

Evaluasi Keragaman Genetik Gen Hormon Pertumbuhan (GH) pada Sapi Pesisir Sumatera Barat Menggunakan Penciri PCR-RFLP

Jakaria^a, D. Duryadi^b, R.R. Noor^a, B. Tappa^c & H. Martojo^a

^aDepartemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga Bogor 16680, email: jakaria@ipb.ac.id

^bFakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor

^cPusat Penelitian Bioteknologi LIPI

(Diterima 14-12-2006; disetujui 15-02-2007)

ABSTRACT

A total of 134 Pesisir cattle were genotyped for growth hormone (GH) gene by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The genotype and allele frequencies of the GH MspI and GH AluI Pesisir cattle were determined. The GH MspI gene frequencies for the C and T allele were 0.209 and 0.791 respectively, while GH AluI gene frequencies for the L and V allele were 0.992 and 0.008 respectively. The chi-square analysis indicated that this population is not in Hardy-Weinberg Equilibrium status. Expected heterozygosis value (H_e) for GH MspI and GH AluI were 0.3306 ± 0.0266 and 0.0149 ± 0.0073 respectively. The PCR-RFLP GH MspI marker has higher genetic variability compare to PCR-RFLP AluI marker. This finding showed that GH MspI T allele was favorable as a GH marker for *Bos indicus* breeds.

Key words: Pesisir cattle, growth hormone gene, PCR-RFLP, polymorphism

PENDAHULUAN

Sapi Pesisir merupakan salah satu bangsa sapi lokal Indonesia yang memiliki penampilan dengan bentuk dan ukuran tubuh paling kecil dibandingkan dengan sapi lokal lainnya seperti bangsa sapi Bali, sapi Peranakan Ongol (PO), sapi Madura dan sapi Aceh. Sebagai sapi lokal, sapi Pesisir Sumatera Barat memiliki beberapa keunggulan yaitu mampu bertahan hidup pada kondisi lingkungan kurang baik dan memiliki efisiensi reproduksi yang tinggi (Sarbaini, 2004).

Beberapa aspek yang perlu diperhatikan dalam karakterisasi suatu bangsa atau populasi tertentu adalah fenotipe, fisiologi dan sifat reproduksi, asal, habitat, distribusi geografi dan beberapa parameter genetik (Vasconcellos *et al.*, 2003). Karakterisasi struktur genetik populasi, bangsa atau spesies dapat menyediakan berbagai informasi dalam pengembangan strategi pemuliaan, program konservasi genetik, juga untuk menentukan metode seleksi yang tepat, baik secara konvensional maupun non konvensional.

Penciri molekuler DNA *restriction fragmen length polymorphism* (RFLP) memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi dan secara luas telah digunakan untuk mendapatkan gambaran populasi genetik dan juga untuk mengidentifikasi gen-gen yang mengkode sifat-sifat penting (Montaldo & Herrera, 1998). Teknik ini semakin intensif digunakan sebagai penciri genetik karena memiliki beberapa keunggulan diantaranya yaitu perbanyakkan DNA secara cepat dengan memakai *polymerase chain reaction* (PCR) dan polimorfisme fragmennya dilakukan dengan enzim restriksi, sehingga mampu mengidentifikasi genotipe secara jelas.

Sekuen gen hormon pertumbuhan (GH) pada sapi *Bos taurus* memiliki panjang 2856 pasang basa (bp) dengan daerah *coding* 1826 bp yang terdiri atas lima *exon* dan empat *intron* (Woychick *et al.*, 1982; Gordon *et al.*, 1983) terletak di kromosom 19 (Hediger *et al.*, 1990). Beberapa polimorfisme telah ditemukan pada gen hormon pertumbuhan (GH) sapi yaitu pada *intron 3* dan *exon 5* (Zhang *et al.*, 1993). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman genetik gen hormon pertumbuhan (GH) pada sapi Pesisir Sumatera Barat.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu

Analisis DNA dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler, Pusat Studi

Ilmu Hayati, LPPM IPB yang berlangsung sejak September 2004 sampai dengan Oktober 2006.

Ternak

Sampel darah sapi Pesisir berjumlah 134 sampel berasal dari Kabupaten Pesisir Selatan sebanyak 99 sampel, terdiri atas 22 ekor jantan dan 77 ekor betina. Sampel dari Kabupaten Padang Pariaman sebanyak 35 sampel terdiri atas 1 ekor jantan dan 34 ekor betina. Sampel darah tersebut diambil melalui *vena jugularis* menggunakan tabung *venoject* vakum tanpa heparin, kemudian diawetkan dalam etanol absolut (Sarbaini, 2004).

Penciri (Marker)

Amplifikasi gen hormon pertumbuhan (GH) pada sapi Pesisir menggunakan dua set primer (Tabel 1) yang diketahui bahwa kedua set primer tersebut memiliki polimorfisme (Mitra *et al.*, 1995; Reis *et al.*, 2001). Fragmen yang dihasilkan dari sekuen primer PCR-RFLP *MspI* memiliki panjang produk 327 bp yang berada pada posisi *intron ke-3* dan *ekson ke-4* gen hormon pertumbuhan (Mitra *et al.*, 1995), sedangkan sekuen primer PCR-RFLP *AluI* memiliki panjang produk 211 bp pada posisi *intron ke-4* dan *ekson ke-5* (Reis *et al.*, 2001).

Tabel 1. Sekuen oligonukleotida yang digunakan untuk mengamplifikasi gen hormon pertumbuhan pada sapi Pesisir

Tipe penciri	Sekuen primer	Acuan
PCR-RFLP <i>MspI</i>	F 5'-CCC ACG GGC AAG AAT GAG GC-3' R 5'-TGA GGA ACT GCA GGG GCC CA-3'	Mitra <i>et al.</i> (1995)
PCR-RFLP <i>AluI</i>	F 5'-GCT GCT CCT GAG GGC CTT C-3' R 5'-CAT GAC CCT CAG GTA CGT CTC CG-3'	Reis <i>et al.</i> (2001)

Keterangan : F = Forward, R = Reverse.

Isolasi DNA Total

Sampel darah yang telah diawetkan dengan etanol absolut dicuci dengan TE (Tris HCl-EDTA) konsentrasi rendah. Setiap pencucian campuran disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama dua menit dan pencucian diulang sebanyak 3-5 kali.

Isolasi DNA total dilakukan dengan menggunakan metode fenol yang dimodifikasi (Sambrook *et al.*, 1989). Darah yang telah dicuci diambil sebanyak 300 ml ditempatkan di dalam tabung *ependorf* 1,5 ml, kemudian ditambah *lysis buffer* (0,32 M sukrosa, 1% v/v triton X-100, 5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl pH 7,4) sama dengan volume sampel darah dan digerus sampai halus. Selanjutnya disentrifugasi 6500 rpm selama satu menit dan supernatan dibuang. Endapan ditambah *rinse buffer* (75 mM NaCl, 50 mM titriplex III EDTA pH 8,0) sebanyak 200 ml. Campuran dikocok dengan vortex sampai homogen lalu tambahkan *digestion buffer* (SDS 1% v/v, 0,5 mM EDTA pH 8,0, 1M NaCl, 0,5 mM Tris-HCl pH 9,0 dan ditambah 0,1 mg/ml RNase serta 0,5 mg/ml protease K) sebanyak 500 ml dan dikocok sampai homogen, setelah itu diinkubasi dalam *water bath* suhu 55°C selama ± 16 jam.

Setelah inkubasi, campuran diekstraksi dengan penambahan fenol sebanyak 500 ml, lalu dikocok sampai homogen selama 20 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama tiga menit. Supernatan dipindahkan ke *ependorf* baru dan ditambahkan klorofom : isoamil-alkohol (24:1)

sebanyak 500 ml dan dikocok lagi selama 20 menit, kemudian disentrifugasi 13000 rpm selama tiga menit. Supernatan dipindahkan kembali ke tabung *ependorf* baru dan ditambahkan etanol absolut dua kali volume sampel, dan dibiarkan sebentar, kemudian disentrifugasi 13000 rpm selama lima menit dan supernatan dibuang, diganti dengan etanol 70%, lalu disentrifugasi kembali 13000 rpm selama lima menit. Larutan etanol 70% dibuang dan pelet (DNA) dikeringkan pada suhu kamar. Setelah kering pelet (DNA) ditambah larutan TE (1 mM EDTA pH 8,0, 10 mM Tris-HCl pH 8,0) sebanyak 100 ml dan diinkubasi suhu 37°C selama 15 menit. Sampel DNA total disimpan di *freezer* (-20°C) dan siap untuk dianalisis selanjutnya.

Amplifikasi Gen GH dan *Genotyping*

Amplifikasi fragmen gen hormon pertumbuhan dari dua set primer masing-masing untuk penciri PCR-RFLP *MspI* dan penciri PCR-RFLP *AluI* dilakukan menggunakan mesin *polymerase chain reaction* (PCR) Perkin Elmer 2400 dengan kondisi denaturasi, *annealing* dan ekstensi seperti pada Tabel 2.

Bahan pereaksi yang digunakan untuk PCR adalah templet DNA, *buffer* 10x, 10 mM dNTP, 50 mM MgCl₂, primer *forward* dan *reverse* masing-masing 30 pmol dan 2,5 unit Tag DNA *Polymerase* (Promega PCR Core System).

Genotyping didasarkan pada fragmen hasil amplifikasi PCR-RFLP *MspI* dan PCR-RFLP *AluI* yang dipotong masing-masing

Tabel 2. Kondisi mesin PCR yang dijalankan untuk mengamplifikasi gen hormon pertumbuhan

Tipe penciri	Denaturasi (°C/menit)	<i>Annealing</i> (°C/menit)	Ekstensi (°C/menit)	Jumlah siklus (kali)
PCR-RFLP <i>MspI</i>	94/0,30	53/0,45	72/1,0	35
PCR-RFLP <i>AluI</i>	94/0,30	55/0,45	72/1,0	35

menggunakan enzim *MspI* dengan situs C*CGG dan enzim *AluI* dengan situs AG*CT selama ±16 jam pada suhu 37°C. Komposisi pereaksi pemotongan terdiri atas H₂O 1,75 ml, *buffer* enzim 0,50 ml, enzim 0,25ml dan produk PCR 2,5ml, sehingga total volume adalah 5 ml. Hasil pemotongan fragmen tersebut dimigrasikan pada gel *Agarose* yang diberi *Ethidium Bromide* dengan *buffer* 1xTBE (1 M tris, 0,9 M asam borat, 0,01 M EDTA pH 8.0) dengan piranti *submarine electrophoresis* (Hoeffer USA). Hasil elektroforesis diamati dengan bantuan sinar UV 200-400 nm.

Analisis Data

Frekuensi alel gen hormon pertumbuhan yang diperoleh dari penciri PCR-RFLP *AluI* dan PCR-RFLP *MspI* dihitung menggunakan rumus (Nei, 1987) :

$$x_i = \frac{\left(2n_{ii} + \sum_{j \neq i} n_{ij} \right)}{2N}$$

Keterangan :

- x_i = frekuensi alel ke-i,
- n_{ii} = jumlah individu bergenotipe A_iA_i,
- n_{ij} = jumlah individu bergenotipe A_iA_j,
- N = jumlah sampel.

Keseimbangan Hardy-Weinberg diuji dengan *Chi-square* (X²) (Guo and Thomson, 1992) :

$$x^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (O - E)^2}{E}$$

Keterangan :

- x² = uji Chi-square,
- O = jumlah pengamatan genotipe ke-i,
- E = jumlah harapan genotipe ke-i.

Estimasi frekuensi heterosigositas, heterosigositas harapan dan SE heterosigositas

sapi Pesisir (Weir, 1996; Nei, 1987) dihitung menggunakan rumus:

$$H_o = \sum_{i \neq j} \frac{N_{ij}}{N}$$

Keterangan :

- H_o = frekuensi heterosigositas,
- N_{ij} = jumlah individu heterosigot pada lokus ke 1,
- N = jumlah individu yang dianalisis.

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_{li}^2$$

Keterangan :

- H_e = heterosigositas harapan,
- p_{li} = frekuensi alel ke-i pada lokus 1,
- n = jumlah alel pada lokus ke-1.

$$V_{s1}(H_e) = \frac{2}{2n(2n-1)} \left\{ 2(2n-2) \left(\sum x_i^3 - \left(\sum x_i^2 \right)^2 \right) + \sum x_i^2 - \left(\sum x_i^2 \right)^2 \right\}$$

Keterangan :

- V_{sl}(H_e) = ragam heterosigositas,
- x_i = frekuensi gen ke-1.

Standard error (SE) heterosigositas =

$$\sqrt{V_{sl}(H_e)}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Frekuensi Genotipe, Alel dan Keseimbangan Hardy-Weinberg

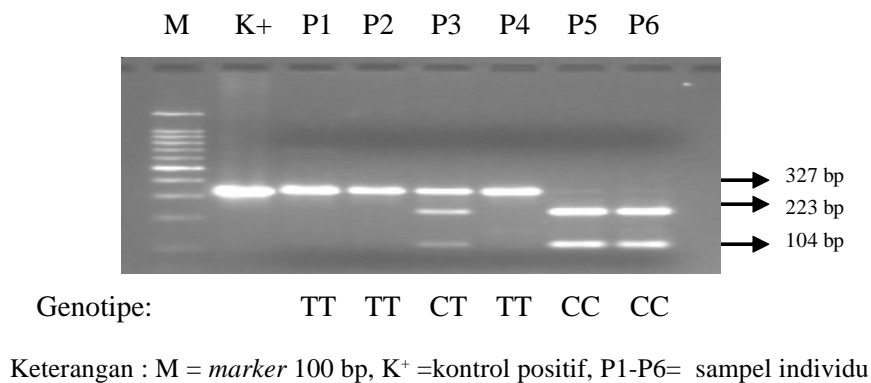
Analisis gen hormon pertumbuhan pada sapi Pesisir untuk penciri PCR-RFLP *MspI* diperoleh tiga macam genotipe yaitu genotipe CC (dua pita yaitu 223 bp, 105 bp), CT (tiga pita yaitu 327 bp, 223 bp dan 104 bp), TT (satu pita yaitu 327 bp)(Gambar 1), sedangkan untuk penciri PCR-RFLP *AluI* diperoleh dua macam genotipe yaitu genotipe LL (dua pita yaitu 159

bp, 52 bp) dan LV (tiga pita yaitu 211 bp, 159 bp dan 52 bp), sedangkan genotipe VV (satu pita 211 bp) tidak ditemukan (Gambar 2) baik sapi Pesisir yang terdapat di kabupaten Pesisir Selatan maupun di Padang Pariaman.

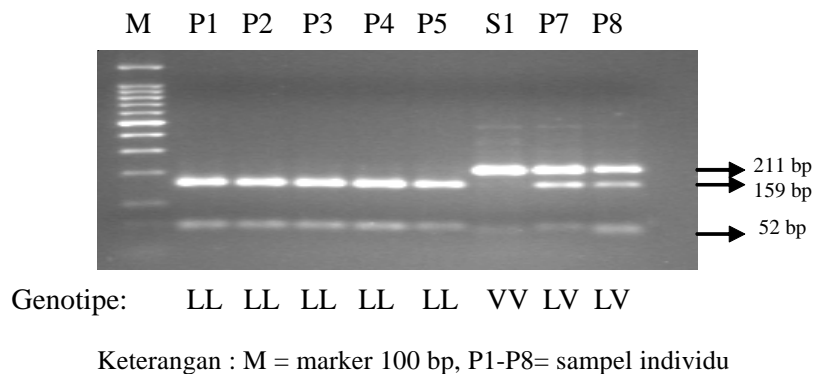
Posisi penciri gen GH *MspI* dan *AluI* masing-masing terletak pada *intron 3* dan *exon 5* dengan panjang produk 327 bp dan 211 bp yang diduga berdasarkan sekuen gen GH (Gordon *et al.*, 1983). Gambaran sekuen dan posisi atau situs pemotong enzim *MspI* dan *AluI* disajikan pada Gambar 3 dan Gambar 4.

Frekuensi genotipe penciri PCR-RFLP *MspI* gen hormon pertumbuhan untuk genotipe CC, CT dan TT di kabupaten Pesisir Selatan

masing-masing 0,031; 0,326 dan 0,643, sedangkan di kabupaten Padang Pariaman masing-masing 0,114, 0,229 dan 0,657 (Tabel 3). Adapun frekuensi genotipe penciri PCR-RFLP *AluI* untuk genotipe LL, LV dan VV di kabupaten Pesisir Selatan masing-masing 0,990; 0,010 dan 0,000, sedangkan di kabupaten Padang Pariaman masing-masing 0,971; 0,029 dan 0,000 (Tabel 4). Frekuensi alel C dan T di kabupaten Pesisir Selatan dan Padang Pariaman masing-masing 0.194, 0.806 dan 0.229, 0.771, sedangkan frekuensi alel L dan V masing-masing 0,995; 0,005 dan 0,986; 0,014. Berdasarkan frekuensi genotipe dan frekuensi alel, baik di kabupaten Pesisir Selatan maupun



Gambar 1. Elektroforesis produk PCR-RFLP gen hormon pertumbuhan menggunakan enzim pemotong *MspI*



Gambar 2. Elektroforesis produk PCR-RFLP gen hormon pertumbuhan menggunakan enzim pemotong *AluI*.

Primer Forward →

.....5' **cccacgggcaagaatgaggc**ccagcagaaatcagtgagtggcaac
 ctcgaccgaggagcaggggacctccttcatcctaagtaggctgcccagctcccgca
c*cggcctggggcggccttctccccgaggtggcggaggtggtggatggcagtggagg
 atgatgggtgggcgggtggcagggaggtcctcgggcagaggccgacctgcagggctg
 cccagaccgcggcaccaccgaccaccacctgccagcaggactggagctgcttc
 gcatctcactgctcctcatccagtcgtggct**tgggcccctgcagttcctca**'3.....

← Primer Reverse

Keterangan : panjang sekuen 327 bp, c*cgg, = situs pemotong enzim *MspI*

Gambar 3. Sekuen fragmen gen GH *MspI* dan situs pemotongnya pada posisi *intron* 3 dan *exon* 4 (Gordon *et al.*, 1983)

Primer Forward →

.....5' **gctgctcctgagggccttc**ggcctctctgtctctccctcccttgga
 ggag*ctggaagatggcacccccgggctgggcagatcctcaagcagacctatgacaa
 attgacacaaacatgctcagtgacgacgcgctgctcaagaactacggctctgctctcc
 tgcttccggaaggacctgcataaga**cggagacgtacctgagggctcatg**'3.....

← Primer Reverse

Keterangan : panjang sekuen 211 bp, ag*ct, = situs pemotong enzim *AluI*

Gambar 4. Sekuen fragmen gen GH *AluI* dan situs pemotongnya pada posisi *intron* 4 dan *exon* 5 (Gordon *et al.*, 1983)

kabupaten Padang Pariaman menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang berarti pada kedua penciri tersebut dan menunjukkan kecenderungan frekuensi yang sama (Tabel 3 dan Tabel 4).

Frekuensi genotipe total sapi Pesisir yang berasal dari kabupaten Pesisir Selatan dan Padang Pariaman untuk penciri PCR-RFLP

MspI dengan genotipe CC, CT dan TT masing-masing 0,067, 0,291 dan 0,642, sedangkan untuk penciri PCR-RFLP *AluI* dengan genotipe LL, LV dan VV masing-masing 0,985, 0,015 dan 0,000. Adapun frekuensi alel C dan T masing-masing 0,209 dan 0,791, sedangkan frekuensi alel L dan V masing-masing 0,992 dan 0,008. Dengan demikian penciri PCR-RFLP

Tabel 3. Frekuensi genotipe, alel dan uji X^2 gen hormon pertumbuhan *MspI* pada sapi Pesisir di kabupaten Pesisir Selatan dan Padang Pariaman

Lokasi	n	Genotipe			Alel		$X^2_{(tabel)}$
		CC	CT	TT	C	T	
Pesisir Selatan	98	0,031	0,326	0,643	0,194	0,806	**
Padang Pariaman	35	0,114	0,229	0,657	0,229	0,771	**
Total	133	0,067	0,291	0,642	0,209	0,791	**

Keterangan : **) berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Tabel 4. Frekuensi genotipe, alel dan uji X^2 gen hormon pertumbuhan *AluI* pada sapi Pesisir di kabupaten Pesisir Selatan dan Padang Pariaman

Lokasi	n	Genotipe			Alel		$X^2_{(tabel)}$
		LL	LV	VV	L	V	
Pesisir Selatan	99	0,990	0,010	0,000	0,995	0,005	**
Padang Pariaman	35	0,971	0,029	0,000	0,986	0,014	**
Total	134	0,985	0,015	0,000	0,992	0,008	**

Keterangan : **) berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

MspI memiliki keragaman alel yang lebih tinggi (polimorfik) dibandingkan dengan penciri PCR-RFLP *AluI* yang memiliki alel tidak beragam atau monomorfik. Nei (1987) menyatakan bahwa suatu alel dikatakan polimorfik jika memiliki frekuensi alel sama dengan atau kurang dari 0,99 (99%) atau dengan kata lain suatu alel dikatakan monomorfik jika frekuensi alel sama dengan atau kurang dari 0,01 (1%).

Genotipe TT pada penciri PCR-RFLP *MspI* merupakan genotipe yang terjadi karena adanya mutasi pada situs pemotong enzim *MspI* (C*CGG), dengan demikian sapi Pesisir umumnya mengalami mutasi pada gen hormon pertumbuhan terutama di situs pemotong enzim *MspI* karena sebagian besar sapi Pesisir bergenotipe TT (Tabel 3). Adapun genotipe VV pada penciri PCR-RFLP *AluI* tidak ditemukan adanya individu yang bergenotipe tersebut atau dengan kata lain bahwa tidak ada individu sapi Pesisir yang mengalami mutasi pada situs pemotong enzim *AluI* (AG*CT)(Tabel 3). Sebagian besar sapi Pesisir bergenotipe LL untuk penciri PCR-RFLP *AluI*, sehingga secara umum pada sapi Pesisir tidak mengalami mutasi pada gen hormon pertumbuhannya terutama pada penciri PCR-RFLP *AluI*.

Tabel 3 memperlihatkan bahwa sapi Pesisir memiliki frekuensi genotipe yang lebih besar pada genotipe TT (0,642), diikuti dengan genotipe CT (0,291) dan genotipe CC (0,067) untuk penciri PCR-RFLP *MspI*. Demikian pula dengan frekuensi alel T (0,791) menunjukkan

nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan alel C (0,209). Pola yang sama juga dilaporkan oleh Mattos *et al.* (2003) untuk genotipe ++ (CC), +- (CT) dan — (TT) masing-masing 0,075, 0,225 dan 0,700 dengan frekuensi alel + (C) dan - (T) masing-masing 0,19 dan 0,81 pada bangsa Sapi Gyr dengan penciri yang sama. Beberapa penelitian terkait dengan penciri PCR-RFLP *MspI* dilaporkan bahwa frekuensi alel T pada bangsa sapi yang termasuk ke dalam kelompok Zebu (*Bos indicus*) seperti sapi Sahiwal 0,86 (Mitra *et al.*, 1995); sapi Brazil Nellore 0,82 dan sapi *Ongole*, 1,00 (Lagziel *et al.*, 2000). Berbeda dengan sapi yang termasuk ke dalam kelompok bangsa sapi Taurus (*Bos taurus*) bahwa frekuensi alel T umumnya rendah seperti pada bangsa sapi *Holstein* 0,26 (Zhang *et al.*, 1993); *Angus* 0,14, *Hereford* 0,00; *Jersey* 0,15 dan *Limousin*, 0,39 (Lagziel *et al.*, 2000). Dengan demikian, gen GH *MspI* alel T yang tinggi pada sapi Pesisir merupakan salah satu indikator perbedaan secara genetik antara sapi yang termasuk dalam kelompok bangsa sapi *Bos indicus* (zebu) dengan bangsa sapi *Bos taurus* sebagai alel yang spesifik.

Penciri molekuler PCR-RFLP *AluI* berdasarkan hasil yang diperoleh (Tabel 4) bahwa frekuensi genotipe yang paling tinggi terdapat pada genotipe LL (0,985), kemudian genotipe LV (0,015) dan genotipe VV (0,000). Hal ini berarti bahwa umumnya sapi Pesisir Sumatera Barat memiliki genotipe LL. Hal serupa juga dilaporkan oleh Reis *et al.* (2001)

bahwa pada sapi Portugis memiliki frekuensi genotipe LL, LV dan VV masing-masing 0,600, 0,318 dan 0,082. Demikian pula pada bangsa sapi Gyr (Mattos *et al.*, 2003) ditemukan frekuensi alel L yang monomorfik, sedangkan pada sapi Sahiwal frekuensi alel L 0.96 (Mitra *et al.*, 1995). Pada sapi FH Polandia dilaporkan bahwa alel L dan V diperoleh masing-masing 0,815 dan 0,185 (Dybus, 2002). Dengan demikian penciri gen GH *AluI* memiliki pola frekuensi alel L yang tinggi pada sapi Pesisir Sumatera Barat, juga pada kelompok sapi *Bos indicus* (zebu) maupun *Bos taurus*, sehingga tidak dapat digunakan sebagai penciri pada ke dua kelompok bangsa sapi tersebut.

Suatu populasi dinyatakan dalam keseimbangan Hardy-Weinberg, jika frekuensi genotipe (p^2 , $2pq$ dan q^2) dan frekuensi alel (p dan q) konstan dari generasi ke generasi, karena akibat penggabungan gamet yang terjadi secara acak. Menurut Vasconcellos *et al.* (2003) beberapa kejadian seperti akumulasi genotipe, populasi yang terbagi, mutasi, seleksi, migrasi dan perkawinan dalam kelompok/populasi yang sama (endogami) dapat menimbulkan ketidakseimbangan dalam populasi. Hasil uji *chi-square* (X^2) terhadap penciri PCR-RFLP *MspI* dan PCR-RFLP *AluI* menunjukkan frekuensi genotipe tidak seimbang ($P < 0,01$) pada populasi sapi Pesisir Sumatera Barat. Hal ini berarti bahwa pada populasi sapi Pesisir tidak terjadi kawin acak, adanya seleksi, mutasi, migrasi dan terjadi endogami.

Pendugaan Nilai Heterosigositas

Pendugaan nilai heterosigositas H_o dan H_e dihitung untuk mendapatkan keragaman genetik (genetic variability) dalam populasi yang dapat digunakan untuk membantu program seleksi pada ternak yang akan digunakan sebagai sumber genetik pada generasi berikutnya (Marson *et al.*, 2005). Nilai heterosigositas penciri PCR-RFLP *MspI* lebih tinggi (33.06%) dibandingkan dengan penciri PCR-RFLP *AluI* (1,49%) atau dengan rata-rata 17,27% untuk kedua penciri molekuler tersebut (Tabel 5).

Perbedaan yang besar antara H_o dan H_e merupakan indikator adanya ketidakseimbangan genotipe pada sampel (Marson *et al.*, 2005). Adapun jika nilai H_o lebih rendah dari H_e (Machado *et al.*, 2003) dapat mengindikasikan adanya derajat endogami, sebagai akibat dari adanya proses seleksi yang intensif. Hasil analisis terhadap kedua parameter tersebut menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang berarti baik pada penciri PCR-RFLP *MspI* maupun penciri PCR-RFLP *AluI* karena nilai H_o dan H_e kedua penciri tersebut masing-masing 15,78% dan 17,27%. Berbeda halnya dengan penciri DNA mikrosatelit diperoleh nilai heterosigositas yang sangat tinggi pada sapi Pesisir yaitu sebesar $0,8655 \pm 0,0087$ dari enam lokus yang dianalisis (Sarbaini, 2004). Vasconcellos *et al.* (2003) juga menyatakan bahwa penciri mikrosatelit memiliki nilai heterosigositas (H_e) tinggi yang dapat

Tabel 5. Pendugaan frekuensi heterosigositas (H_o) dan nilai heterosigositas harapan (H_e) pada populasi sapi Pesisir

Penciri	H_o	$H_e \pm SE$
PCR-RFLP <i>MspI</i>	0,3007	$0,3306 \pm 0,0266$
PCR-RFLP <i>AluI</i>	0,0149	$0,0149 \pm 0,0073$
Rataan	0,1578	$0,1727 \pm 0,0169$

mencapai 87% dan berbeda dengan penciri RFLP yang hanya mencapai nilai 25%.

KESIMPULAN

Sapi Pesisir umumnya memiliki frekuensi alel T (0,791) yang lebih tinggi dibandingkan dengan alel C (0,209) untuk penciri PCR-RFLP *MspI*, sedangkan untuk penciri PCR-RFLP *AluI* umumnya sapi Pesisir memiliki frekuensi alel L (0,992) yang tinggi dibandingkan dengan alel V (0,008) dengan derajat heterosigositas yang rendah yaitu 17,27% dari kedua penciri tersebut. Hasil analisis terhadap gen hormon pertumbuhan pada sapi Pesisir juga mengindikasikan bahwa penciri molekuler PCR-RFLP *MspI* bersifat polimorfik dibandingkan dengan penciri PCR-RFLP *AluI* yang bersifat monomorfik. Penciri gen GH *MspI* alel T merupakan alel penciri spesifik untuk bangsa sapi yang termasuk ke dalam kelompok *Bos indicus* (Zebu).

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan banyak terima kasih kepada Tim BPPS IPB yang telah memberikan bantuan dana penelitian dan ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Dr. Ir. Sarbaini Anwar, MSc. atas penyediaan sampel darah sapi Pesisir.

DAFTAR PUSTAKA

- Dybus, A.** 2002. Association of growth hormone (GH) and prolactin (PRL) genes polymorphism with milk production traits in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science Papers and Report* 20:203-212.
- Gordon, D.F., D.P. Quick & R.C. Erwin.** 1983. Nucleotide sequence of the bovine growth hormone chromosomal gene. *Mol. Cell Endocrinol.* 33:81095.
- Guo, S.W. & E.A. Thomson.** 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48:361-372.
- Hediger, R., S.E. Johnson, W. Barendse, R.D. Drinkwater, S.S. Moore & J. Hatzel.** 1990. Assignment of the growth hormone gene locus to 19q26-pter in cattle and to 11q25-pter in sheep by in situ hybridization. *Genome* 8:171-174.
- Lagziel, A., S. Denise, O. Hanotte, S. Dhara, V. Glazko, A. Broadhead, R. Davoli, V. Russo & M. Soller.** 2000. Geographic and breed distribution of an *MspI* PCR-RFLP in the bovine growth hormone (bGH) gene. *Animal Genetics*, 31:210-213.
- Machado, M.A., I. Schuster, M.L. Martinez & A.L. Campos.** 2003. Genetic diversity of four breed using microsatellite markers. *Rev. Bras. De Zool.* 32:93-98.
- Marson, E. P., J.B.S. Ferraz, F.V. Meirelles, J.C.C. Balieiro, J.P. Eler, L.G.G. Figuerido & G.B. Mourao.** 2005. Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. *Genet. Mol. Res.* 4:496-505.
- Mattos, K.K., S.N.D. Lama, M.L. Martinez & A.F. Freitas.** 2003. Association of bGH and Pit-1 gene variants with milk production traits in dairy Gyr bulls. *Abstract Pesq. Agropec. Bras.* 39:2.
- Mitra, A., P. Sciilee, C.R. Balakrisiinan & F. Pirciiner.** 1995. Polymorphisms at growth hormone and prolactine loci in Indian cattle and buffalo. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 112:71-74.
- Montaldo, H.H. & C.A.M. Herrera.** 1998. Use of Molecular Markers and Major Genes in The Genetic Improvement of Livestock. *EJB Universidad Catolica de Valparaso-Chili.*
- Nei, M.** 1987. *Molecular Evolutionary Genetics.* Columbia University Press. New York.
- Reis, C., D. Navas, N. Pereira & A. Cravador.** 2001. Growth hormone *AluI* polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds. *Arch. Zootec.*, 50:41-48.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch & T. Maniatis.** 1989. *Molecular Cloning; a Laboratory Manual.* CSH Laboratory Press. USA.
- Sarbaini.** 2004. *Kajian Keragaman Karakteristik Eksternal dan DNA Mikrosatelit Sapi Pesisir Sumatera Barat.* Disertasi. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.
- Vasconcellos, L.P.M.K., D.T. Talhari, A.P. Pereira, L.L. Coutinho & L.C.A. Regitano.** 2003. Genetic characterization of Aberdeen

- Angus cattle using molecular markers. *Genetic and Molecular Biology* 26:133-137.
- Weir, B.S.** 1996. *Genetic Data Analysis: Methods for Discrete Population Genetic Data*. 2nd ed. Sinauer Associates. Sunderland, MA USA.
- Woychick, R.P., S.A. Camper & R.H. Lyons.** 1982. Cloning and nucleotide sequencing of the bovine growth hormone gene. *Nucleic Acid Res.*, 10:7197-7210.
- Zhang, H.M., D.R. Brown, S.K. Denise & R.L. Ax.** 1993. Polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism analysis of the *bovine* somatotropin gene. *Abstract Journal of Animal Science*, 71:2276.