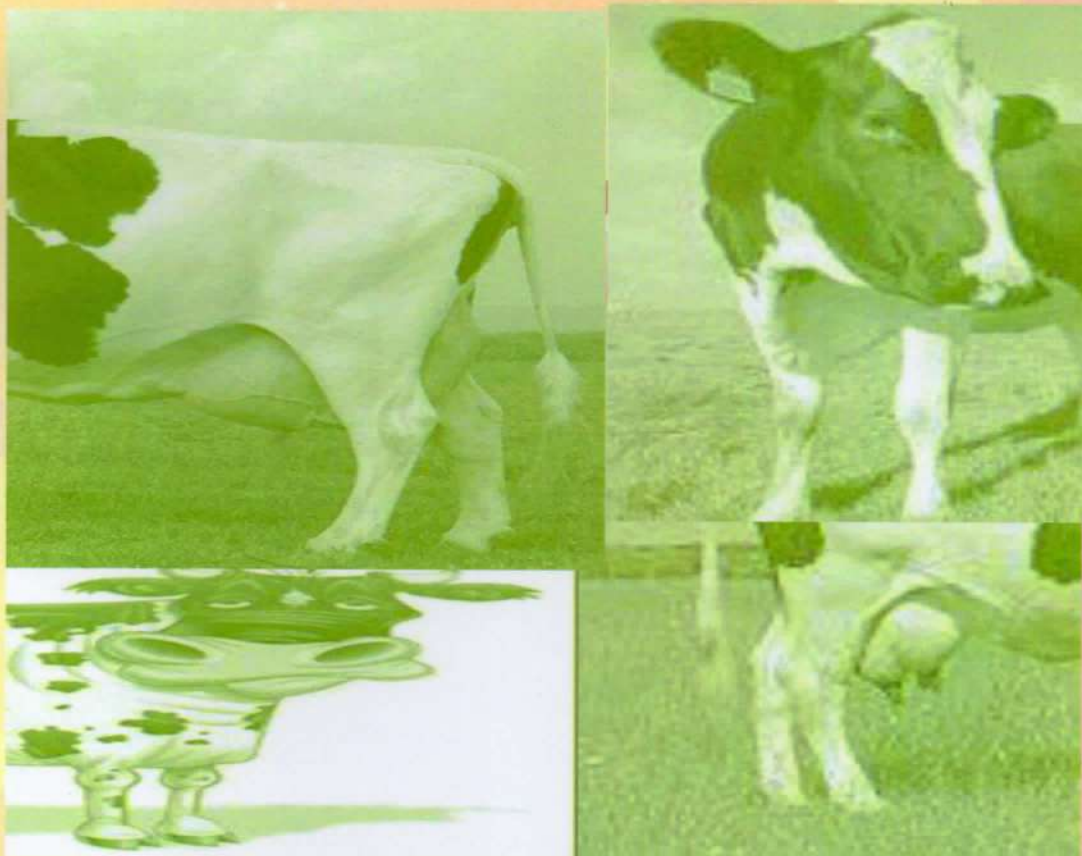


OVOZOA

Departemen Reproduksi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Unair



OVOZOA
Vol. 8, No. 1, April 2019
Terbit tiap 6 bulan, pada Bulan April dan Oktober

Susunan Dewan Redaksi

Ketua Penyunting
Budi Utomo

Sekretaris
Tri Wahyu Suprayogi

Bendahara
Sri Mulyati

Mitra Bestari
Prof. Dr. Ismudiono
Prof. Mas'ud Hariadi, PhD.
Prof. Dr. Imam Mustofa
Prof. Dr. Wurlina
Prof. Dr. Pudji Srianto

Penyunting Pelaksana
Suherni Susilowati
Sri Pantja Madyawati
Abdul Samik
Herry Agoes Hermadi
Rimayanti
Suzanita Utama

Penyunting Penyelia
Trilas Sardjito
Indah Nourma Triana
Tatik Hernawati
Tjuk Imam Restiadi
Hermin Ratnani
Erma Safitri

Alamat Redaksi: Departemen Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115. Telp. 031-5992785 –
5993016; Fax. 031-5993015. E-mail: ovozoa@yahoo.com

OVOZOA

Vol. 8, No. 1, April 2019

Terbit tiap 6 bulan, pada Bulan April dan Oktober

Uraian Umum

Ovozoa merupakan Jurnal yang memuat kumpulan artikel ilmiah di bidang Reproduksi Hewan, baik itu berupa hasil penelitian, artikel ulas balik, studi kasus, dan lainnya. Jurnal Ovozoa ini diarahkan menjadi e-Jurnal yang mewadahi baik lulusan Sarjana (S1) maupun S2 dan S3. Bidang konsentrasi dari Jurnal Ovozoa yaitu tentang kemajuan teknologi reproduksi (khususnya hewan), temuan-temuan yang berhubungan dengan reproduksi dan pengembangan reproduksi masa kini. Sebagai jurnal yang baru dibentuk, maka diharapkan dapat menampung hasil penelitian, khususnya karya ilmiah dari lulusan S1, maupun S2 dan S3 yang nantinya dapat disebar-luaskan bagi khalayak ilmiah dan umum. Salam dari redaksi.

Ketentuan Umum Penulisan Naskah

1. Ketentuan Umum

- a. Jurnal Ovozoa memuat tulisan ilmiah bidang Reproduksi Hewan, berupa hasil penelitian, artikel ulas balik dan laporan kasus khususnya bidang Reproduksi Hewan.
- b. Naskah/makalah harus orisinal dan belum pernah diterbitkan. Apabila diterima untuk dimuat dalam jurnal ovozoa, maka tidak boleh diterbitkan dalam jurnal atau media lain.

2. Standar Penulisan

- a. makalah diketik dengan jarak 2 spasi, kecuali Judul, Abstrak, Judul tabel dan tabel, Judul gambar, Daftar Pustaka dan Lampiran diketik menurut ketentuan tersendiri.
- b. Alinea baru dimulai 4 (empat) ketikan ke dalam atau (first line 0,4")
- c. Huruf Standar untuk penulisan adalah Time New Roman 12
- d. Memakai kertas HVS ukuran A4 (8,27 x 11,69")
- e. Menggunakan bahasa Indonesia, bahasa Indonesia dan bahasa Inggris untuk Abstrak
- f. Tabel/Ilustrasi/Gambar harus jelas, juga menyertakan *file scanning* (foto) terpisah dengan makalah dengan format JPG. Keterangan Tabel, Gambar atau penjelasan lain dalam lampiran diketik 1 (satu) spasi.

3. Tata cara penulisan naskah/makalah ilmiah

- a. Tebal seluruh makalah sejak awal sampai akhir maksimal 12-14 halaman
- b. Penulisan topik (Judul, Nama Penulis, Abstrak, Pendahuluan, Metode, dst) tidak menggunakan huruf kapital (sentence) tetapi menggunakan Title case dan diletakkan di pinggir (sebelah kiri)
- c. Sistematika penulisan makalah adalah Judul, Nama Penulis dan Identitas, Abstrak dengan Key words, Pendahuluan, Materi dan Metode, Hasil dan Pembahasan, Kesimpulan, Ucapan Terimakasih (bila ada), Daftar Pustaka dan Lampiran
- d. Judul harus pendek, spesifik, tidak boleh disingkat dan informative, yang ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris.
- e. Nama penulis di bawah judul, identitas dan instansi penulis harus jelas, disertakan e-mail diletakkan di bawah nama penulis
- f. Abstrak terdiri dari 200-250 kata, diketik 1 (satu) spasi dalam bahasa Indonesia dan Inggris

- g. Kata kunci (key words) maksimum 5 (lima) kata setelah abstrak.
 - h. Materi dan Metode memuat peralatan/bahan yang digunakan terutama yang spesifik.
 - i. Daftar Pustaka disusun secara alfabetik tanpa nomor urut. Singkatan majalah/jurnal berdasarkan tata cara yang dipakai oleh masing-masing jurnal. Diketik 1 (satu) spasi dengan paragraf hanging 0,3" dan before 3.6 pt. Proporsi daftar pustaka Jurnal/Majalah Ilmiah (60%), dan Text book (40%).
 - j. Tabel, Keterangan gambar atau Penjelasan lain dalam Lampiran diketik 1 (satu) spasi, dengan huruf Time New Roman 12
4. Pengiriman makalah dapat dilakukan setiap saat dalam bentuk cetakan (print out) sebanyak 1 (satu) eksemplar, dan soft copy dalam bentuk CD. Makalah dikirim ke alamat redaksi Jurnal OVOZOA, Departemen Reproduksi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo, Surabaya. 60115. Tlp. 031-5992785 ; 031-5993016, Fax. 031-5993015, E-mail: ovozoa@yahoo.com
5. Ketentuan Akhir
- Terhadap naskah/makalah yang dikirim, redaksi berhak untuk:
- a. memuat naskah/makalah tanpa perubahan
 - b. memuat naskah/makalah dengan perubahan
 - c. menolak naskah/makalah
6. Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah/makalah
7. Semua keputusan redaksi tidak dapat diganggu gugat dan tidak diadakan surat menyurat.

OVOZOA

Vol. 8, No. 1, April 2019

Terbit tiap 6 bulan, pada Bulan April dan Oktober

Daftar Isi

| | Halaman |
|--|---------|
| 1. Analisis Faktor Yang Mempengaruhi Kejadian Mastitis Subklinis Dan Klinis Pada Sapi Perah (Studi Kasus Di Koperasi Agribisnis Dana Mulya Kecamatan Pacet, Kabupaten Mojokerto) (Hefi Choirun Nisa, Bambang Purnomo, Tita Damayanti L, Mas'ud Hariadi, Romziah Sidik, dan Nenny Harijani) | 1 – 5 |
| 2. Kadar <i>Milk Urea Nitrogen</i> (MUN) Pada Sapi Peranakan <i>Friesian Holstein</i> (PFH) Berdasarkan <i>Calving Interval</i> yang Berbeda (Hanif Sabekti Pratama, Imam Mustofa, Widya Paramita Lokapirnasari, Pudji Srianto, Rimayanti, dan Suzanita Utama) | 6 – 9 |
| 3. Potensi Pemberian Ekstrak Buah Delima (<i>Punica granatum L</i>) Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Yang Terpapar Panas (Nucifera Fadhillah Santoso, Budi Utomo, dan Mirni Lamid) | 10 – 14 |
| 4. Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Staging Spermatogenesis Dan Sel Leydig Pada Mencit (<i>Mus musculus</i>) Yang Diinfeksi <i>Toxoplasma gondii</i> (Paraswita Eindah Fitri, Wurlina, Sri Chusniati, Lucia Tri Suwanti, Hani Plumeriastuti, dan Mufasirin) | 15 – 21 |
| 5. Pengaruh Penembakan Laserpunktur Pada Titik Reproduksi Itik Campbell (<i>Anas platyrhynchos domesticus</i>) Betina Terhadap Produktivitas Telur (Sena Sangga Renata, Tri Wahyu Suprayogi, A.T Soelih Estoepangestie, R.T. Santanu Adikara, Benjamin Chr. Tehupuring, dan Sri Hidanah) | 22 – 26 |
| 6. Efisiensi Reproduksi Sapi Potong Akseptor Inseminasi Buatan (IB) Di Kecamatan Tikung, Kabupaten Lamongan Tahun 2015 Dan 2016 (Laili Salisa Masruroh, Widya Paramita Lokapirnasari, dan Tjuk Imam Restiadi) | 27 – 31 |
| 7. Efek Pemberian L-Arginin Terhadap Gambaran Histologi Jumlah Spermatisot Primer Pada Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Terpapar Suhu Panas (Dirga Januar Surya Utama, Suhermi Susilowati, Tri Nurhajati, Tatik Hernawati, Erma safitri, dan Sri Mulyati) | 32 – 35 |
| 8. Profil Gen <i>Receptor Growth Hormone</i> (rGH) Pada Sapi Madrasin (Gigih Lesmana Arganata, Budi Utomo, dan R.T.S Adikara) | 36 – 41 |
| 9. Potensi Ekstrak Buah Pare (<i>Momordica charantia L.</i>) Terhadap Jumlah Sel Leydig Dan Hormon Testosteron Mencit (<i>Mus Musculus</i>) Jantan (Faradillah Hapsari Dwi Putri, Wurlina, dan Benjamin Christoffel Tehupuring) | 42 – 45 |
| 10. Pengaruh Bahan Pengencer Sari Kacang Kedelai (<i>Glycine max</i>) Terhadap Viabilitas Dan Nekrosis Spermatozoa Domba Sapudi (Kicky Hanis Immelda, Suhermi Susilowati, dan Ira Sari Yudaniayanti) | 46 – 52 |

| | |
|--|---------|
| 11. Profil Gen Growth Hormone (GH) Sapi Hasil Persilangan Madura Dan Limousin Dengan Metode PCR-RFLP (Ghea Aquatica Puteri, Budi Utomo S., dan Roesno Darsono) | 53 – 58 |
| 12. Hubungan Morfometri Dengan Produksi Susu Sapi Perah Peranakan <i>Friesian Holstein</i> (PHF) (Yudhistira Eka Putra, Sri Mulyati, dan Sri Mumpuni S.) | 59 – 63 |
| 13. Pengaruh Pemberian Jamur <i>Fusarium graminearum</i> Terhadap Histopatologi Tubulus Seminiferus Mencit (<i>Mus musculus</i>) (Fierda Kabayo, Abdul Samik, Soeharsono, Ismudiono, Hani Plumeriastuti, dan Tjuk Imam Restiadi) | 64 – 70 |
| 14. Pengaruh Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia</i>) Terhadap Folikel Ovarium Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Dalam Kondisi Hyperglycemic (Ganeswara Muharam Hazmi Rezady, Hani Plumeriastuti, dan Rimayanti) | 71 – 75 |
| 15. Pengukuran Nilai Kondisi Ternak (NKT), <i>Conception Rate</i> (CR), <i>Service Per Conception</i> (S/C) Pada Sapi Crossbreed Limousin Di Kecamatan Balongpanggang Kabupaten Gresik (Fajar Septian H., Imam Mustofa, dan Bambang Sektiari L.) | 76 – 81 |
| 16. Potensi Teknologi Inseminasi Buatan Pada Peningkatan Produktivitas Itik Turi Lamongan (Tjuk Imam Restiadi, Tatik Hernawati, Dadik Rahardjo, dan Thomas V. Widiyatno) | 82 – 88 |

**PROFIL GEN GROWTH HORMONE (GH) SAPI HASIL PERSILANGAN
MADURA DAN LIMOUSIN DENGAN METODE PCR-RFLP**

**GROWTH HORMONE (GH) GENE PROFILE OF MADURA CATTLE CROSS
BREEDING LIMOUSIN CATTLE WITH PCR RFLP METHOD**

Ghea Aquatica Puteri¹⁾, *Budi Utomo S²⁾, Roesno Darsono³⁾

¹⁾Student, ²⁾Department of Veterinary Reproduction, ³⁾Departement of Veterinary Pathology
Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga

*Corresponding author: budi_reprovet@yahoo.com; gheaaquatica@yahoo.co.id

ABSTRACT

The purpose of this research was to find out the Growth Hormone (GH) gene profile of the cross breeding between Madura cattle and Limousin cattle (Madrasin). Sampl in the form of cattle blood for this research was obtained from 14 Madrasin cattles in the area of Bangkalan, Madura, East Java. DNA extraction was performed then to provide the result for PCR RFLP, which then indicated that Madrasin cattle's GH gene profile has 432 base pair fragment length and the RFLP result indicated that Madrasin cattle's GH genetic was cut off into 180 base pair, 250 base pair, 300 base pair, and 400 base pair. Moreover, there was no V genetic to be found in GH genetic of Madura cattle.

Keyword : Madura cattle, Limousin cattle, cross breeding, Growth Hormone, PCR-RFLP.

Latar Belakang

Salah satu sapi potong lokal Indonesia yang banyak dipilih oleh masyarakat Indonesia untuk ditanakan khususnya di daerah Jawa Timur adalah sapi Madura. Sapi Madura merupakan sapi lokal Indonesia yang memiliki kemampuan berkembang biak yang baik dalam lingkungan dan agroekosistem yang kering di Pulau Madura (Wijono dkk., 2004). Keunggulan genetik sapi Madura adalah mampu beradaptasi di lingkungan beriklim tropis, mampu beradaptasi terhadap pakan bernilai gizi rendah, dan tahan terhadap penyakit (Nurgiantiningsih, 2011). Namun dari beberapa keunggulan yang dimiliki, sapi Madura memiliki kelemahan yaitu jarak kelahiran anak yang panjang, rendahnya kinerja biologis, dan laju pertumbuhan yang lambat. Hal ini sering menjadi masalah bagi para peternak sapi Madura (Rifai dkk., 2012). Presentase laju pertumbuhan sapi Madura hanya mencapai 1% per tahun, sedangkan persilangan sapi Madura dan sapi Limousin presentase laju pertumbuhannya mencapai 2,26% per tahun (Dinas Peternakan Kabupaten Pamekasan, 2011). Dalam waktu 3 – 4 tahun sapi hasil persilangan Madura dan Limousin atau yang biasa disebut Madrasin memiliki bobot 850 kg (Kutsiyah, 2012).

Salah satu faktor yang mempengaruhi adanya perubahan dari presentase laju pertumbuhan adalah *Growth Hormone* (GH). *Growth Hormone* sendiri dibutuhkan dalam pertumbuhan jaringan, metabolisme lemak, reproduksi, dan laju pertumbuhan tubuh (Beauchemin *et al.*, 2006). Pertumbuhan pada sapi dikendalikan oleh sistem yang komplek dari *somatropic axis*. Gen yang menjalankan *somatropic axis* bertanggung jawab terhadap pertumbuhan setelah kelahiran (*post natal*), terutama GH yang berperan terhadap pertumbuhan tulang dan otot yang dimediasi oleh IGF-1 (Sellier, 2000).

Banyaknya kejadian perkawinan silang pada sapi, hal ini menimbulkan variasi dari *Growth Hormone* yang salah satunya telah dilaporkan oleh Schlee *et al.*, (1994) yang menemukan adanya variasi gen pengkode hormon pertumbuhan pada sapi pedaging jenis Bavarian Simmental. Adanya variasi dari gen *Growth Hormone* pada sapi dapat mempengaruhi produksi sapi seperti susu dan penambahan berat badan (Yao *et al.*, 1996; Schlee *et al.*, 1994).

Variasi lokus gen hormon pertumbuhan berhubungan dengan terjadinya variasi rerata pertumbuhan. Schlee *et al.*, (1994) menyatakan bahwa terjadinya variasi pada lokus gen hormon pertumbuhan menye-

babkan perbedaan genotipe dari gen pertumbuhan yang menyebabkan perubahan konsentrasi sirkulasi gen hormon pertumbuhan dan IGF-1 yang terjadi pada sapi jenis Simmental. Variasi dari *Growth Hormone* dapat menimbulkan pengaruh yang positif maupun negatif. Adanya teknologi biomolekuler variasi dari *Growth Hormone* dapat di deteksi secara lebih akurat (Cunningham, 1994; Hoj *et al.*, 1993). Salah satu teknik biomolekuler yang dapat mengidentifikasi adanya variasi *Growth Hormone* adalah *Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) dengan menggunakan enzim restriksi (Unanian *et al.*, 1994). RFLP sendiri memiliki kemampuan untuk mendeteksi tingkat polimorfisme yang tinggi dan telah banyak digunakan sebagai alat untuk mengidentifikasi gen-gen yang menghasilkan sifat yang penting (Montaldo *et al.*, 1998).

Gen GH sapi atau *bovine growth hormone* terletak kromosom ke 19 (Tatsuda *et al.*, 2008). Ditemukan adanya polimorfisme pada gen GH (Dario *et al.*, 2005), salah satunya adalah dengan substitusi dari *Leucine* (L) ke *Valine* (V) pada posisi 127 di exon 5 pada gen GH yang mana dapat diketahui setelah dilakukannya PCR-RFLP menggunakan enzim restriksi *AluI* (Hradecka *et al.*, 2008). Enzim restriksi *AluI* akan memunculkan asam amino *Leusine* (L) pada posisi 127 di rantai polipeptida dari GH, jika tidak adanya *Leusine* (L) pada rantai polipeptida maka mengindikasikan adanya *Valine* (V) pada posisi yang sama (Lucy *et al.*, 1993; Switonski, 2002).

Mengingat pentingnya kajian biologi molekuler dan terbatasnya tentang pengetahuan dari profil gen *Growth Hormone* sapi hasil persilangan Madura dan sapi Limousin sehingga terdapat perbedaan dalam laju pertumbuhan antara sapi Madura dan sapi hasil persilangan Madura dan Limousin, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui profil gen *Growth Hormone* sapi hasil persilangan Madura dan sapi Limousin dengan metode PCR-RFLP.

Materi dan Metode

Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni – Oktober 2017. Tempat pelaksanaan PCR-RFLP dilaksanakan pada Balai Besar

Veteriner Denpasar, Bali. Sedangkan untuk pengambilan sampel darah sapi hasil persilangan Madura dan Limousin diambil di Kabupaten Bangkalan, Madura, Jawa Timur.

Pengambilan Sampel

Sampel yang diambil berupa darah dari sapi hasil persilangan Madura dan Limousin jenis kelamin jantan dan berumur kurang lebih 2 tahun. Sampel diambil sebanyak 14 ekor yang diambil acak di kabupaten Bangkalan. Pengambilan darah melalui vena jugularis sapi Madura hasil persilangan sebanyak 5 ml yang kemudian dimasukkan ke dalam tabung EDTA.

Ekstraksi DNA

DNA dari sample darah sapi hasil persilangan Madura dan Limousin di ekstraksi dengan cara memasukan 10 ml sample darah ke dalam *ependorf tube* steril kemudian ditambahkan dengan 180 uL *buffer ATL* dan 20 uL protease yang kemudian vortex sebentar dan inkubasi pada suhu 56°C dalam waktu 1 – 3 jam. Selama inkubasi tube diangkat sebentar dan digoyangkan. Vortex kembali selama 15 detik kemudian ditambahkan 200 uL *buffer AL*, lalu vortex sebentar. Tambahkan ethanol 96 - 100% lalu vortex sebentar.

Semua campuran diatas dimasukan ke dalam *tube Dneasy Mini Spin Column* yang disangga oleh *tube* 2 ml, kemudian ditambah 500 uL larutan buffer AW 1 lalu *centrifuge* dengan kecepatan 8000 rpm dalam waktu 1 menit. Campuran yang berada dalam *tube Dneasy Mini Spin Column* dipindahkan ke tube 2 ml yang baru, kemudian ditambahkan 500 uL buffer AW 2 dan *centrifuge* kembali dengan kecepatan 1400 rpm selama 3 menit. Kemudian *tube* 2 ml yang digunakan sebagai penyangga dibuang dan diganti oleh tube 1,5 ml yang baru. Campuran yang berada di dalam *tube DneasyMini Spin Column* ditambahkan 200 uL *buffer AE* kemudian diinkubasi selama 1 menit pada suhu ruangan. Untuk langkah terakhir dilakukan *centrifuge* dengan kecepatan 8000 rpm dalam waktu 1 menit untuk mengambil DNA.

Primer *Growth Hormone*

Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi ruas gen GH berpacu pada pene-

litian sebelumnya dari Sumantri (2010) tentang Pemanfaatan Famili Gen Hormon Pertumbuhan (GH, GHR, GHRH dan PIT-1) untuk Mendeteksi Keragaman Genetik Kerbau di Kabupaten Pandeglang dan Lebak Provinsi Banten dan Misrianti (2011) tentang Growth Hormone Gene Polymorphism and Its Association with Partial Cumulative Milk Yields of Holstein Friesian Dairy Cattle yang diambil dari Balogh., et al (2009)

Forward: 5'AGAATCAGGCCCCAGCAGA AATC-3'

Reverse: 5'GTCGTCCTGCGCATGTTT G-3' Yang menghasilkan produk amplikasi sepanjang 432 *basepair* (bp).

Amplifikasi ruas gen GH dengan Metode PCR

Amplifikasi gen GH dilakukan dengan metode PCR dimulai dengan denaturasi awal pada suhu 94°C selama 2 menit, diikuti dengan 35 siklus berikutnya masing-masing denaturasi 94°C selama 45 detik, dengan suhu annealing : 65°C x 30 detik, yang dilanjutkan dengan satu siklus ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit dengan menggunakan *GeneAmp PCR System 24000 ThermoCycler* (Perkin Elmer).

Deteksi situs pemotongan dengan metode PCR RFLP

Produk PCR yang diperoleh dari masing-masing gen target kemudian dianalisis menggunakan RFLP melalui pemotongan menggunakan enzim restriksi yang memiliki situs pemotongan pada gen GH|*Ahu*I. Sebanyak 4 uL DNA produk PCR ditambahkan 0,5 uL, selanjutnya diinkubasi selama 17 jam pada suhu 37°C.

Elektroforesis

DNA dilihat oleh elektroforesis horizontal dengan 1,5 % gel agarosa. Gel agarosa dibuat untuk mencampur agarosa ke penyangga 1 X TAE dan mendidih di microwave selama 30 detik kemudian meninggalkannya sampai suhu 60°C dan menambahkan 0,12 ml / ml ethidium-bromide sehingga DNA dapat dilihat dibawah sinar UV. Melakukan elektroforesis selama 90 menit (tergantung pada konsentrasi gel dan voltatio), 55 volt. DNA dapat dilihat di ruang gelap dengan sinar UV dan

mengambil gambar dengan Gel Doc 2000 menggunakan filter merah.

Penyajian Data

Profil dari gen hormon pertumbuhan pada sapi hasil persilangan Madura dan Limousin dapat diketahui setelah melakukan PCR yang dilanjutkan dengan RFLP kemudian hasil akan disajikan secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Sample darah sebanyak 14 ekor sapi hasil persilangan Madura dan Limousin (Madrasin) dilakukan PCR untuk mendeteksi adanya gen *Growth Hormone* (GH), hasil dari PCR menunjukkan adanya 14 *band* gen GH dengan menggunakan primer gen GH. Hasil positif ditunjukkan dengan Gambar 1.

Hasil penelitian *Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR RFLP)

Setelah terdeteksi adanya gen GH pada sapi hasil persilangan Madura dan Limousin (Madrasin) menggunakan metode PCR, selanjutnya dilakukan RFLP atau pemotongan DNA gen GH dengan menggunakan enzim restriksi *Ahu*I (5'-AG | CT - 3'). Hasil dari RFLP adalah 14 sample gen GH terbagi menjadi 4 band, yaitu 180 bp, 250 bp, 300 bp, dan 400 bp. Metode RFLP ini memotong gen GH sapi Madrasin dengan enzim restriksi *Ahu*I. Tujuan pemotongan ini adalah untuk mengetahui profil dan perbedaan gen GH sapi Madrasin. Dilihat dari Gambar 2. gen GH terbagi dalam 2 genotipe yaitu LL (180 bp, 250 bp, dan 400 bp) dan LV (180 bp, 250 bp, 300 bp dan 400 bp). Untuk lajur 4 diduga mengalami mutasi karena ditemukan gen GH pada dengan panjang 300 bp, hal ini dapat disebabkan karena susunan kimia gen atau kromosom gen GH sapi Madrasin lajur 4.

Enzim restriksi dapat mengenali gen GH pada tempat pemotongan, hal ini disebabkan sekuen DNA pada tempat pemotongan tidak mengalami mutasi. Sehingga kodon triplet yang terbentuk adalah CTG yang menyandi alel *Leusin* (L) (Woychick *et al.*, 1982). Alel L sendiri ditunjukkan

dengan panjang fragmen 180 bp, 250 bp, dan 400 bp.

Keanekaragaman pada gen GH sapi Madrasin ditunjukkan dengan adanya alel V yang dihasilkan karna adanya mutasi atau perubahan basa yang menyebabkan terjadinya perubahan asam amino *serine* (C) menjadi *glycine* (G). Akibat perubahan ini terbentuk kodon triplet GTG yang menyandi asam amino *valine* (V) (Zhang *et al.*, 1992). Alel V sendiri ditunjukkan dengan panjang fragmen 180 bp, 250 bp, 300 bp dan 400 bp. Menurut penelitian Lesmana (2017) tentang *receptor Growth Hormone* yang diretribusi menggunakan enzim *AluI* didapatkan situs pemotongan yang juga disebabkan karna adanya perubahan asam amino *serine* (C) menjadi *glycine* (G) yang di deteksi pada fragment sepanjang 81 bp dikenal sebagai alel G.

Pada hasil RFLP dari *Growth Hormone* sapi hasil persilangan Madura dan Limousin didapatkan *band* yang memiliki tebal tipis yang berbeda-beda. Hal ini dapat disebabkan karna berbagai hal sesuai dengan pernyataan Todd (2012), salah satunya adalah waktu *annealing* yang terlalu singkat, sehingga primer tidak memiliki cukup waktu untuk mengikat template. Waktu yang disarankan adalah 1-2 menit dan temperatur saat *annealing* terlalu tinggi sehingga primer tidak dapat mengikat template. Suhu yang disarankan adalah 55°C – 60°

Frekuensi Genotipe dan Alel gen GH

Hasil perhitungan alel seperti yang dijelaskan pada Tabel 1. menunjukkan populasi sapi hasil persilangan Madura dan Limousin bersifat polimorfik atau memiliki keragaman alel. Ditunjukkan dengan frekuensi alel L sapi Madrasin 0,96. Menurut

Harris (1994), jika frekuensi alel yang umum tidak lebih dari 0,99 maka populasi sapi yang diteliti bersifat polimorfik. Hal ini berbeda dengan penelitian Volkandari (2013) tentang Frekuensi alel sapi Madura yang menunjukkan 1,00 yang berarti populasi sapi yang diteliti bersifat monomorfik.

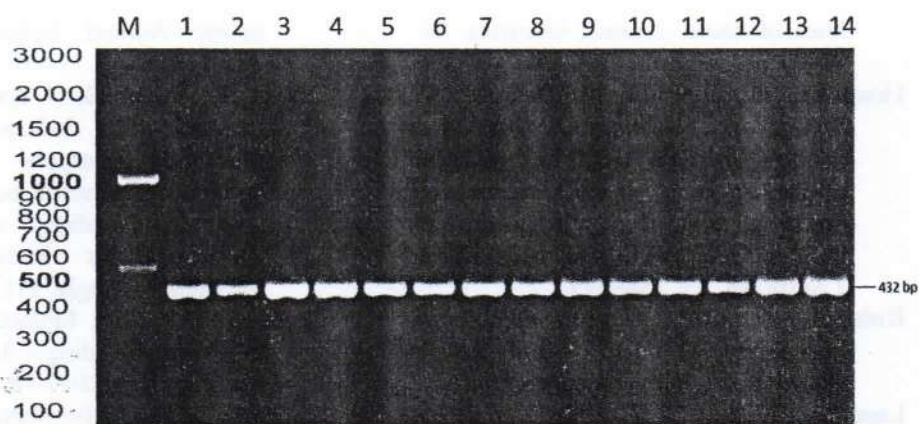
Hasil analisis gen GH sapi hasil persilangan Madura dan Limousin ditemukan frekuensi alel V sebesar 0,075, sedangkan pada hasil penelitian Volkandari., dkk (2013) frekuensi alel V pada sapi Madura menunjukkan 0,00 atau tidak ditemukan adanya alel V. Hal ini sesuai dengan penelitian Rachman (2011), yang menemukan genotipe semen beku sapi Limousin yang digunakan dalam IB di kecamatan Larangan, Kabupaten Pamekasan. Secara berturut-turut alel L dan V yang terdeteksi memiliki frekuensi 0,67 dan 0,33 dan 0,82 dan 0,18. Hal ini membuktikan bahwa sapi Limousin memiliki alel V yang tidak dimiliki oleh sapi Madura.

Kesimpulan

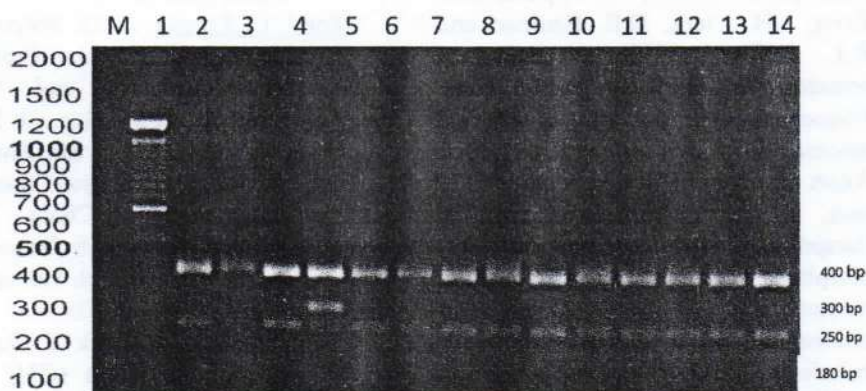
Hasil *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari gen *Growth Hormone* (GH) sapi hasil persilangan Madura dan Limousin (Madrasin) mendapatkan panjang fragmen 432 bp. Berdasarkan hasil *Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) yang memotong fragmen gen GH sapi hasil persilangan Madura dan Limousin menjadi genotipe LL (180 bp, 250 bp, dan 400 bp) dan genotipe LV (180 bp, 250 bp, 300 bp dan 400 bp). Hasil dari PCR RFLP sapi hasil persilangan Madura dan Limousin (Madrasin) memiliki alel V yang dimiliki juga oleh sapi Limousin, sedangkan tidak dimiliki oleh sapi Madura.

Tabel 1. Frekuensi genotip dan alel gen GH pada sapi Madrasin. Keterangan LL, LV dan VV = genotip homozigot L dan V = Alel

| Bangsa (<i>breed</i>) | N | Frekuensi genotip (<i>genotype frequency</i>) | | | Frekuensi alel (<i>allele frequency</i>) | |
|-------------------------|----|---|-------|-------|--|-------|
| | | LL | LV | VV | L | V |
| Madrasin | 14 | 0,928 | 0,017 | 0,000 | 0,96 | 0,075 |



Gambar 1. Hasil elektroforesis PCR dengan primer gen GH sapi Madrasin. Lajur M : Marker, Lajur 1-14 merupakan hasil elektroforesis gen GH sapi madrasin dengan panjang 432 bp.



Gambar 2. Hasil elektroforesis dari PCR-RFLP menggunakan enzim restriksi *AluI* gen GH sapi Madrasin. Lajur M : Marker, Lajur 1-3 dan 5-14 genotip LL (180 bp, 250 bp, dan 400 bp), Lajur 4 genotip LV (180 bp, 250 bp, 300 bp dan 400 bp).

Daftar Pustaka

- Balogh, O., K. Kovacs, M. Kulcsar, A. Gaspardy, H. Febel, A. Zsolnai, L. Fesus, C. Delavaud, Y. Chilliard, R. O. Gilbert, and Gy. Huszenicza. 2009. Interrelationship of growth hormone *AluI* polymorphism and hyperketonemia with plasma hormones and metabolites in the beginning roles. *Annual Review of Physiology*. 63: 141-164.
- Beauchemin, V.R., M.G. Thomas, D.E. Franke and G.A. Silver. 2006. Evaluation of DNA polymorphisms involving growth hormone relative to growth and carcass characteristics in Brahman steers. *Genet. Mol. Res.* 5:438-447.
- Cunningham, E.P. 1994. The use of bovine somatotropin in milk production a review [Review]. *Irish Veterinary Journal*. 47: 207-210.
- Dario, C Carnicella D, Bufano G. 2005 . A note on the growth hormone (GH1-*AluI*) polymorphism in Podolian cattle in Southern Italy. *Anim Sci Pap Rep.* 23: 43-49.
- Dinas Peternakan Kabupaten Pamekasan. 2011. Data Populasi Ternak. Dinas Peternakan Kabupaten Pamekasan. Pamekasan.
- Harris, H. 1994. *Dasar-Dasar Genetika Biokemis Manusia*. Edisi Ketiga, diperbaharui penerjemah: dr. Abdul Salam M. Sufro, Ph.D. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- 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. *Animal Genetics*. 24: 91-96.
- Hradecka, E., J. Čitek, L. Panicke, V. Řehout, L. Hanusova. 2008. The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires. *Czech J Anim Sci*. 53: 238-245.
- Kutsiyah, F. 2012. Analisis Pembibitan Sapi Potong di Pulau Madura. Fakultas Pertanian. Universitas Madura.
- Lesmana, G.A. 2017. Profil reseptor Growth Hormone (rGH) pada sapi Madrasin [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- 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
- Misrianti, R., C. Sumantri and A. Farajallah. 2010. Identification polymorphism of pituitary-specific positive transcription factor1 (Pit1) gene in Indonesian local buffalo (*Bubalus bubalis*) and Holstein-Friesian cows. *Media Petern*. 33: 131-136.
- Montaldo, H.H. and C.A.M. Herrera. 1998. Use of Molecular Markers and Major Genes in The Genetic Improvement of Livestock. *EJB Unversidad Catolica de Valparaso-Chili*.
- Nurgartiningih, V. M. A. 2011. Peta Potensi Genetik Sapi Madura Murni di Empat Kabupaten di Madura. *Jurnal Ternak Tropika*. 12 (2): 23-32.
- Rachman, M. P. 2011. Polimorfisme gen Growth Hormone (GH) pada sapi Madura dan Persilangan Limousin-Madura. Tesis. Program Studi Bioteknologi, Jurusan Antar Bidang, Program Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Rifai, Ahmad dan F. Kutsiyah. 2012. Service per Conception Sapi Madura yang dikawinkan dengan Sapi Limousin di Kecamatan Proppo Kabupaten Pamekasan. Fakultas Pertanian Universitas Madura. Pamekasan.
- Sellier, P. 2000. Genetically caused retarded growth in animals. *Journal Domestic Animal Endocrinology*. 19: 105-119.
- Schlee, P., R. Graml, O. Rottmann, and F. Pirchner. 1994. Influence of growth-hormone genotypes on breeding values of simmental bulls. *Journal of Animal Breeding and Genetics Zeitschrift fur Tierzucht und Zuchtungsbiologie*. 111: 253-256.
- Switonski, M. 2002. Molecular genetics in beef cattle breeding – A review. *Anim. Sci. Pap. Rep*. 20: 7-18.
- Tatsuda K, Oka A, Iwamoto E, Kuroda Y, Takeshita H, Kataoka H, Kouno S. . 2008. Relationship of the bovine growth hormone gene to carcass traits in Japanese black cattle. *J Anim Breed Gene*; 125: 45-49.
- Todd, C. Lorenz. 2012. Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategies. *J Vis Exp*. 63: 3998.
- Unanian, MM. DeNise SK, Zhang HM, and Ax RL, 1994. Rapid Communication: Polymerase Chain Reaction-Restriction Length Polymorphism in the Bovine Growth Hormone Gene. *J. Anim. Sci*. 72: 2203.
- Volkandari S., Hartatik T, Sumadi. 2013. Growth hormone (GH) gene polymorphism of Limura cattle. *Buletin Peternakan*. 37(2): 67-73.
- Wijono, D B., B. Setiadi. 2004. Potensi Keragaman Sumberdaya Genetik Sapi Madura. *Lokakarya Sapi Potong Pasuruan*. 42.
- Woychick, RP., S.A. Camper, R.H. Lyons. 1982. Cloning and nucleotide sequencing of the bovine growth hormone gene. *Nucleic Acid Res*. 10(22): 7197-7210.
- Yao, J.; Anggrey, S.E.; Zadworny, D.; Hayes, J.F. and Kunhlein, U. 1996. Sequence variations in the bovine growth hormone gene characterized by single strand confirmation polymorphism (SSCP) analysis and their association with milk production trait in Holstein. *Genetics*. 144: 1809-1816.
- Zhang, HK., KC Maddock, DR Brown, SK DeNise and RL Ax. 1992. Bovine Growth Hormone Gene Frequencies in Samples of U.S. AI Bulls. *J. Anim. Sci*. 71 (Suppl.1): 93.