

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Di Indonesia memiliki beberapa bangsa sapi diantaranya adalah sapi Bali, Madura, Aceh, Pesisir, dan sapi Peranakan Simmental. Seperti sapi Pesisir merupakan salah satu rumpun sapi lokal Indonesia yang mempunyai sebaran asli geografis di provinsi Sumatera Barat dan sumber daya genetik (Plasma Nutfah) Nasional. Sapi Pesisir ini memiliki keunggulan yaitu tahan terhadap lingkungan yang panas dan mampu memanfaatkan pakan berkualitas jelek (Sarbaini, 2004). Tidak hanya sapi Pesisir, sapi Simmental bisa dikembangkan, karena memiliki keunggulan seperti memiliki ukuran tubuh besar dan pertumbuhan otot bagus (Sugeng, 2003). Oleh sebab itu sapi Pesisir dan sapi Simmental di Indonesia harus ditingkatkan karena merupakan pilar utama ketahanan pangan masyarakat Indonesia dan juga merupakan kekayaan sumber daya genetik yang sangat spesifik, maka upaya yang harus dilakukan melalui perbaikan mutu genetik.

Perbaikan mutu genetik dengan menggunakan seleksi, seleksi yang baik dilakukan tidak hanya berdasarkan pada penampakan luar (fenotip), melainkan dikombinasikan dengan seleksi langsung pada tingkat DNA (genotip) sehingga dapat mengkodekan fenotipe yang ingin diperbaiki kualitasnya, seperti pertumbuhan ternak. Sifat pertumbuhan ternak dikendalikan oleh gen – gen pengontrol pertumbuhan. Salah satu gen yang dapat mempengaruhi pertumbuhan adalah gen hormon pertumbuhan (Growth Hormone Gene).

Growth Hormone (GH) adalah hormon polipeptida dari *pituitary* yang memainkan peran sentral pada pertumbuhan hewan dan metabolisme (Harvey *et*

al., 1995). *Growth Hormone* (GH) digunakan sebagai gen kandidat dalam mencari keterkaitan antara genotipe dengan fenotipe pada ternak. Sekuens GH pada sapi memiliki panjang 2856 pasang basa (pb). Gen GH terdiri atas 1 *intron* sampai 5 *exon*. Berdasarkan Penelitian Cowan *et al.* (1989) menyatakan gen GH diketahui memiliki keragaman yang tinggi pada daerah intron 3, sampai *exon* 5. Selanjutnya penelitian Yurnalis (2013) melaporkan adanya keragaman sekuen gen *bGH* dari daerah intron 3 sampai daerah ujung dari gen GH.

Keragaman gen tinggi ditunjukkan dengan adanya polimorfisme pada situs tertentu yang mungkin saja terkait dengan ekspresi gen pada sifat – sifat pertumbuhan dan reproduksi. Polimorfisme gen tersebut terkait dengan sifat pertumbuhan dan reproduksi maka dapat dijadikan sebagai alat *Marker Assisted Selection* (MAS). Penerapan MAS memerlukan Marker molekuler yang dapat diperoleh melalui salah satu metode *Polymerase Chain Reaction-Restriction fragment length polymorphism* (PCR-RFLP).

PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction fragment length polymorphism*) adalah yang dikembangkan untuk memvisualisasi perbedaan pada level DNA yang berdasarkan pada penggunaan enzim pemotongan (restriction enzyme) yang dapat memotong DNA pada sekuens nukleotida spesifik (Montaldo dan Herre, 1998). Karena sifat yang spesifik, maka enzim akan memotong situs yang dikenalnya.

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian dengan Judul **“Keragaman Genetik Gen *Growth Hormone* (GH|*AciI*) pada sapi Pesisir dan sapi Simmental Menggunakan Metode PCR-RFLP”**. Hal ini penting untuk

diteliti sebagai upaya melengkapi kerangka kerja genetika molekuler yang terdapat dalam program pemuliaan ternak sapi di Indonesia.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, maka dirumuskan masalah sebagai berikut, apakah terdapat keragaman pada gen *growth hormone* (GH) dengan enzim *AciI* pada daerah *exon 5* pada sapi Pesisir dan sapi Simmental dengan menggunakan metode PCR-RFLP.

1.3. Tujuan Penelitian

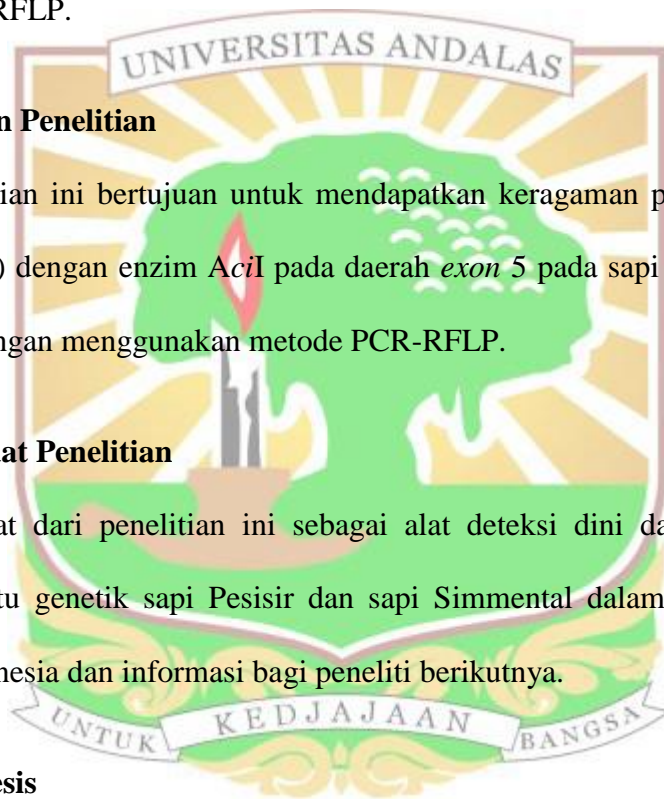
Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan keragaman pada gen *growth hormone* (GH) dengan enzim *AciI* pada daerah *exon 5* pada sapi Pesisir dan sapi Simmental dengan menggunakan metode PCR-RFLP.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini sebagai alat deteksi dini dalam percepatan perbaikan mutu genetik sapi Pesisir dan sapi Simmental dalam pengembangan ternak di Indonesia dan informasi bagi peneliti berikutnya.

1.5. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah adanya keragaman pada gen *growth hormone* (GH) dengan enzim *AciI* pada daerah *exon 5* pada sapi Pesisir dan sapi Simmental dengan menggunakan metode PCR-RFLP.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sapi Pesisir

Sapi Pesisir merupakan sapi asli yang berkembang di kawasan Pesisir Sumatera Barat. Saladin (1983) menyatakan bahwa sapi Pesisir sebagai sapi asli yang pada mulanya berkembang di Kabupaten Pesisir Selatan. Sapi Pesisir mampu melahirkan anak setiap tahunnya, sehingga masyarakat Sumatera Barat menyebutnya dengan sebutan lokal *Jawi Ratuih* atau *Bantiang Ratuih* yang artinya sapi yang melahirkan banyak anak.

Karakteristik sapi Pesisir sebagai berikut : 1). Tubuh dominan merah bata dengan variasi warna dari kekuningan, kecokelatan, sampai kehitaman. 2). Bulu mata berwarna pirang. 3). Garis punggung coklat kehitaman. 4). Kaki keputihan. 5). Rambut berwarna hitam di ujung ekor. 6). Bentuk tubuh kecil, mempunyai gumba dan gelambir kecil. 7). Bentuk tanduk kecil. 8). Bentuk telinga kecil, mengarah ke samping (Sarbaini, 2004). Penampilan bobot badan yang kecil merupakan salah satu penciri suatu bangsa sapi, sehingga dapat dikatakan bahwa sapi Pesisir merupakan sapi khas Indonesia (terutama di Sumatera Barat) dan merupakan sumber daya genetik (Plasma Nutfah) Nasional yang perlu dikembangkan dan dilestarikan.

Kajian molekuler terhadap sapi Pesisir telah dilakukan oleh beberapa peneliti misalnya Sarbaini (2004) dengan menggunakan enam lokus penciri DNA mikrosatelit memperoleh keragaman yang tinggi pada populasi sapi Pesisir di Kabupaten Pesisir Selatan, sehingga berpeluang untuk dilakukan seleksi.



Gambar 1. Sapi Pesisir

Disamping itu sapi Pesisir mempunyai temperamen jinak sehingga mudah dikendalikan, karakteristik lainnya berpuncuk kecil sampai sedang, tanduk pendek dan mengarah keluar, seperti tanduk kambing (Saladin, 1983).

2.2. Sapi Simmental

Menurut Fikar dan Ruhyadi (2010), sapi Simmental adalah bangsa *Bos taurus*, berasal dari daerah Simme di negara Switzerland. Tubuh sapi Simmental berwarna kuning sampai merah, sedangkan bagian muka, dada, dan rambut ekor berwarna putih serta tidak memiliki tanduk. Sapi Simmental secara genetik adalah sapi potong yang berasal dari wilayah beriklim dingin, merupakan sapi tipe besar, mempunyai volume rumen yang besar, kemampuan menambah konsumsi diluar kebutuhan tinggi, dan laju metabolisme yang cepat, sehingga menuntut tata laksana pemeliharaan yang lebih teratur.

Sapi Simmental mampu beradaptasi di Indonesia. Kebanyakan sapi yang ada di Indonesia merupakan sapi Peranakan Simmental. Menurut Haryanti (2009), sapi Peranakan Simmental merupakan bangsa sapi persilangan dengan pertambahan bobot badan berkisar antara 0,6 sampai 1,5 kg per hari.



Gambar 2. Sapi Simmental

2.3. Keragaman Genetik

Keragaman genetik suatu populasi merupakan penentu keberhasilan dan daya tahan populasi untuk bertahan pada kondisi lingkungan yang ekstrim, sehingga populasi tersebut tidak punah (Ronny, 2010).

Keragaman genetik dalam suatu populasi digunakan untuk mengetahui dan melestarikan bangsa – bangsa dalam populasi terkait dengan penciri suatu sifat khusus, serta menentukan hubungan antar subpopulasi dapat diketahui dengan melihat persamaan dan perbedaan frekuensi alel dan genotipe diantara subpopulasi (Li *et al*, 2000).

Keragaman genetik sangat berkaitan dengan keragaman lingkungan serta dapat mempengaruhi keragaman fenotipe, jadi apabila genetik ternak berkualitas bagus tetapi tidak didukung dengan lingkungan seperti iklim, makanan, sistem manajemen dapat menurunkan kualitas genetik ternak (Ronny, 2010)

Keanekaragaman sifat genetik pada suatu organisme dikendalikan oleh gen-gen yang terdapat di dalam kromosom yang dimilikinya. Kromosom tersebut

diperoleh dari kedua induknya melalui pewarisan sifat. Namun demikian, ekspresi gen suatu organisme juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tempat hidupnya. Genotipe hewan merupakan sebuah pendekatan yang berguna untuk menggambarkan prinsip-prinsip genetika dan penerapan langsung dalam hal pewarisan sifat.

Hukum Hardy-Weinberg menyatakan bahwa frekuensi genotipe suatu populasi yang cukup besar akan selalu dalam keadaan seimbang bila tidak ditemukan seleksi, migrasi, mutasi, dan *genetic drift*. Genetika dipandang dari segi populasi, terutama frekuensi gen dengan efek yang diinginkan (Yuniarsih, *et al.*, 2011). Estimasi perhitungan keragaman genetik dalam populasi secara kuantitatif dapat diperoleh melalui dua ukuran keragaman variasi populasi, yaitu proporsi lokus polimorfisme dalam populasi dan rata – rata proporsi individu heterozigot dalam setiap lokus (Nei dan Kumar, 2000).

2.4. Gen Growth Hormone (GH)

Growth Hormone (GH) adalah hormon polipeptida dari *pituitary* yang memainkan peran sentral pada pertumbuhan hewan dan metabolisme (Harvey *et al.*, 1995). Seperti diketahui GH secara dramatis mempengaruhi kerangka tubuh, hormon ini juga mempengaruhi secara luas proses – proses metabolisme. Hormon GH diketahui pada sapi mempengaruhi reproduksi betina dan produksi susu (Hull dan Harvey, 2001), metabolisme sodium dan air (Johannsson *et al.*, 2002), meningkatkan pertumbuhan jaringan lunak pada kaki dan tangan, serta mempengaruhi fungsi jantung (Bollano *et al.*, 2000). Organ target utama GH adalah hati, dimana GH mengatur ekspresi beberapa gen. *Growth Hormone* (GH) berperan dalam regulasi pertumbuhan *postnatal*, stimulasi proses anabolisme

seperti pertumbuhan tulang dan sintesis protein (Silveira *et al.*, 2008 dalam Goodman, 1993).

Efek metabolik GH diantaranya adalah meningkatkan sintesis protein, meningkatkan penggunaan lemak sebagai sumber energi dan menurunkan pemakaian glukosa (Guyton dan Hall, 1996). Adanya efek tersebut maka sekresi hormon pertumbuhan meningkat maka akan menyebabkan penurunan kandungan lemak tubuh dan meningkatkan kadar protein daging. Peningkatan hormon pertumbuhan akan diikuti oleh efek metabolisme sehingga kadar lemak daging rendah dan tinggi protein.

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.

2.5. Penciri Gen PCR-RFLP

PCR-RFLP (polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) adalah teknik yang dikembangkan untuk memvisualisasikan perbedaan pada level DNA yang didasarkan pada penggunaan enzim pemotong yang dapat memotong DNA pada tempat sekuens nukleotida spesifik (Moltado dan 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.

2.5.1. PCR (*polymerase Chain Reaction*)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah sebuah teknik laboratorium yang digunakan untuk memperbanyak sekuens DNA. Metode ini menggunakan sekuens DNA pendek yang disebut primer yang digunakan untuk menyeleksi posisi genom yang di perbanyak. Teknik ini dapat memproduksi jutaan kopian sekuens DNA target hanya dalam beberapa jam (National Institutes of Health, 2014).

Teknik PCR ini awalnya ditemukan oleh Karry Mullis pada tahun 1985 saat itu digunakan untuk mengkloning fragmen DNA. Sebuah reaksi PCR mengandung untaian ganda DNA target, dua primer dengan panjang 10 sampai 18 nukleotida, dan sebuah DNA *Polymerase* yang diekstraksi dari bakteri *thermophilus* (*Thermu Aquaticus*) (Rastogi, 2007).

Secara ringkas, prinsip PCR dapat dijelaskan sebagai berikut. Pada suhu 94° C samapai 95° C, DNA mengalami denaturasi (pembelahan untaian ganda menjadi untai tunggal). Waktu yang diperlukan untuk proses ini sekitar 30 detik pada suhu 95° C atau 15 detik pada suhu 97° C. Pada tahap predenaturasi dan denaturasi PCR, terjadi denaturasi *template* DNA yang menyebabkan ikatan hydrogen dsDNA terputus sehingga membentuk ssDNA. Setelah proses denaturasi selesai, suhu reaksi PCR diturunkan agar primer dapat menempel (*annealing*) pada daerah yang komplemen. Kemudian, suhu dinaikkan kembali pada tahap *extension* untuk pemanjangan fragmen DNA target. Tahap terakhir adalah *final extension* dan produk *annealing* yang masih berupa *single-strand* untuk dapat menyelesaikan reaksi (Sulandari dan Zein, 2003).

2.5.2. RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)

RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) digunakan untuk mengidentifikasi sebuah perubahan didalam sekuens genetik yang terjadi pada sebuah lokasi dimana sebuah enzim restriksi memotongnya. Analisis RFLP dapat digunakan untuk jejak pada pola pewarisan, identifikasi mutasi yang spesifik, dan untuk teknik molekuler genetik (Moltado dan Herrera, 1998).

2.6. Enzim Restriksi

Enzim restriksi adalah enzim yang bekerja untuk memotong fragmen DNA pada situs spesifik (Sunatmo, 2009). Sekuen pengenalan atau situs pengenalan merupakan sekuens DNA yang menjadi tempat menempelnya enzim restriksi dan melakukan pemotongan pada sekuens tersebut (Pray, 2008). Setiap enzim mempunyai sekuens pengenalan yang unik pada utas DNA, biasanya sepanjang 4-6 pasang basa (Philips, 2010). Situs pengenal bersifat palindrome, merupakan daerah yang memiliki urutan basa yang sama dengan utas pasangannya jika dibaca dari arah yang sama yaitu 5'-3' (Pray, 2008).

Enzim restriksi yang mempunyai sekuens pengenalan yang pendek akan menghasilkan banyak potongan DNA, sedangkan jika mempunyai sekuens pengenalan yang panjang, akan dihasilkan potongan DNA yang lebih sedikit (Pray, 2008). Penelitian Dybus *et al.* (2002) dengan menggunakan enzim restriksi *AluI* di *exon 4* menemukan adanya hubungan antara polimorfisme gen GH dengan produksi susu pada sapi *black-white* polandia dan mendapatkan adanya polimorfisme bGH/*AluI-MspI*.

Penelitian ini menggunakan enzim *AciI* yang mengenali situs pemotongan pada basa C|CGC, memotong dengan maksimal pada suhu 37°C dalam buffer B

(Thermo Scientific) selama 8 sampai 16 jam. Suhu penyimpanan yang ideal enzim adalah pada -20°C .

2.7. Keseimbangan Hardy-Weinberg

Hukum Hardy-Weinberg menyebutkan apabila tidak ada faktor- faktor yang dapat mengubah frekuensi gen pada suatu populasi, dan populasi tersebut mengadakan perkawinan secara acak dari generasi berikutnya maka frekuensi gen tersebut tidak akan mengalami perubahan. Faktor-faktor yang dapat mengubah frekuensi gen dalam suatu populasi adalah adanya seleksi, mutasi, migrasi, dan random drift (Warwick *et al.*, 1994).

Suatu populasi dinyatakan dalam keseimbangan Hardy-Weinberg, jika frekuensi genotipe ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$) dan frekuensi alel ($p + q = 1$) konstan dari generasi ke generasi, karena akibat penggabungan gamet yang terjadi secara acak (Vasconcellos *et al.*, 2003). Menurut Hardjosubroto (1998) bahwa hal – hal yang dapat mempengaruhi ketidakseimbangan Hardy-Weinberg adalah mutasi, *gene flow*, migrasi, seleksi, *genetic drift*, tidak terjadi perkawinan secara acak. Seleksi merupakan salah satu faktor yang mengubah keseimbangan secara cepat. Menurut Vasconcellos *et al.* (2003) bahwa beberapa kejadian seperti akumulasi genotip, populasi yang terbagi, mutasi, seleksi, migrasi dan perkawinan dalam kelompok/populasi yang sama (endogamy) dapat menimbulkan ketidakseimbangan dalam populasi.

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah 150 sampel darah, yang terdiri dari 75 ekor sapi Pesisir dan 75 ekor sapi Simmental.

3.2. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen di Laboratorium Bioteknologi ternak untuk mengamati keragaman terhadap Gen (GH|Acil) dari populasi sapi Pesisir dan sapi Simmental. Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap pertama penelitian lapangan dan tahap kedua penelitian laboratorium.

3.2.1. Penelitian Lapangan

Pengambilan sampel darah sapi tersebut adalah lanjutan dari penelitian sebelumnya (Yurnalis, 2015). Sampel sapi Pesisir dilakukan dengan cara penarikan otoritas dengan berdasarkan kriteria sebagai berikut:

1. Hidup di Kecamatan Ranah Pesisir, Lengayang dan Linggosari.
2. Warna bulu salah satu lima kelompok yaitu merah bata, kuning, coklat, hitam dan putih (Sarbaini, 2004).
3. Berpunuk kecil sampai sedang, tanduk pendek dan mengarah keluar seperti kambing (Saladin, 1983).
4. Umur sekitar 1,5 tahun dan berjenis jantan. Penentuan umur dilakukan berdasarkan keterangan langsung dari peternak dan dengan melihat pertukaran gigi sari (klasifikasi I₁ mulai berganti).

Sampel sapi Simmental dipelihara di Balai Pembibitan Ternak Unggul Hijauan Pakan Ternak (BPTU HPT) Padang Mengatas Kabupaten Lima Puluh Kota (Yurnalis, 2013). Sampel sapi diambil secara acak dengan persyaratan sebagai berikut:

1. Sapi Simmental (*Bos Taurus*)
2. Jenis kelamin Jantan
3. Umur I₁ (1,5-2,5 tahun)

Untuk menganalisis keragaman Gen (GH|AciI) dari populasi sapi Pesisir dan sapi Simmental dengan mengambil sampel darah dari masing-masing individu sampel dengan peralatan dan prosedur sebagai berikut.

Pengambilan sampel darah sapi Pesisir dan sapi Simmental menggunakan jarum suntik (*Disposable Syringe*) melalui *vena jugularis* sebanyak ± 5 ml di nadi pada leher sapi, kemudian ditampung pada tabung vacutainer yang berisi EDTA dan disimpan dalam Freezer -20°C.

3.2.2. Penelitian Laboratorium

Sampel darah yang telah diambil dilakukan analisis di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Penelitian laboratorium ini untuk menentukan keragaman genetik gen *Growth Hormone* (GH|AciI) pada sapi Pesisir dan sapi Simmental dengan tahapan sebagai berikut.

3.2.2.1. Isolasi DNA

A. Alat Dan Bahan

Isolasi DNA dilakukan dari sampel darah menggunakan *genomic DNA purification kit* dari *promega* dengan peralatan sebagai berikut:

1. Tabung *epENDORF* untuk tempat sampel DNA yang akan di gunakan.
2. *Micropipet* dan *microtip* alat untuk pengambilan larutan sampel atau bahan.
3. *Eppendorf centrifuge* untuk memisahkan DNA dari bahan padat seperti lemak, selulosa dan protein.
4. *Tissue steril* untuk menyerap cairan *supernatant* yang akan di buang.
5. *Vortex* untuk menghomogenkan bahan-bahan yang di gunakan.
6. Elektroforesis (*thermo scientific*) untuk mengidentifikasi dan memvisualisasikan kegiatan yang telah di lakukan.

Bahan yang digunakan :

1. Sampel darah sapi pesisir sampel utama yang akan di gunakan untuk isolasi DNA.
2. *Cell lysis* untuk menghancurkan sel.
3. *Nuclei lysis* untuk memecah inti sel.
4. *Protein precipitasi* untuk memisahkan DNA dari protein.
5. *Isopropanol* untuk mendapatkan endapan DNA.
6. *Ethanol 70%* untuk pencucian DNA.
7. *DNA rehydration* untuk pelarut DNA.

B. Prosedur Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan dari sampel darah menggunakan *genomic DNA purification kit* dari promega dengan prosedur sebagai berikut :

1. Siapkan tabung mikrosentrifus ukuran 2 ml lalu masukan kedalam tabung *cell lysis* 900 µl.

2. Kocok tabung sampel darah, kemudian ambil sebanyak 300 μ l dan masukan ke tabung yang telah berisi *lysis*. Bolak balik tabung 5-7 kali agar campuran bahan menjadi homogeny dan inkubasi pada suhu kamar selama 10 menit.
3. Lalu tabung mikrosentrifus yang berisi campuran darah dan *cell lysis* dimasukan kemesin sentrifus pada kecepatan 13000 rpm selama 30 detik.
4. Setelah di sentrifus buang supernatant hati-hati endapan jangan sampai terbang.
5. Selanjutnya tambahkan kembali *cell lysis* sebanyak 300 μ l, sentrifus pada kecepatan 13000 rpm selama 30 detik. Kemudian buang supernatant dan endapan yang tertinggal ditabung selanjutnya divortex selama 10-15 detik sehingga endapan tercampur rata.
6. Tambahkan 300 μ l larutan *nuclei lysis*, pipet cairan *up-down* sehingga pellet mencair atau larut dan larutan bersifat *viscous*. Jika perlu inkubasi dengan suhu 37^oc selama 1 jam.
7. Setelah diinkubasi tambahkan larutan protein *precipitasi* sebanyak 100 μ l lalu vortex selama 20 detik, kemudian disentrifus pada kecepatan 13000 rpm selama 3 menit. Selanjutnya pindahkan supernatant kedalam tabung eppendorf baru ukuran 2 ml berisi 700 μ l isopropanol.
8. Campur rata larutan isopropanol dengan membolak balik secara perlahan sampai terlihat benang-benang DNA, kemudian sentrifus pada kecepatan 13000 rpm selama 1 menit. Kemudian tabung yang larutan yang berisi DNA akan terlihat sebagai pellet.

9. Buang supernatant dengan hati-hati dan tambahkan larutan ethanol 70% sebanyak 700 μ l kemudian bolak-balik secara perlahan untuk mencuci pellet dan sentrifus pada kecepatan 13000 rpm selama 1 menit.
10. Buang cairan ethanol sampai habis, balikan tabung di atas tisu steril diamkan hingga kering pada suhu ruang.
11. Lalu tambahkan larutan DNA rehydration sebanyak 100 μ l kedalam tabung, typping tabung hingga pellet larut dan diamkan pada suhu 4 $^{\circ}$ c semalam dan simpan pada temperatur -20 $^{\circ}$ c. Untuk melihat hasil, DNA yang telah diisolasi dielektroforesis pada gel agarose 1%.

3.2.2.2. Amplifikasi Gen GH

Amplifikasi menggunakan sepasang primer F : 5' - CTT CGG CCT CTC TGT CTC CT-3' dan R : 3- GAG CCC TCC TGA GCT ATG AG - 5' dengan panjang fragmen 590 bp (Yurnalis, 2015)

A. Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan

1. PCR (*eppendorf mastercycler gradient*)
2. Tabung *eppendorf*
3. *Micropipet* dan *microtip* alat untuk pengambilan larutan bahan.
4. Elektroforesis (*thermo scientific*) untuk mengidentifikasi dan memvisualisasikan kegiatan yang telah di lakukan.

Bahan yang digunakan

1. Sampel DNA = 2 μ l.

2. *Master mix* = 12,5 μ l.
3. Campuran primer *F* dan *R* sebanyak = 3 μ l.
4. *Water nuclease-free* = 7.5 μ l.

B. Prosedur Kerja

1. Siapkan beberapa tabung *eppendorf*.
2. Masukkan bahan-bahan kedalam tabung secara berurutan.
3. Amplifikasi *in vitro* dilakukan dengan memasukkan tabung kedalam mesin PCR dengan program sebagai berikut :
 - a. *Pradenaturasi* pada temperature 95 $^{\circ}$ c selama 5 menit
 - b. *Denaturasi* awal 95 $^{\circ}$ selama 45 detik
 - c. *Annealing* pada temperature 58 $^{\circ}$ c selama 45 detik.
 - d. *Extensi* awal pada temperature 72 $^{\circ}$ c selama 1 menit.
 - e. *Extensi akhir* pada temperature 72 $^{\circ}$ c selama 5 menit.

Untuk melihat hasil amplifikasi gen GH, dilakukan elektroforesis menggunakan *agarose* 1,5% yang ditambahkan dengan larutan *ethidium bromide*, dan hasilnya di amati dengan menggunakan uv transiluminator. Amplifikasi gen GH dikatakan berhasil jika pada gel *agarose* terlihat pita-pita pada/ukuran sesuai dengan target sepanjang 590 bp yang ditentukan dengan membandingkan posisi pita marker DNA leader. Kemudian hasil elektroforesis di dokumentasikan dengan kamera. Proses amplifikasi dinyatakan berhasil apabila dalam satu slot blok gel (seumur) pada saat elektroforesis hanya terlihat satu pita DNA.

3.2.2.3. Penggenotipan Gen GH | *AciI*

a. Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan adalah :

1. Tabung *ependorf* ukuran 200 μ l.
2. *Micropipet* dan *microtip* alat untuk pengambilan larutan bahan.
3. *Waterbath incubator* (memmert *minitube gmbh*)
4. **Elektroforesis (*thermo scientific*) untuk mengidentifikasi dan memvisualisasikan kegiatan yang telah dilakukan.**

Bahan yang digunakan adalah :

1. **Enzim *AciI***
2. **Sampel hasil PCR**

b. Prosedur Penggenotipan Gen GH | *AciI*

1. Siapkan tabung *ependorf* ukuran 200 μ l dan beri label sesuai sampel,
2. Siapkan *micropipet* ambil produk PCR sebanyak 15 μ l kedalam tabung *ependorf*
3. Kemudian tambahkan enzim *AciI* (sebanyak 5 unit enzim *Aci I*, 2 μ l buffer, 8 mikoliter Nuklease, free water ke dalam tabung *ependorf* yang telah terisi DNA hasil amplifikasi.
4. Masukkan tabung yang berisi campuran produk PCR dan enzim ke dalam *waterbath incubator* pada temperatur 37 $^{\circ}$ c selama 4 jam.

Memvisualisasikan produk restriksi *AciI* maka dilakukan elektroforesis pada gel agarose 2% dengan pewarna *ethidium bromide* dengan menyertakan *bench top* (marker) dan dijalankan pada mesin elektroforesis pada tegangan 100 volt selama 2 jam 30 menit.

Pita – pita DNA yang muncul dibandingkan dengan *marker* untuk diketahui panjang fragmennya dan jumlah pita DNA dari setiap sampel dibandingkan untuk menentukan genotipe pita DNA. Penentuan alel (GH | *AciI*) (+) dan (-) ditunjukkan dengan jumlah dan ukuran besarnya fragmen yang terpotong berdasarkan sekuen gen GH.

Berdasarkan pengamatan hasil elektroforesis dengan uv trans iluminator akan diperoleh gambaran pita pemotongan dengan tiga kemungkinan genotip :

- a. Homozigot tidak terpotong (-/-), jika hanya satu pita berukuran sepanjang fragmen amplifikasi (590 bp).
- b. Homozigot terpotong (+/+), jika dua atau lebih pita diluar posisi / dibawah ukuran fragmen amplifikasi (590bp).
- c. Heterozigot (+/-), jika dua atau lebih pita dengan satu pita pada posisi / ukuran fragmen teramplifikasi dan pita lain berada di bawah posisi fragmen amplifikasi.

3.3. Peubah Penelitian

Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah :

1. Macam genotipe (jumlah pita) yang terbentuk dari restriksi gen (GH | *AciI*) pada gel *agarose*.
2. Macam dan jumlah alel dari genotip yang dihasilkan.

3.4. Analisi Data

Analisis data untuk melihat keragaman gen (GH | *AciI*) data ini dijelaskan dengan menghitung frekuensi genotip, frekuensi alel (Nei dan Kumar, 2000) dan

keseimbangan hardy-weinberg dengan Hardy – Weinberg diuji dengan Chi – square (Hartl, 1988) menggunakan rumus-rumus sebagai berikut :

1. Frekuensi genotip dihitung menggunakan rumus (Nei dan Kumar, 2000).

$$x_i = \frac{\sum n_i}{N}$$

Keterangan :

X_i = genotip yang di amati

n_i = jumlah individu bergenotip i,

N = jumlah individu sampel

2. Frekuensi alel dihitung menggunakan rumus (Nei dan Kumar, 2000)

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

Keterangan :

X_i = frekuensi alel ke-i

n_{ij} = jumlah individu untuk genotip ij

N = jumlah sampel

3. Keseimbangan Hardy-Weinberg (Hartl, 1988).

Pengujian Keseimbangan Hukum Hardy – Weinberg dilakukan untuk mengetahui apakah frekuensi alel dan frekuensi genotipe gen (GH | $AciI$) pada populasisapi yang dipelihara masih berada pada keseimbangan $p^2 + 2pq + q^2$ yang diuji dengan *chi-square* (X) menurut Hartl (1988) dengan rumus sebagai berikut :

$$x_h^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Keterangan :

X_h^2 = chi-square hitung

O = jumlah pengamatan genotip)/alel ke-i

E = jumlah harapan genotip/alel ke-i

Jika $x_h^2 \leq x_t^2$ pada level 0,05 berarti tidak terdapat perbedaan yang nyata antara hasil yang diharapkan dengan hasil pengamatan, atau dapat dikatakan bahwa frekuensi genotipe atau alel populasi ternak yang diamati berada dalam keseimbangan hardy–weinberg. Sedangkan, jika nilai $x_h^2 > x_t^2$ 0,05 berarti terdapat perbedaan yang nyata dari yang diharapkan dengan hasil pengamatan, atau dapat dikatakan bahwa frekuensi genotipe atau alel populasi ternak yang diamati tidak berada dalam keseimbangan hardy-weinberg.

3.5. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas pada bulan 08 Februari s/d 04 Maret 2017.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Isolasi DNA

Hasil isolasi DNA 75 sampel darah sapi Pesisir dan 75 sampel darah sapi Simmental yang dilanjutkan visualisasi dengan elektroforesis menggunakan gel *agarose* 1%. Diperoleh 150 sampel dengan kategori DNA terlihat bersih, sebagai contoh dapat dilihat pada Gambar 3 sapi Pesisir dan 4 sapi Simmental berikut.



Gambar 3. Hasil elektroforesis isolasi DNA sampel darah sapi Pesisir
Keterangan: No Sampel = 109- 162

Ketidaklengkapan no sampel sapi Pesisir maupun sapi Simmental yang digunakan dikarenakan sampel telah habis dan sebagian no sampel tidak terlihat ketika di elektroforesis isolasi DNA, maka sampel yang tidak jelas tidak dilakukan proses selanjutnya.

Jika hasil DNA isolasi menunjukkan DNA semakin tebal dan terang maka DNA yang diperoleh kualitasnya semakin bagus, begitu pun sebaliknya jika hasil DNA isolasi semakin tipis maka DNA yang diperoleh kualitasnya kurang bagus.

Untuk gambar selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 1.



Gambar 4. Hasil elektroforesis isolasi DNA sampel darah sapi Simmental
Keterangan: No Sampel 111-126

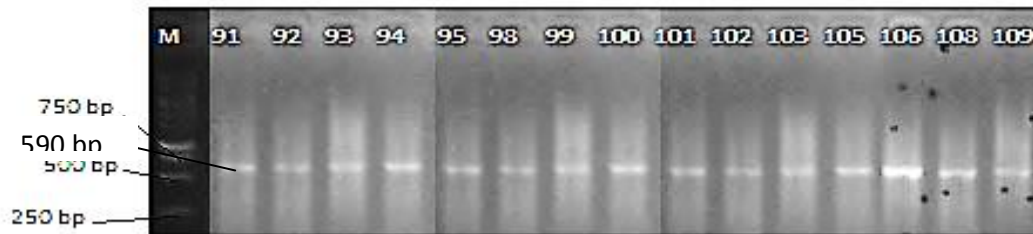
Tiga langkah utama dalam isolasi DNA adalah perusakan dinding sel atau lisis, pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Rastogi, 2007). Langkah awal yang sangat menentukan dalam keberhasilan penelitian molekuler yang berbasis pada DNA adalah kualitas DNA yang diperoleh dari tahapan isolasi. Pemurniaan DNA merupakan proses untuk memisahkan DNA dari protein, karbohidrat, lipid dan kontaminan lain. Kemurnian dan kualitas DNA yang diperoleh dari tahap ini akan sangat menentukan dalam penelitian-penelitian biologi molekuler. Menurut Sulandari dan Zein (2003) bahwa pada dasarnya prinsip dari isolasi DNA terdiri dari melisiskan sel dan memurnikan asam nukleat (DNA).

4.2. Amplifikasi Gen Hormon Pertumbuhan (GH)

Produk DNA total sampel darah sapi Pesisir dan sapi Simmental diamplifikasi menggunakan pasangan primer F: 5'-CTT CGG CCT CTC TGT CTC TC-3' dan primer R 3'-GAG CCC TCC TGA GCT ATG AG-5' (Yurnalis, 2015). Dari 150 sampel DNA yang diamplifikasi diperoleh hasil produk PCR sebanyak 150 sampel yang terdiri dari 75 sampel sapi Pesisir dan 75 sampel sapi Simmental yang divisualisasikan dengan elektroforesis *agarose* 1,5%. Primer yang digunakan dalam penelitian ini berhasil mengamplifikasi *intron 4* dan *exon 5* gen GH sepanjang 590 bp, dan sebagai contoh dapat dilihat pada Gambar 5 sapi Pesisir dan Gambar 6 sapi Simmental.

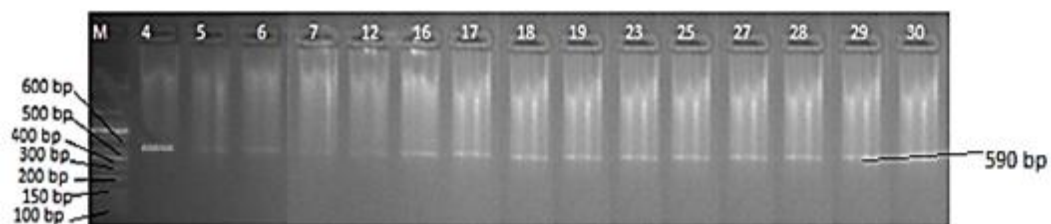
Proses amplifikasi dinyatakan berhasil apabila dalam satu slot blok gel (sumur) pada saat elektroforesis hanya terlihat satu pita DNA yang ukurannya sesuai dengan yang diharapkan saat primer dirancang untuk mengamplifikasikan daerah yang akan diamplifikasi. Panjang fragmen hasil amplifikasi dapat

diketahui dengan cara mencocokkan situs penempelan pasangan primer pada sekuens gen GH sapi (Primer 3 Output) dapat dilihat di Lampiran 8



Gambar 5. Hasil amplifikasi produk PCR gen GH sapi Pesisir sepanjang 590 bp
Keterangan : M = Marker DNA Ladder kit 100 pb, No Sampel = 91-109

Gambar 5 dan Gambar 6 menjelaskan bahwa hasil amplifikasi gen GH dengan primer tersebut dapat dinyatakan teramplifikasi secara baik karena hanya terdapat satu pita DNA di setiap sumur pada saat di lakukan elektroforesis.



Gambar 6. Hasil amplifikasi produk PCR gen GH sapi Simmental sepanjang 590 bp
Keterangan : M = marker DNA Ladder kit 100 pb, No Sampel = 4-30

Menurut Viljoen *et al.*, (2005) keberhasilan dalam mengamplifikasi DNA bergantung pada interaksi komponen PCR dalam konsentrasi yang tepat dan beberapa hal yang umum dilakukan untuk optimasi PCR diantaranya adalah suhu penempelan primer, konsentrasi Mg^{2+} , konsentrasi primer, dan konsentrasi DNA target. Ketepatan kondisi PCR ditentukan oleh ketepatan campuran reaksi dan ketepatan kondisi suhu pada masing – masing siklus (Rahayu *et al.*, 2006).

Suhu *annealing* adalah suhu yang memungkinkan terjadinya penempelan primer pada DNA cetakan selama proses PCR. Suhu *annealing* sangat menentukan keberhasilan. Amplifikasi karena proses perpanjangan DNA dimulai

dari primer. Suhu *annealing* (penempelan primer) yang digunakan pada penelitian ini yaitu 58°C .

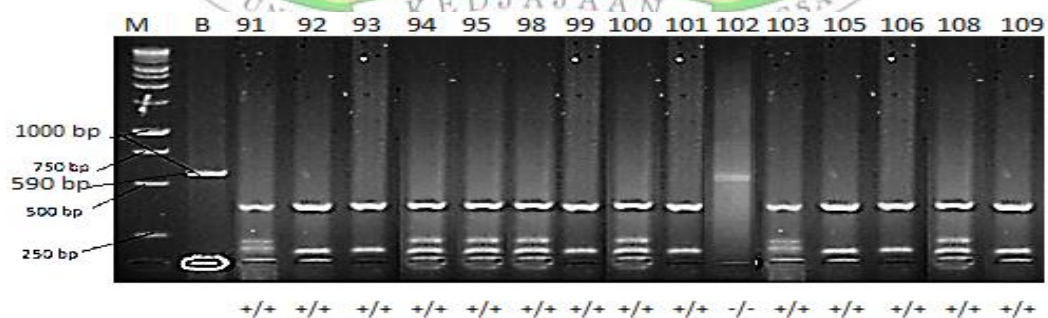
Hasil PCR yang baik dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kemurnian DNA hasil ekstraksi, ketepatan pemilihan primer yang digunakan, serta ketepatan kondisi PCR. Primer merupakan bagian yang penting dalam PCR karena primer merupakan inisiator pada sintesis DNA target. Gambar selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.3. Genotiping *exon 5 GH | Acil*

Produk pemotongan enzim *Acil* dari gen *GH exon 5* pada sapi Pesisir dan sapi Simmental yang divisualisasikan dengan menggunakan gel agarose 2%, disajikan sebagai berikut.

4.3.1 Sapi Pesisir

Hasil genotiping menggunakan restriksi enzim *Acil* dari gen *GH exon 5* pada sapi Pesisir diperoleh pola pita yang beragam dengan genotip homozigot (+/+) dan homozigot (-/-), sebagai contoh disajikan pada Gambar 7. Gambar selengkapnya disajikan pada Lampiran 3.



Gambar 7. Hasil Restriksi Sapi Pesisir Fragmen Gen *Acil*

Keterangan:

M = Marker bentop

B = Blanko

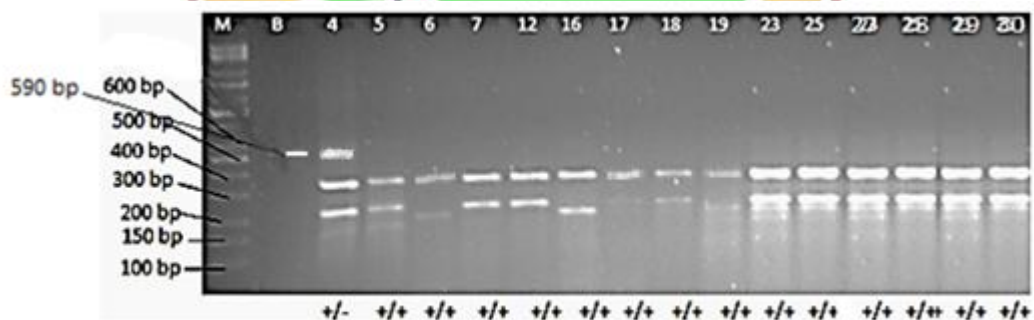
No sampel 91, 92, 93, 94, 95, 98, 99, 100, 101, 103, 105, 106, 108, 109 = individu Homozigot (+/+)

No sampel 102 = individu Homozigot (-/-)

Dari Gambar 7 dapat dikemukakan bahwa diperoleh genotip yaitu genotip pertama disebut genotip homozigot (+/+) dikarenakan dua atau lebih pita diluar posisi / dibawah ukuran fragmen amplifikasi (590 bp). Genotip kedua disebut genotip homozigot (-/-) dikarenakan hanya satu pita berukuran sepanjang fregmen amplifikasi (590 bp). Hasil selengkapnya dari penggenotipan ini dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.3.2. Sapi Simmental

Hasil genotyping menggunakan restriksi enzim *AciI* dari gen GH *exon 5* pada sapi Simmental diperoleh pola pita yang beragam dengan genotip homozigot (+/+) dan Heterozigot (+/-), sebagai contoh disajikan pada Gambar 8. Gambar selengkapnya disajikan pada Lampiran 3.



Gambar 8. Hasil Restriksi Sapi Simmental Fragmen Gen *AciI*

Keterangan: M = Marker DNA Ladder kit 100 pb

B = Blanko

No sampel 4 = Individu Heterozigot (+/-)

No sampel 5,6,7,12,16,17,18,19,23,25,27,28,29,30 = Individu Homozigot (+/+)

Dari Gambar 8 dapat dikemukakan bahwa dipeoleh genotip yaitu genotip pertama disebut homozigot (+/+) dikarenakan dua atau lebih pita diluar posisi / dibawah ukuran fragmen amplifikasi (590 bp). Genotip kedua disebut homozigot (+/-) dikarenakan dua / lebih pita dengan satu pita pada posisi ukuran fragmen

terampifikasi dan pita lain berada dibawah posisi fragmen amplifikasi. Hasil selengkapnya dari penggenotipan ini dapat dilihat pada Lampiran 5.

4.4. Frekuensi Genotipe dan Frekuensi Alel GH|AciI

Berdasarkan jumlah dan macam genotip serta alel gen GH pada sapi Pesisir dan sapi Simmental disajikan pada Lampiran 4 dapat dihitung frekuensi genotip dan alel disajikan pada Table 1 dan Table 2.

4.4.1. Sapi Pesisir

Penelitian ini menggunakan 75 sampel sapi Pesisir sehingga menghasilkan 2 genotip yaitu genotip homozigot (+/+) sebanyak 74 sampel dan genotip homozigot (-/-) sebanyak 1 sampel, hasil genotip sapi Pesisir selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 4.

Hasil hitungan frekuensi genotip dan frekuensi alel pada sapi Pesisir disajikan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Frekuensi Genotipe dan alel GH|AciI sapi Pesisir

Genotip	Jumlah Genotip	Frekuensi Genotip	JumlahAlel		Frekuensi Alel	
			+	-	+	-
(+/+)	74	0,9867	148	0	0,9867	0,0133
(+/-)	0	0	0	0		
(-/-)	1	0,0133	0	2		
Total	75	1	148	2		

Hasil perhitungan frekuensi genotip dan frekuensi alel pada Tabel 1 diatas diperoleh hasil frekuensi genotip homozigot (+/+) sebesar 0,9867, frekuensi genotipe homozigot (-/-) sebesar 0,0133. Hasil frekuensi alel diperoleh frekuensi alel (+) sebesar 0,9867 dan frekuensi alel (-) sebesar 0,0133, analisis data sapi Pesisir selengkapnya pada Lampiran 6. Hasil ini menggambarkan bahwa sebaran genotip dan alel penelitian bersifat polimorfik sebagaimana dikemukakan oleh Nei

dan Kumar (2000) bahwa gen dikatakan polimorfik apabila salah satu alelnya mempunyai frekuensi kurang dari 99%.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil Penelitian Hilmia (2017) menggunakan sapi Ciamis lokal dilokasi ciamis dengan (GH-*AciI*) memperoleh frekuensi homozigot (+/+) sebesar 0,5204, frekuensi heterozigot (+/-) sebesar 0,4490 dan frekuensi homozigot (-/-) sebesar 0,0306. Sedangkan frekuensi alel memperoleh frekuensi alel (+) sebesar 0,7449, frekuensi alel (-) sebesar 0,2551.

4.4.2. Sapi Simmental

Penelitian ini menggunakan 75 sampel sapi Simmental sehingga menghasilkan 2 genotip yaitu homozigot (+/+) sebanyak 72 sampel, dan heterozigot (+/-) sebanyak 3 sampel, hasil genotip sapi Simmental selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 5.

Hasil hitungan frekuensi genotip dan frekuensi alel pada sapi Simmental disajikan pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Frekuensi Genotipe dan alel GH|*AciI* sapi Simmental

Genotip	Jumlah Genotip	Frekuensi Genotip	Jumlah Alel		Frekuensi Alel	
			+	-	+	-
(+/+)	72	0,96	144	0	0,98	0,02
(+/-)	3	0,04	3	3		
(-/-)	0	0	0	0		
Total	75	1	147	3		

Hasil perhitungan frekuensi genotip dan frekuensi alel pada Tabel 2 diatas diperoleh hasil frekuensi genotip heterozigot (+/-) sebesar 0,04 dan frekuensi genotip homozigot (+/+) sebesar 0,96. Sedangkan untuk hasil frekuensi alel diperoleh frekuensi alel (+) sebesar 0,98 dan frekuensi alel (-) sebesar 0,02, analisis data sapi Simmental selengkapnya pada Lampiran 7. Hasil ini

menggambarkan bahwa sebaran genotip dan alel penelitian bersifat polimorfik sebagaimana dikemukakan oleh Nei dan Kumar (2000) bahwa gen dikatakan polimorfik apabila salah satu alelnya mempunyai frekuensi kurang dari 99%.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil Penelitian Hilma. (2017) menggunakan sapi PO (Ongole Grade) dilokasi bogor dengan (GH-*AciI*) memperoleh frekuensi homozigot (+/+) sebesar 0,4286 dan frekuensi Heterozigot (+/-) sebesar 0,5714. Sedangkan frekuensi alel diperoleh frekuensi alel (+) sebesar 0,714 dan frekuensi alel (-) sebesar 0,2857.

Dari Tabel 1 dan Tabel 2 diatas didapat frekuensi genotip dan alel yang berbeda antara sapi Pesisir dan Simmental. Frekuensi gen dan alel yang timbul dipengaruhi oleh seleksi, mutasi gen, pencampuran dua populasi yang frekuensi gen berbeda, silang dalam (*inbreeding*), silang luar (*outbreeding*) dan *genetic drift* (Yuniarsih, *dkk.*, 2011).

4.5. Uji Keseimbangan Hardy-Weinberg

Hasil uji keseimbangan Hady-Weinberg terhadap Frekuensi alel dan frekuensi genotipe pada populasi sapi Pesisir dan sapi Simmental dapat dijelaskan sebagai berikut.

4.5.1. Sapi Pesisir

Hasil uji keseimbangan pada sapi Pesisir frekuensi alel dan frekuensi genotipe dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Dari Tabel 3 dapat dikemukakan bahwa hasil uji χ^2 diperoleh $\chi_h^2 > \chi_{t(0,05)}^2$ artinya frekuensi genotip hasil penelitian ini berbeda nyata dengan frekuensi genotip Hardy-Weinberg. Dengan demikian frekuensi genotip yang diperoleh berada dalam ketidakseimbangan Hardy-Weinberg.

Tabel 3. Uji *Chi square* terhadap Keseimbangan H-W GH-AciI pada sapi Pesisir.

Keseimbangan HW	Macam dan Frekuensi Genotip			Total	X^2_h	X^2_t 0,05
	(+/+)	(+/-)	(-/-)			
Observasi (O)	74	0	1	75		
Harapan (E)	73	1,965	0,0132	75	75.7487	5,991
$(O-E)^2/E$	0,0137	1,965	73,77	75.7487		

Keterangan : $x^2_h > x^2_{t(0,05)} = 5,991$ (berbeda nyata)

Hal ini mungkin disebabkan karena kelompok sapi Pesisir yang digunakan ini telah terseleksi dan perkawinannya terjadi secara acak. Hal ini sesuai dengan apa yang dikemukakan oleh Hardjosubroto (1998) dan Vasconcelloset *al.*, (2003) yaitu hal-hal yang dapat mempengaruhi ketidakseimbangan Hardy-Weinberg adalah mutasi, *gene flow*, migrasi, seleksi, *genetic drift*, dan tidak terjadi perkawinan secara acak, populasi yang sedikit.

4.5.2. Sapi Simmental

Hasil uji keseimbangan pada sapi Pesisir frekuensi alel dan frekuensi genotipe dapat dilihat pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Uji *Chi square* terhadap Keseimbangan H-W GH-AciI pada sapi Simmental.

Keseimbangan HW	Macam dan Frekuensi Genotip			Total	χ^2	$\chi^2_{0,05}$
	(+/+)	(+/-)	(-/-)			
Observasi (O)	72	3	0	75		
Harapan (E)	72,04	2,94	0,03	75	0,03123	5,991
$(O-E)^2/E$	0,0000124	0,00122	0,03	0,03123		

Keterangan : $x^2_h < x^2_{t(0,05)} = 5,991$ (tidak berbeda)

Dari Tabel 4 di atas dapat dikemukakan bahwa diperoleh $X^2h < X^2t$ (0,05) ini berarti tidak terdapat perbedaan yang nyata antara frekuensi alel dan frekuensi genotip pada populasi sapi Simmental. Hasil ini menunjukkan bahwa populasi sapi Simmental di yang diteliti ini berada dalam keseimbangan Hukum Hardy Weinberg yaitu tidak ada seleksi, populasi cukup besar, tidak migrasi, tidak terjadi perkawinan secara acak (Vasconellos *et al.*, 2003).



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan :

1. Dari hasil penelitian ini diperoleh dua genotip sapi Pesisir yaitu genotip homozigot (+/+) dengan frekuensi 0,9867, genotip heterozigot (-/-) dengan frekuensi 0,0133 . Sedangkan sapi Simmental diperoleh dua pita genotip yaitu genotip homozigot (+/+) dengan frekuensi 0,96, genotip heterozigot (+/-) dengan frekuensi 0,04.
2. Diperoleh pada sapi Pesisir frekuensi alel (+) dan alel (-) masing-masing sebesar 0,9867 dan 0,0133. Sedangkan Sapi Simmental diperoleh frekuensi alel (+) dan alel (-) masing-masing sebesar 0,98 dan 0,02, sehingga sebaran frekuensi alel tersebut bersifat polimorfik (beragam).
3. Populasi sapi Pesisir berada dalam ketidakseimbangan Hardy-Weinberg. Sebaliknya pada populasi sapi Simmental berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, disarankan kepada peneliti berikutnya mempelajari keragaman genetik dan diperlukan jumlah sampel sapi yang lebih banyak.