



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**Single Nucleotide Polymorphism (SNP) EKSON 10 GEN  
RESEPTOR HORMON PERTUMBUHAN PADA SAPI PESISIR  
SUMATERA BARAT**

**SKRIPSI**



**TRISA FITRIANA  
1110612139**

**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2015**

**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG**

Kami dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang ditulis oleh:

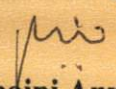
**TRISA FITRIANA**  
**1110612139**

**“SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM (SNP) EKSON 10 GEN  
RESEPTOR HORMON PERTUMBUHAN PADA SAPI PESISIR  
SUMATERA BARAT ”**

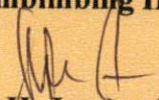
Diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Peternakan

Menyetujui :

**Pembimbing I**

  
**Dr. Ir. Sarbaini Anwar, M.Sc**  
**NIP. 195601011984031004**

**Pembimbing II**

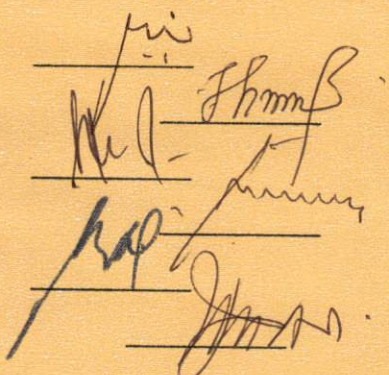
  
**Dr. Ir. H. Jaswandi, MS**  
**NIP.196310041988101001**

**Tim Penguji**

**Nama**

**TTD**

Ketua	Dr. Ir. Sarbaini Anwar, M.Sc
Sekretaris	Dr. Ir. Hj. Tinda Afriani, MP
Anggota	Dr. Ir. H. Jaswandi, MS
Anggota	Dr. Ir. H. Yurnalis, M.Sc
Anggota	Dr. Rusfidra, S.Pt, MP
Anggota	Dr. Ir. Firda Arlina, M.Si

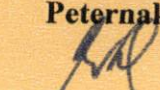


Mengetahui:

**Dekan Fakultas Peternakan  
Universitas Andalas**

  
**Dr. Ir. H. Jafrinur, MSP**  
**NIP. 196021551986031005**

**Ketua Program Studi  
Peternakan**

  
**Dr. Rusfidra, S.Pt, MP**  
**NIP.132231457**

**Tanggal Lulus : Selasa, 27 Oktober 2015**

*SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM (SNP) EKSON 10 GEN  
RESEPTOR HORMON PERTUMBUHAN PADA SAPI PESISIR  
SUMATERA BARAT*

**Trisa Fitriana**, dibawah bimbingan  
**Dr. Ir. Sarbaini Anwar MSc, dan Dr. Ir. Jaswandi MS**  
Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan  
Universitas Andalas Padang, 2015

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman sekuen ekson 10 gen reseptor hormon pertumbuhan (GHR) pada sapi Pesisir menggunakan metoda *single nucleotide polymorphism* (SNP). Penelitian ini menggunakan sampel darah yang berasal dari 50 ekor sapi Pesisir jantan berumur  $\pm 1,5$  tahun yang dipelihara di Kabupaten Pesisir Selatan. Sampel darah diambil melalui *vena jugularis* sebanyak  $\pm 10$  ml. DNA dari sampel darah diisolasi menggunakan *protocol Genomik DNA Purification Kit* (Promega). DNA total kemudian diamplifikasi menggunakan pasangan primer *Forward* 5'-GGT GTG ATG TTG GGG TTA GC-3' dan *Reverse* 5'-AGG TAC CAT CGC ACA TGT CA-3' yang menghasilkan fragmen ekson 10 gen GHR sepanjang 529 bp. Sekuensing produk amplifikasi fragmen ekson 10 gen GHR dikirim ke 1<sup>st</sup> Base Singapore. Dari 50 sampel yang disekuensing 46 sampel diantaranya memiliki *electropherogram* cukup bagus dan 4 sampel diantaranya dengan kualitas jelek. Untuk melihat keragaman sekuen yang diperoleh, produk sekuensing dibandingkan dengan sekuen Gordon *et al* (1983). Sekuen ekson 10 gen GHR ini memiliki tingkat kesamaan dengan sekuen Gordon *et al* (1983) antara 96-100%. Hasil perbandingan menunjukkan 27 sampel yang diuji masih memiliki urutan nukleotida yang sama dengan frekuensi alel 58,70%, sisanya mengalami mutasi transisi A→G pada posisi 229 sebanyak 1 sampel dengan frekuensi alel 2,17%, mutasi tranversi G→C pada posisi 524 sebanyak 9 sampel dengan frekuensi alel 19,56% dan mengalami delesi A pada posisi 226 sebanyak 9 sampel dengan frekuensi alel 19,56%. Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat keragaman nukleotida ekson 10 gen GHR.

Kata kunci : Sapi Pesisir, ekson 10 gen GHR, *SNP*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan atas Rahmat Allah SWT, sehingga dengan petunjuk-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Ekson 10 Gen Reseptor Hormon Pertumbuhan pada Sapi Pesisir Sumatera Barat”**.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Bapak Dr.Ir.Sarbaini, MSc selaku pembimbing satu dan juga kepada Bapak Dr.Ir. Jaswandi, MS selaku pembimbing dua yang telah memberikan bimbingan dan arahan yang sangat bermanfaat bagi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih penulis ucapkan kepada Bapak Dekan dan Wakil Dekan Fakultas Peternakan, Ketua dan Sekretaris Jurusan Produksi Ternak, beserta seluruh Dosen, Kepala Laboratorium Bioteknologi Ternak, dan Bapak Dr.Ir. Yurnalis, MSc yang telah menyediakan sampel darah dan petunjuk serta membantu penulisan dalam menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada orang tua, keluarga dan teman-teman yang senantiasa mendo'akan dan memberikan dukungan dalam penelitian dan penyelesaian skripsi.

Penulis menyadari masih banyak keterbatasan dalam penulisan skripsi ini, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.

Padang, September 2015

Trisa Fitriana

## DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK

KATA PENGANTAR .....	i
DAFTAR ISI .....	ii
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii

### I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
1.5 Hipotesis Penelitian.....	3

### II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Sapi Pesisir.....	4
2.2 Keragaman Genetik.....	5
2.3 Reseptor Hormon Pertumbuhan.....	6
2.4 Gen Reseptor Hormon Pertumbuhan.....	7
2.5 Penanda Molekuler.....	12
2.6 Single Nucleotide Polymorphism (SNP).....	13

### III MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian.....	17
3.1.1 Bahan dan Alat Penelitian.....	17

3.2.1	Pengambilan Sampel Darah.....	18
3.2.2	Isolasi DNA Total.....	18
3.2.3	Amplifikasi Fragmen Ekson 10 gen GHR.....	20
3.2.4	Elektroforesis.....	20
3.2.5	Sekuensing.....	21
3.2.6	Peubah Penelitian.....	22
3.2.7	Analisis Data.....	22
IV	Hasil dan Pembahasan	
4.1	Isolasi DNA Total.....	23
4.2	Amplifikasi Fragmen Ekson 10 gen GHR.....	23
4.3	Sekuensing.....	25
4.4	Keragaman Sekuen.....	26
V	Kesimpulan dan Saran	
5.1	Kesimpulan.....	29
5.2	Saran.....	29
	DAFTAR PUSTAKA.....	30

## DAFTAR TABEL

Tabel	Teks	Halaman
1.	Hasil Perbandingan Produk Sekuensing dengan Sekuen Gordon <i>et al</i> (1983).....	26

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1.	Elektroforesis DNA Total hasil isolasi menggunakan <i>Genomik DNA Purification Kit</i> dari Promega.....	23
2.	Hasil elektroforesis amplifikasi Fragmen gen GHR.....	24
3.	Electropherogram hasil sekuensing gen GHR dengan kualitas baik.....	25
4.	Electropherogram hasil sekuensing gen GHR dengan kualitas jelek.....	25
5.	<i>Electropherogram</i> yang menunjukkan kejadian perubahan mutasi transisi A→G pada posisi 2.....	27
6.	<i>Electropherogram</i> yang menunjukkan kejadian perubahan mutasi tranversi G→C pada posisi 524.....	27
7.	<i>Electropherogram</i> yang menunjukkan kejadian perubahan deleksi A pada posisi 226.....	27

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Teks	Halaman
1.	Sekuen Gen Reseptor Hormon Perumbuhan pada exon 10.....	36
2.	Sekuen oligonukleotida gen GHR exon 10 pada sapi Pesisir.....	37
3.	Hasil Isolasi DNA.....	44
4.	Hasil Amplifikasi Fragmen Ekson 10 gen GHR.....	45

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sapi lokal memiliki peran strategis dalam memajukan perekonomian, membuka lapangan kerja, dan memenuhi kebutuhan protein hewani. Sapi lokal juga berperan penting dalam sistem usaha tani dan telah dipelihara peternak secara turun-temurun. Sifat-sifat unggul sapi lokal antara lain mampu beradaptasi dengan baik terhadap pakan berkualitas rendah dan sistem pemeliharaan ekstensif tradisional, serta tahan terhadap penyakit dan parasit (Adrial, 2010).

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).

Sapi Pesisir sebagai suatu plasma nutfah Indonesia diduga telah mengalami penurunan genetik yang disebabkan seleksi alami telah berjalan kearah negatif, dimana ternak yang dipertahankan untuk dipelihara adalah ternak yang berat tubuhnya lebih kecil, sedangkan ternak yang genetiknya lebih baik (tubuh lebih besar) dijual untuk mendapat nilai jual yang lebih besar. Hal ini menyebabkan terkurasnya sumber daya genetik sapi Pesisir dari tahun ke tahun, sehingga ternak yang tersisa adalah ternak yang pertumbuhan lambat yang tercermin dengan rendahnya bobot badan. Penelitian Saladin (1983) melaporkan rata-rata berat badan sapi Pesisir jantan dewasa (umur 4-6 tahun) 294 kg

sedangkan penelitian Sarbaini (2004) melaporkan rata-rata berat badan jantan dewasa 162 kg, jadi telah terjadi penurunan berat badan yang sangat besar selama 20 tahun terakhir. Untuk meningkatkan performa sapi Pesisir seleksi yang tepat harus dilakukan, seleksi berdasarkan *record* ternak sulit dilakukan karena *record* produksi sapi Pesisir sulit diperoleh, dan juga akan membutuhkan waktu yang lama dalam pelaksanaannya.

Teknologi terakhir telah memungkinkan untuk meningkatkan ketepatan dan efisiensi seleksi melalui seleksi berbantuan gen (*Gen Assisted Selection* atau GAS) atau seleksi berbantuan marka (*Marker Assisted Selection* atau MAS). Namun demikian, penerapan dengan menggunakan pendekatan MAS memerlukan suatu identifikasi penciri gen kandidat yang dapat diperoleh melalui teknik PCR-RFLP, PCR-SSCP, DGGE, maupun analisis sekuen (*sequencing*).

Hormon pertumbuhan (GH) adalah hormon polypeptide dari *pituitary* yang memainkan peran sentral pada pertumbuhan hewan dan metabolisme. Untuk bisa menimbulkan efeknya GH harus terikat pada reseptornya yaitu GHR. Organ target utama GH adalah hati, dimana GH mengatur ekspresi beberapa gen. Salah satu gen yang diketahui sangat berperan dalam pertumbuhan seekor ternak sapi adalah gen hormon pertumbuhan (*growth hormone gene/bGH*). Gen GH dibutuhkan untuk pertumbuhan jaringan, metabolisme ternak, pengaturan reproduksi, laktasi, pertumbuhan tubuh normal (Beauchemin *et al.*, 2006) dan sifat pertumbuhan pada sapi pedaging (Hale *et al.*, 2000). Faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan dari individu adalah gen reseptor hormone pertumbuhan (*growth hormone receptor gene/bGHR*). Zhou & Jiang (2005) menyatakan bahwa pada tingkatan jaringan, aksi biologis dari gen GH dimediasi

oleh gen GHR. Berdasarkan fungsi mediasi yang dimiliki oleh gen GHR maka keragaman pertumbuhan ternak sapi dapat juga diidentifikasi dari keragamannya. Gen GHR pada sapi berada pada kromosom 20 terdiri dari 10 ekson dan 9 intron.

Dari uraian di atas maka dilakukan penelitian untuk mengetahui keragaman gen reseptor hormon pertumbuhan (GHR) dengan judul **"Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Ekson 10 Gen Reseptor Hormon Pertumbuhan pada Sapi Pesisir Sumatera Barat"**

### **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah terdapat keragaman yang tinggi pada urutan nukleotida sekuen ekson 10 gen GHR.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman sekuen ekson 10 gen GHR pada sapi Pesisir berdasarkan single nukleotide polymorphism (SNP)

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai salah satu informasi dasar dalam upaya perbaikan mutu genetik sapi Pesisir dan juga sebagai acuan bagi penelitian berikutnya.

### **1.5 Hipotesis Penelitian**

Hipotesis penelitian ini adalah terdapat keragaman sekuen ekson 10 gen GHR pada sapi Pesisir.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Umum Sapi pesisir

Sapi Pesisir merupakan sapi asli yang berkembang di kawasan Pesisir Sumatera Barat. Saladin (1983) menyatakan bahwa sapi Pesisir sebagai sisa sapi asli yang pada mulanya berkembang di Kabupaten Pesisir Selatan. Sejarah dan asal usul sapi Pesisir belum diketahui secara pasti. Diduga sapi ini berasal dari India yang dibawa bangsa Hindu ke Indonesia atau merupakan sapi liar Indonesia seperti banteng (*Bos sondaicus* dan *Bos Indicus*) yang dijinakkan. Sapi ini sama dengan sapi Jawa dan sapi Sumatera (Adrial, 2010).

Sugeng (1992) menyatakan bahwa banteng merupakan sumber sapi asli Indonesia. Sapi yang ada sekarang merupakan keturunan banteng (*Bos bibos*) yang dewasa ini dikenal dengan nama sapi Bali, sapi Madura, sapi Jawa, sapi Sumatera dan sapi local lainnya. Karakteristik sapi Pesisir yang lain adalah memiliki kepala pendek dan mengarah keluar seperti kambing. Sapi jantan memiliki kepala pendek, leher pendek dan besar, ponok besar, kemudi pendek dan membulat. Sapi betina memiliki kepala agak panjang dan tipis, kemudi miring, pendek dan tipis, tanduk kecil, dan mengarah keluar (Saladin, 1983). Anwar, (2004) menyatakan bahwa sapi Pesisir memiliki pola warna tunggal. Warna bulu dikelompokkan menjadi lima warna utama, yaitu merah bata (34,35%), kuning (25,51%), coklat (19,96%), hitam (10,91%) dan putih (9,26%).

Sapi Pesisir mampu melahirkan anak setiap tahunnya, sehingga masyarakat Sumatera Barat menyebutnya dengan sebutan local *Jawi ratuih* atau *Buntieng ratuih* yang artinya sapi yang melahirkan banyak anak. Meskipun berukuran kecil tetapi sapi Pesisir memiliki persentase karkas yang cukup tinggi

(Saladin, 1983), persentase karkas sapi Pesisir adalah 50,60% lebih tinggi dari persentase karkas sapi Ongole (48,80%), sapi Madura (47,20%), sapi PO (45%) dan kerbau (39,90%). Pertambahan bobot badan harian sapi Pesisir jantan pada waktu lahir sampai sapih adalah 0,29 kg/ekor/hari, lepas sapih samapi 2 tahun 0,21/kg/ekor/hari, dan umur 3-4 minggu 0,12 kg/ekor/hari (Saladin, 1983). Namun penambahan konsentrat pada sapi Pesisir dapat meningkatkan pertambahan bobot badan dengan rata-rata 0,68 kg/ekor/hari, dibandingkan dengan pemeliharaan tradisional yang hanya 0,1 kh\g/ekor/hari (Khasrad, 2006).

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. Kemudian Jakaria (2008) melakukan kajian terhadap keragaman gen GH sapi Pesisir melalui teknik PCR-RFLP yang memperoleh keragaman tinggi (polimorfik) pada penciri PCR-MspI fragmen gen GH MspI dan rendah (monomorfik) pada penciri PCR-AluI fragmen gen GH.

## **2.2 Keragaman Genetik**

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 yang terfragmentasi dalam suatu spesies (Hartl dan Clark, 1997). Keragaman genetik antara subpopulasi dapat diketahui dengan melihat persamaan dan perbedaan frekuensi alel dan genotipe diantara subpopulasi (Li *et al.*, 2000).

meningkatkan pertumbuhan jaringan lunak pada kaki dan tangan (Findling and Tyrrell, 1991), dan mempengaruhi fungsi jantung (Bollano et al., 2000).

Pertumbuhan adalah suatu proses yang kompleks, dan membutuhkan koordinasi dari aksi beberapa hormon. Pengaturan utama dari GH dalam merangsang pertumbuhan tubuh adalah merangsang liver dan jaringan lain untuk mengsekresikan *IGF-I*. *IGF-I* merangsang *proliferasi* dari *chondrocytes* (*cartilage cells*), yang menghasilkan pertumbuhan tulang. Hormone pertumbuhan kelihatan mempunyai efek langsung pada pertumbuhan tulang dalam merangsang diferensiasi dari *chondrocytes*. *IGF-I* juga memegang peran kunci pada pertumbuhan otot, yang merangsang diferensiasi dan proliferasi dari *myoblasts*. Juga merangsang penyerapan asam amino dan sintesa protein pada otot dan jaringan lain.

#### **2.4 Gen Reseptor Hormon Pertumbuhan.**

Salah satu gen yang diduga dan memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan (bentuk dan ukuran) dari semua bangsa sapi, khususnya pada bangsa sapi Pesisir adalah gen hormon pertumbuhan (*growth hormone gene*) pada *bovine* (bGH). Gen hormon pertumbuhan pada sapi berperan penting dalam proses biologis seperti perkembangan kelenjar susu, laktasi, pertumbuhan dan mengatur metabolisme (Etherton, 1998).

Eleswarapu and Jiang, 2005 menyatakan GH dapat mengatur ekspresi mRNA HNF-3 $\gamma$  dan lima LETFs (*liver-enriched transcription factors*) lainnya termasuk HNF-3 $\beta$ , HNF-6, HNF-4 $\alpha$ , C/EBP $\alpha$ , dan DBP pada hati sapi. Semua LETF ini berpotensi memediasi pengaturan gen lain oleh GH pada hati sedangkan efek GH baru akan timbul jika GH terikat pada GHR. Sehingga gen GH dan GHR

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).

### **2.3 Reseptor Hormon Pertumbuhan.**

Growth hormone (GH) adalah hormone polypeptide dari *pituitary* yang memainkan peran sentral pada pertumbuhan hewan dan metabolisme (Harvey *et al.*, 1995). Organ target utama GH adalah hati, dimana GH mengatur ekspresi beberapa gen. Untuk bisa menimbulkan efeknya GH harus terikat pada reseptornya yaitu GHR. Beberapa penelitian mengenai ekspresi gen memperlihatkan GH mengatur ekspresi *insulin-like growth factor-I (IGF-I)* (Mathews *et al.*, 1986), *IGF binding protein (IGFBP)-1* (Seneviratne *et al.*, 1990), *IGFBP-3* (Lemmey *et al.*, 1997), *acid labile subunit (ALS)* dari *IGF binding complex* (Ooi *et al.*, 1997), *serine protease inhibitor (Spi) 2-1* (Yoon *et al.*, 1990), *suppressors of cytokine signaling (SOCS) gens* (Tollet-Egnell *et al.*, 1999), *phosphoenol pyruvate kinase C* dan *glucose transporter GLUT-2* (Valera *et al.*, 1993).

Seperti diketahui GH secara dramatis mempengaruhi kerangka tubuh, hormon ini juga mempengaruhi secara luas proses-proses metabolisme. Hormon ini memperkuat efektifitas sejumlah besar hormon lain, tampaknya pada jaringan jaringan sasaran bekerja dengan cara menghasilkan jenis lingkungan yang esensial agar hormon-hormon lain dapat bekerja dengan aktifitas penuh.

Hormon GH diketahui mempengaruhi reproduksi betina dan produksi susu (Hull and Harvey, 2001), metabolisme sodium dan air (Johannsson *et al.* 2002),

adalah kandidat gen penting yang dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk sifat pertumbuhan, karkas, dan produksi susu pada ternak (Ge *et al.*, 2003).

Dybus *et al.*, (2002) dengan menggunakan enzim restriksi *AluI* menemukan adanya hubungan antara polimorfisme gen GH dengan produksi susu sapi *black-white* polandia dan mendapatkan adanya polimorfisme bGH/*AluI*-*MspI*. Pada *Japanese black cattle* bGH memiliki 3 haplotip A, B, C (Tatsuda *et al.*, 2008) dan adanya mutasi pada posisi 127 dan 172 exon 5 (leucine<sub>127</sub>, threonine<sub>172</sub>), (valine<sub>127</sub>, threonine<sub>172</sub>) and (valine<sub>127</sub>, methionine<sub>172</sub>). Selanjutnya Tatsuda *et al.* (2008) melaporkan berat karkas dan pelemakan rendah berhubungan dengan haplotip A, dan pelemakan daging akan ditingkatkan oleh haplotip C.

Reis *et al.* (2001) melaporkan adanya hubungan polimorfisme bGH-*AluI* dengan pertumbuhan dan berat badan pada sapi Portugis. Polimorfis bGH intron III pada *Indian Zebu (Bos Indicus)* dengan enzim *MspI* telah diteliti oleh Sodhi *et al.*, (2007) yang memperoleh dua alel (*MspI*<sup>-</sup> and *MspI*<sup>+</sup>). Sedangkan Ferraz (2006) mendapatkan 6 polimorfisme baru pada fragmen gen bGH yaitu satu indel dan lima SNPs yang bisa digunakan sebagai marker genetik.

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

penyesuaian dengan gen-gen lain (Ge *et al.*, 2003). Growth hormone terlibat pada banyak proses metabolis dan fisiologis (Etherton *et al.*, 2004). Untuk mendatangkan efeknya pada jaringan target GH harus terikat reseptornya (Zhu *et al.*, 2001). Sehingga variasi sekuen dari GH dan *Growth Hormone Receptor* (GHR) adalah sangat penting untuk memahami bagaimana genotype mempengaruhi phenotype seperti pertumbuhan dan komposisi karkas.

Gen GHR pada sapi berada pada chromosome 20 terdiri atas 10 exon dan 9 intron yang mempunyai panjang sekuen 365.186 bp. Terdapat mikrosatelit dan 9 SNP pada daerah promotor gen GHR, 3 SNP diantaranya telah dilaporkan oleh Hale *et al.*, (2000).

Gen GHR mendasari QTL untuk produksi dan komposisi susu dan persentase lemak tubuh (Georges *et al.*, 1995; Arranz *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 1998; Sirja Viitala *et al.*, 2006). Ge *et al.*, (2003) menyatakan polimorfisme gene GHR berpotensi digunakan sebagai marker dalam peningkatan konsentrasi serum IGF1 pada sapi *Taurus* dan *Bos indicus* cattle, yang berhubungan dengan less weaning weight, berat karkas dan pelemakan pada sapi Angus (Hale *et al.*, 2000).

Feng *et al.*, (1997) mendapatkan adanya hubungan antara gen GHR dengan komposisi susu sapi Holstein-Friesian, sedangkan Viitala *et al.*, (2006) mendapatkan adanya hubungan polimorfisme gen GHR dengan produksi susu sapi Finnish Ayrshire.

Beberapa SNP pada gen GHR sapi telah dilaporkan berhubungan dengan level serum IGF1, berat karkas, lean cuts, prosentase berat karkas segar, dan drip loss (Ge *et al.*, 2003; Maj *et al.*, 2004, 2006a, Di Stasio *et al.*, 2005). Sedangkan Ge *et al.*, (2000) mendapatkan 4 polimorfisme pada exon 10, yaitu C menjadi T

pada posisi 76 bp, A menjadi G pada posisi 200, C menjadi T pada posisi 229, dan A menjadi G pada posisi. Menurut Ge *et al.*, (2003) polimorfisme ini dapat dideteksi dengan menggunakan enzyme *MaeII* (Boehringer Mannheim, Indianapolis IN), *NarI* (Promega Co., Madison, WI), *NlaIII* (Biolabs, Beverly, MA), *AluI* (Promega). Selanjutnya Ge *et al.*, (2003) mendapatkan polimorfisme pada exon 10 sangat berhubungan dengan konsentrasi IGF1 darah. Sebelumnya Falaki *et al.*, (1996) mendapatkan polimorfisme yang sangat tinggi pada locus GHR dengan menggunakan enzyme *TagI* dengan menghasilkan 6 pita. Sedangkan Hale *et al.*, (2000) mendapatkan sekuen berulang TG pada daerah promoter gen GHR berhubungan dengan turunnya pertumbuhan anak sapi Angus.

Ge *et al.* (2003) menyarankan polimorfisme pada gen GHR dapat dijadikan marker yang potensial untuk peningkatan konsentrasi serum IGF1. Lucy *et al.* (1998) menyatakan mikrosatelit GT pada daerah promoter gen GHR pada sapi *Bos indicus* panjangnya 11 bp sedangkan *Bos taurus* sepanjang 16-20-bp.. Allele yang teridentifikasi pada *Bos taurus*, dan *Bos indicus* berhubungan dengan berat badan rendah, berat karkas, skor pelemakan pada sapi Angus (Hale *et al.*, 2000).

Feng *et al.*, (1997) mendapatkan adanya variasi gen GHR pada exon 8 yang menyebabkan terjadi perubahan T menjadi A yang menghasilkan perubahan phenylalanine (GHR279F) menjadi tyrosine (GHR279Y) dimana sapi yang membawa GHR279Y produksinya lebih tinggi dari GHR279F. Selanjutnya Feng *et al.*, (1997) juga mendapatkan keragaman sekuen ini berpengaruh terhadap berat ternak dan menyatakan polimorfisme pada GHR berhubungan dengan ukuran dewasa tubuh ternak. Polimorfisme pada gen GHR dan disekitar gen GHR

diketahui berhubungan dengan beberapa sifat daging seperti pertumbuhan, serum IGF1, drip loss (Hale *et al.*, 2000; Ge *et al.*, 2003; Di Stasio *et al.*, 2005). Beberapa SNP pada gen GHR sapi telah diuji hubungannya dengan sifat pertumbuhan dan produksi daging tapi terbukti hanya berhubungan dengan level serum IGF1, berat karkas, lean cuts, persentase berat karkas segar, dan drip loss (Ge *et al.*, 2003; Di Stasio *et al.*, 2005).

Penemuan tersebut akan memberikan hasil dan harapan baru dalam upaya perbaikan mutu genetik ternak (Soller and Beckmann, 1983) termasuk ternak-ternak lokal kita seperti sapi Pesisir dengan keunikannya yang khas. Apabila penciri-penciri tersebut (PCR-RFLP bGH) menunjukkan keterkaitan dengan sifat-sifat produksi yang menguntungkan terutama sifat-sifat yang ekonomis, maka penciri tersebut dapat digunakan sebagai salah satu kriteria seleksi atau yang lebih populer dikenal dengan MAS (*Marker Assisted Selection*) atau GAS (*Genotype Assisted Selection*) (Chung *et al.*, 1998).

Melalui MAS dimungkinkannya suatu peningkatan mutu genetik yang lebih berarti yaitu 15-30% (Kashi *et al.*, 1990) dan bahkan diharapkan sampai 44,7-99,5% tergantung kepada model yang digunakan. Namun demikian, penerapan dengan menggunakan pendekatan MAS memerlukan suatu indentifikasi penciri gen kandidat (*candidate* gen). Menurut Park (2004), gen kandidat adalah gen-gen yang sebelumnya telah diidentifikasi dan diketahui fungsi biokimianya dan alur fisiologi dari sifat yang diinginkan. Menurut Ge *et al.*, (2003) gen GH dan GHR adalah kandidat gen penting yang dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk sifat pertumbuhan, karkas, dan produksi susu pada ternak (Ge *et al.*, 2003).

## 2.5 Penanda Molekuler

Program pemuliaan ternak yang menggunakan metoda analisis morfologi berdasarkan observasi penotip didukung oleh statistika yang rumit dalam populasi. Selain itu metode ini terkesan sulit karena kerumitan genetik dari sebagian besar sifat-sifat produksi dan adanya interaksi yang kuat dengan faktor lingkungan. Karena itu karakterisasi morfologi perlu didukung oleh karakterisasi yang dilakukan melalui penanda molekuler. Penanda molekuler dapat memberi gambaran hubungan kekerabatan yang akurat antar spesies maupun kerabat jauhnya, karena analisis DNA sebagai material genetik tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Lefebre *et al.*, 2001).

Perkembangan ilmu pengetahuan khususnya bioteknologi yang disebut *molecular marker* berdasarkan polimorfisme yang terdapat pada protein atau DNA, telah secara luas memfasilitasi penelitian dalam disiplin ilmu seperti ekologi, genetika dan pemuliaan (Weising *et al.*, 1995). Data informasi yang diperoleh dengan teknik-teknik konvensional tetap dan pasti sangat berguna namun harus disadari bahwa saat ini informasi dan data molekuler seperti RAPD, RFLP, SSR (mikrosatelit), pemetaan gen maupun sidik jari DNA dapat dimanfaatkan sebagai modal dasar dalam peraktifan kultivar baru (Jamsari, 2008).

Peterson *et al.*, (1991) menyatakan bahwa teknologi molekuler menjanjikan ketepatan dan akurasi, serta ketelitian metode analisis yang baik, karena peran marka DNA yang paling mendasar adalah mendeteksi variasi atau perbedaan antar beberapa individu. Selain itu analisis DNA juga berguna dalam pentuan gen yang berperan penting dalam sifat tertentu dan hubungan kekerabatan (Lefebre *et al.*, 2001) karena analisis DNA sebagai material genetik tidak

dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Marka DNA lebih banyak digunakan dalam menyusun sifat genetik suatu organisme yang berguna untuk menetapkan lokasi kromosom (lokus) dari gen yang mengatur sifat tertentu, baik sifat sederhana (kualitatif) maupun kompleks (kuantitatif). Marka DNA lebih banyak tersedia dibandingkan dengan marka lainnya, sehingga memudahkan untuk menyusun peta genetik yang lebih sempurna (Nasir 2000).

DNA adalah polimer asam nukleat yang tersusun secara sistematis dan merupakan pembawa informasi genetik yang diwariskan pada turunannya. Informasi disusun dalam bentuk kodon berupa tiga pasang basa nukleotida dan menentukan bentuk, struktur, dan fisiologi suatu makhluk hidup (Yuwono, 2006).

Dalam konteks MAS, marka berbasis DNA dapat lebih efektif jika digunakan untuk tiga tujuan dasar yaitu : 1) identifikasi galur-galur tetua untuk perbaikan suatu karakter untuk tujuan khusus, 2) penelurusan alel-alel dominan atau resesif pada setiap generasi persilangan, dan 3) identifikasi individu-individu target sesuai dengan karakter yang diinginkan di antara turunan yang bersegregasi, berdasarkan komposisi alel persilangan sebagian atau seluruh genom (Azra'i, 2006). Selain untuk mempelajari adanya variasi genetik, keperluan khusus sistem sebagai alat deteksi kehadiran alel-alel spesifik yang mencirikan karakter-karakter penting tertentu dari suatu organisme merupakan kontribusi lainnya yang ditunjukkan oleh penanda molekuler (Jamsari dan Ferita, 2010).

## **2.6 Polimorfisme Nucleotida Tunggal (SNP)**

*Single nucleotide polymorphism* (SNP) pertama kali ditemukan oleh Wang *et al.* (1998). SNP adalah variasi dari sekuen DNA yang terjadi jika suatu nukleotida tunggal A, T, C dan G genom berbeda antar suatu individu dengan

individu lainya. Sebagai contoh, ada dua sekuan fragmen DNA dari dua individu: CCTGGA dan CTTGGA, terdapat perbedaan pada satu basa nukletidanya sehingga terdapat dua alel yaitu C dan T dan biasanya SNP hanya memiliki dua alel (Sari, 2011).

Menurut Jamsari (2007) kekuatan teknik prinsip SNP sangat tergantung pada ketersediaan informasi sekuen, dan tidak digantikan dengan informasi lain. Metoda yang didasarkan SNP sangat mudah diautomasi (*no electrophoresis, easy allele calling*), dan akan menjadi lebih efektif dari segi biaya dibanding *microsatellites* (Peralta *et al*, 2005).

Penelitian genom skala luas sudah menjadi hal biasa saat ini. Pada manusia penelitian hubungan genetic didasarkan kepada membandingkan genetic marker, yang sering dipakai adalah SNP, antara group yang sakit dengan yang sehat (*case-control study*). Jika terdapat perbedaan yang nyata secara statistik antara frekuensi allele SNP antara kedua kelompok pasien, itu berarti gen terlibat dalam perkembangan penyakit (Coulonges *et al*, 2006). Dengan banyaknya ditemukan SNP sepanjang genom dan makin mudahnya proses *genotyping* menyebabkan marker ini semakin luas dipakai pada penelitian gen kandidat (Causin *et al*, 2006). Pada penelitian struktur populasi, *microsatellit* lebih informatif dibanding SNP, akan tetapi jika SNP yang tersedia sangat banyak penggunaannya sangat menjanjikan (Liu *et al.*, 2005)

Secara tradisional analisis tautan untuk mengidentifikasi daerah genom yang berhubungan dengan suatu penotip, biasanya dilakukan dengan menggunakan 300-400 *microsatellit* dan untuk memaksimalkan peluang adanya tautan, adanya sejumlah informasi famili sangat diperlukan. Hal ini bisa ditingkatkan dengan

menambah famili dan marker yang digunakan. Dengan makin banyaknya penemuan SNP sepanjang genom dan makin berkembangnya proses *genotyping* penggunaan SNP akan menjadi lebih *powerful* dan lebih murah dibanding marker *microsatellit* pada analisa tautan (Kennedy *et al.*, 2003). Pada penelitian semulasi dan penelitian di lapangan menunjukkan penggunaan SNP densitas tinggi mempunyai beberapa keuntungan dibanding penggunaan *microsatellit* densitas rendah, termasuk meningkatkan *power* dalam mendeteksi adanya tautan (Evans, 2004; Middleton *et al.*, 2004).

Dibanding dengan *microsatellit* , SNP lebih berlimpah dan terdistribusi secara menyeluruh sepanjang genom dan lebih dipercaya dan hanya membutuhkan sejumlah kecil sampel, dan dengan menggunakan SNP analisis tautan berdasarkan genom secara luas bisa dilakukan dengan biaya rendah (Matise *et al.*, 2003; Xing *et al.*, 2005). Penggunaan SNP pada analisis tautan adalah suatu strategi yang relatif baru, dan penggunaannya akan memberikan hasil yang lebih baik jika dikombinasikan dengan *marker* yang berdekatan (analisis multi point) (Ulgen and Li, 2005). Dengan tersedianya peta yang padat dan posisi peta yang akurat dan *genotyping* biaya rendah SNP akan segera menjadi sangat berguna pada analisis tautan dan studi hubungan (Lin and Liu, 2005).

Mutasi DNA terdiri atas mutasi transisi dan mutasi transversasi. Mutasi transisi adalah suatu pergantian basa purin dengan basa purin lain atau pergantian basa pirimidin dengan basa pirimidin lain; atau disebut juga pergantian suatu pasangan basa purin-pirimidin dengan pasangan purin-pirimidin lain sedangkan mutasi transversasi, yaitu suatu pergantian antara purin dengan pirimidin pada posisi yang sama. Disamping mutasi perubah sekuen DNA ada juga yang disebut insersi,

yaitu penambahan satu atau lebih pasangan nukleotida pada satu gen dan delasi, yaitu pengurangan satu atau lebih pasangan nukleotida pada satu gen. (Schlief, 1993).

### III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari 50 sampel darah Sapi Pesisir yang berasal dari penelitian Yurnalis (2015) sebelumnya. Penarikan sampel ternak sapi dilakukan dengan kriteria: bangsa sapi adalah Sapi Pesisir jantan berumur  $\pm 1,5$  tahun yang dipelihara di Kabupaten Pesisir Selatan yaitu di Kecamatan Ranah Pesisir, Kecamatan Kambang dan Kecamatan Linggo Sari Baganti.

##### 3.1.1 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan dan alat penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

###### a. Pengambilan Sampel Darah

Bahan yang digunakan : Larutan EDTA dan alkohol. Alat yang digunakan : jarum suntik (ukuran 3 cc), tabung venoject 20 ml, ice box, kapas dan spidol permanen.

###### b. Isolasi DNA Total

Bahan-bahan yang digunakan dalam isolasi DNA : sampel darah, DNA *purification kit* (*cell lysis, nuclei lysis, larutan protein precipitasi, isopropanol, ethanol, DNA rehydration*). Alat-alat yang digunakan : tabung *microcentrifuse, centrifuge, vortek, micro pipet, blue tip, micro tube*, tisu steril.

###### c. Amplifikasi Fragmen Ekson 10 Gen GHR

Untuk amplifikasi fragmen ekson 10, bahan yang digunakan : sampel DNA, *water nuclease-free, master mix* (Thermo Scientific), pasangan primer fragmen ekson 10 gen GHR ( *Forward 5'-GGTGTGATGTTGGGGTTAGC-3'*

dan primer *Reverse* 5'-AGGTACCATCGCACATGTCA-3') berdasarkan (Yurnalis, 2014). Alat yang digunakan : satu set pipet mikro, mesin PCR (*eppendorf mastercycle gradiend*), micro tip 10 µl, *pcr tubes*.

#### **d. Elektroforesis**

Untuk melihat produk isolasi DNA dan amplifikasi fragmen ekson 10 gen GHR dilakukan dengan gel elektroforesis, bahan yang digunakan : adalah *agarose* 1,5% buffer 0,5 x TBE (Tris Borat EDTA), dan *ethidium bromide*. Alat yang digunakan : mikro tip, mikro pipet 10 P Gibson, botol glas, gelas ukur, *stirrer*, cetakan media agar, *power supply electrophoresis*, alat foto *UV-transiluminator* dan sarung tangan.

### **3.2 Prosedur Penelitian**

#### **3.2.1 Pengambilan Sampel Darah**

Sampel darah tersebut diambil melalui *vena jugularis* menggunakan tabung *venoject* vakum tanpa heparin, kemudian diawetkan dalam *etanol absolute* dengan perbandingan 1 : 2 dan disimpan pada suhu -20°C.

#### **3.2.2 Isolasi DNA Total**

Isolasi DNA dilakukan dari sampel darah menggunakan *protocol genomic DNA purification kit* dari Promega. Prosedur pelaksanaan isolasi DNA dengan prosedur sebagai berikut :

1. Siapkan tabung *microcentrifuge* 2 ml yang di isi dengan *cell lysis* sebanyak 900 µl
2. Kocok tabung sampel darah, kemudian ambil sebanyak 300 µl, dan masukkan ke tabung yang telah berisi *cell lysis*, agar tercampur rata bolak-balik tabung sebanyak 5-6 kali

3. Kemudian inkubasi selama 10 menit campuran sampel darah dan *cell lysis* pada temperature ruang, bolak balik sebanyak 3 kali kemudian *centrifuge* pada kecepatan 14000 rpm selama 30 detik
4. Setelah di *centrifuge* buang *supernatant* hati-hati endapan jangan sampai ikut terbang
5. Selanjutnya tambahkan kembali *cell lysis* sebanyak 900  $\mu$ l, *centrifuge* pada kecepatan 14000 rpm selama 30 detik. Kemudian buang *supernatant* dan endapan yang tinggal di tabung selanjutnya di *vortex* selama 10-15 detik sehingga endapan tercampur rata
6. Setelah itu tambahkan larutan *nuclei lysis* sebanyak 500  $\mu$ l pada tabung hasil *cell lysis di lysis* dengan menggunakan pipet larutan untuk memecah sel darah. Kemudian inkubasi selama 1 jam dalam *waterbath* pada temperature 37°C. Jika setelah diinkubasi masih terlihat gumpalan, tambahkan 100  $\mu$ l larutan *nuclei lysis*
7. Setelah di inkubasi tambahkan larutan *protein precipitasi* sebanyak 200  $\mu$ l lalu di *vortex* selama 20 detik, kemudian di *centrifuge* pada kecepatan 14000 rpm selama 3 menit. Selanjutnya pindahkan *supernatant* kedalam tabung *eppendorf* baru yang berisi 300  $\mu$ l Isopropanol
8. Campur rata larutan isopropanol dengan membolak-balik secara perlahan tabung sampai terlihat benang-benang DNA, kemudian *centrifuge* pada kecepatan 14000 rpm selama 1 menit. Kemudian tabung larutan yang berisi DNA akan terlihat sebagai pellet putih. Buang cairan dan tambahkan larutan ethanol 70% sebanyak 300  $\mu$ l. Kemudian bolak balik tabung secara

perlahan untuk mencuci pellet, kemudian di *centrifuge* (14000 rpm) selama 1 menit

9. Buang cairan ethanol, balikan tabung diatas kertas tissue steril, diamkan hingga kering selama  $\pm$  20 menit,
10. Lalu tambahkan larutan DNA *rehydration* sebanyak 100  $\mu$ l ke dalam tabung, *typing* tabung sehingga pellet larut atau di diamkan pada suhu 4°C semalam dan simpan pada temperatur 20°C.
11. Untuk melihat hasil, DNA yang telah di isolasi di elektroforesis pada gel *agarose* 1 %.

### 3.2.3 Amplifikasi Fragmen Ekson Gen GHR

Pereaksi amplifikasi PCR menggunakan *Master Mix* (Thermo Scientific) dengan komposisi sebagai berikut:

- a. sampel DNA sebanyak 2  $\mu$ l,
- b. *master mix* sebanyak 15  $\mu$ l,
- c. campuran primer F dan R sebanyak 3  $\mu$ l dan
- d. *water nuclease-free* sebanyak 10  $\mu$ l.

Amplifikasi *invitro* berlangsung sebanyak 35 siklus dengan kondisi suhu *pradenaturasi* 95°C selama 5 menit, *denaturasi* awal 95°C selama 45 detik, *annealing* 59°C selama 45 detik dan *extensi* 72 °C selama 1 menit, dan *extensi* akhir 72 °C selama 5 menit berdasarkan (Yurnalis, 2014).

### 3.2.4 Elektroforesis

Produk PCR dielektroforesis menggunakan agarose 1,5% buffer 0,5 x TBE (Tris Borat EDTA) yang diwarnai dengan *ethidium bromide*, dan dijalankan menggunakan *power supply electrophoresis* secara vertikal pada tegangan 200

Volt. Pada gel akan terlihat pita-pita yang terbentuk pada setiap alur sumur yang berisi sampel DNA produk PCR. Penentuan ukuran (pb) setiap fragmen yang terbentuk pada gel agarose dilakukan dengan membandingkan posisi pita yang terbentuk dengan posisi pita DNA *ladder*. DNA yang terekspesi didokumentasi dengan kamera.

### 3.2.5 Sekuensing

Produk amplifikasi fragmen ekson 10 gen GHR dikirim ke 1<sup>st</sup> Base Singapore digunakan untuk sekuensing nukleotida, menggunakan metode Sanger *et al.*, (2001). Hasil analisis pada layar monitor akan menunjukkan grafik dengan puncak-puncak (*peak*) dalam ukuran *base pairs* (bp) pada masing-masing sampel. Tampilan grafik yang konsisten membentuk satu ukuran puncak yang sama menunjukkan bahwa sampel teramplifikasi dan memiliki alel yang homozigot. Sementara sampel yang memiliki dua puncak dengan ukuran yang berbeda menunjukkan dua alel yang heterozigot. Apabila terdapat tampilan grafik yang tidak beraturan, ini menandakan hasil yang kosong atau tidak bisa dinilai. Apabila diperoleh tanda sinyal yang lebih dari dua grafik, maka sampel tersebut tercemar dengan DNA yang lain dan tidak digunakan (Sari, 2011).

Hasil sekuen yang diperoleh dilihat keragamannya dan diuji kesamaannya antar jenis sapi maupun dengan bangsa sapi lain yang ada di Gen Bank menggunakan program DNA Star. Dengan menggunakan sekuen Gordon *et al.*, (1983) sebagai dasar analisis akan didapatkan kesamaan sekuen, juga akan teridentifikasi secara pasti posisi ada tidaknya mutasi atau terjadinya indel pada gen hormon pertumbuhan pada sapi Pesisir.

### **3.2.6 Peubah Penelitian**

Peubah yang diamati pada sekuensing ekson 10 gen GHR yaitu produk sekuensing berupa jumlah dan macam dari mutasi nukleotida, delesi nukleotida dan insersi nukleotida.

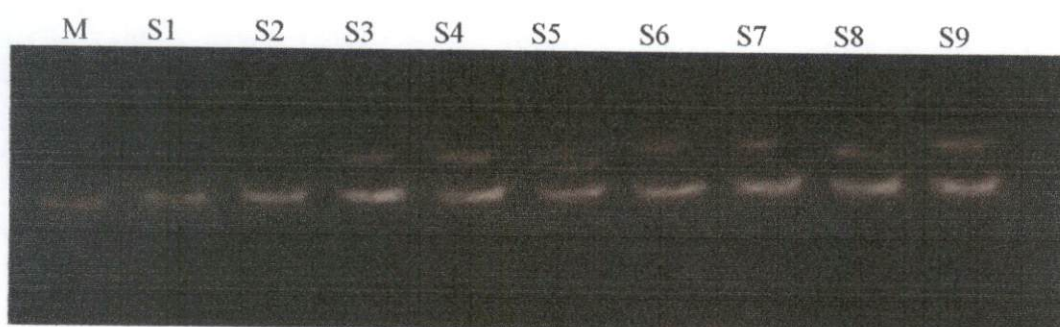
### **3.2.7 Analisis Data**

Data keragaman hasil sekuensing dibandingkan dengan sekuen Gordon *et al* (1983) yang disajikan dalam bentuk frekuensi alel (%).

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Isolasi DNA Total

Isolasi DNA genomic dari darah sapi dilakukan dengan menggunakan *protocol Genomik DNA Purification Kit* dari Promega (Promega-USA). Hasil isolasi DNA 50 sampel darah sapi menunjukkan kualitas dan kuantitas DNA yang cukup baik. Kualitas DNA hasil isolasi diestimasi dengan dibandingkan dengan DNA standar menggunakan gel elektroforesis, kemudian divisualisasikan dengan UV transluminator. Sebagai contoh hasil isolasi DNA dari darah sapi Pesisir ditunjukkan pada Gambar 1.



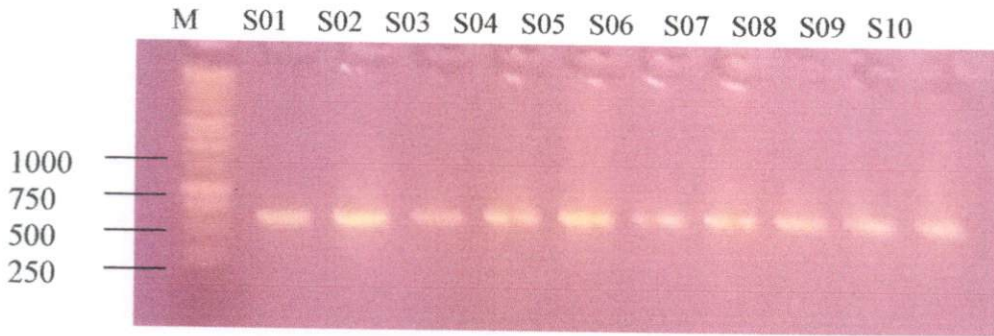
Gambar 1. Elektroforesis DNA total hasil isolasi menggunakan Genomik DNA Purification Kit dari Promega.

Keterangan : M = marker 25 ng/ul, S1-S9 = no sampel

DNA gonom yang dihasilkan dapat digunakan untuk kegiatan amplifikasi selanjutnya. Sebelum melakukan amplifikasi langkah yang harus dilakukan adalah pengenceran untuk memperoleh konsentrasi DNA yang sama.

### 4.2 Amplifikasi Fragmen Gen GHR

Hasil amplifikasi fragmen ekson 10 gen GHR menggunakan pasangan primer *Forward* 5'-GGTGTGATGTTGGGGTTAGC-3' dan *Reverse* 5'-AGGTACCATCGCACATGTCA-3' (Yurnalis, 2014) telah berhasil dilakukan terhadap 50 sampel DNA total, kemudian divualisasi pada gel agarose 1,5%, sebagai contoh dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Hasil elektroforesis amplifikasi fragmen Gen GHR.  
Keterangan : M = marker, S01-S10 = no sampel.

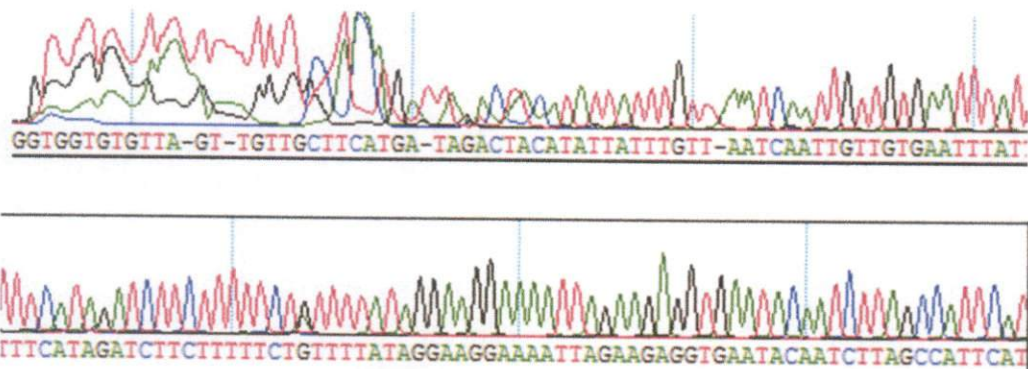
Proses amplifikasi dinyatakan berhasil apabila dalam satu slot blok gel (sumur) pada saat elektroforesis hanya terlihat satu pita DNA atau satu fragmen yang ukurannya sesuai dengan yang diharapkan saat primer dirancang untuk mengamplifikasikan daerah yang akan diamplifikasi. Suatu primer dikatakan tidak spesifik apabila dalam satu sumur tersebut menghasilkan produk amplifikasi lebih dari satu fragmen, atau panjang pita DNA yang dihasilkan tidak sesuai dengan prediksi primer yang digunakan.

Dari hasil amplifikasi ekson 10 GHR menghasilkan fragmen yang spesifik dengan panjang sekitar 529 bp. Panjang fragmen hasil amplifikasi dikonfirmasi melalui *marker* yang disertakan saat elektroforesis sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 2 di atas.

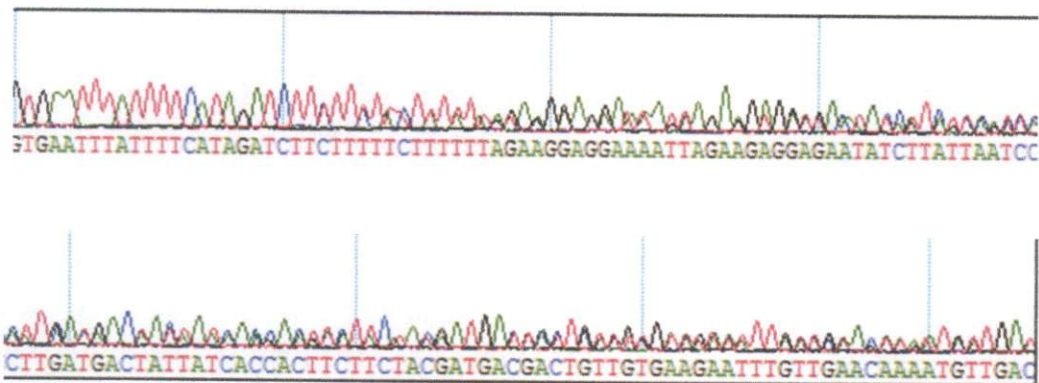
### 4.3 Sekuensing

Hasil sekuensing dari 50 sampel sapi Pesisir yang dikirim oleh 1<sup>st</sup> Base Singapore, selengkapnya disajikan pada Lampiran 2. Dari 50 sampel yang disekuensing, 46 sampel diantaranya memiliki *electropherogram* cukup bagus (dapat dilihat pada Gambar 3) dan 4 sampel lainnya memiliki kualitas *electropherogram* jelek (Gambar 4). Contoh *electropherogram* hasil sekuensing kualitas baik dapat dilihat pada Gambar 3 dan kualitas jelek dapat dilihat pada

Gambar 4. *Electropherogram* yang bersih memiliki ciri sebagai berikut: 1) jarak/spasi antar *peak* sama, 2) setiap *peak* hanya terdiri dari satu warna, 3) ketinggian *peak* bisa bervariasi hingga berbeda 3 kali lipat antara *peak* tertinggi dengan *peak* yang terendah, 4) mungkin saja terdapat *peak-peak* yang *baseline*, namun jika kualitas template dan primernya bagus ini sangat minim dan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pembacaan.



Gambar 3 : Electropherogram hasil sekuensing gen GHR dengan kualitas baik.



Gambar 4 : Electropherogram hasil sekuensing gen GHR dengan kualitas jelek.

Pada Gambar 3, jarak *space* antara *peak* hampir sama, setiap *peak* mempunyai satu warna, dan tidak ada *noise* pada *baseline*. Jadi bisa disimpulkan kualitas sekuen cukup baik. Sedangkan Gambar 4, terlihat pada *peak* bagian bawahnya ada 1 atau 2 warna, hal ini mengidentifikasikan ada fragmen lain yang ikut pada proses sekuensing, dengan kata lain fragmen yang teramplifikasi tidak

spesifik. Pada bagian akhir *elecropherogram* resolusi *peak* semakin buruk, ini merupakan keterbatasan dari teknologi *capillary sequensing* yang berbasis metode *dry terminator* sequensing.

### 4.3 Keragaman Sekuen

Untuk melihat kesamaan sekuen yang diperoleh produk sequensing dibandingkan sekuen Gordon *et al* (1983). Dari hasil perbandingan diperoleh tingkat kesamaan 96-99% yang membuktikan bahwa sekuen yang teramplifikasi adalah benar sekuen dari gen GHR.

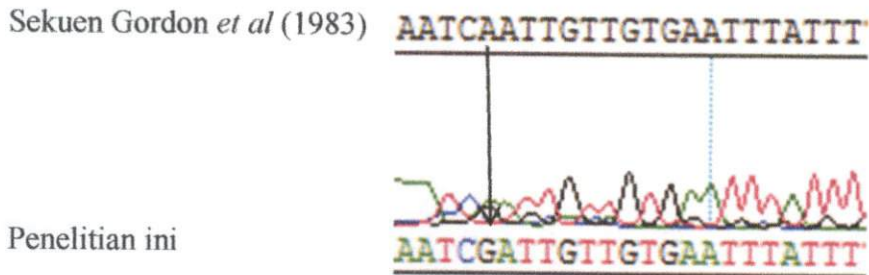
Hasil selengkapnya dari perbandingan ini disajikan pada Tabel 1 berikut :

Tabel 1 : Hasil perbandingan produk sequensing dengan sekuen Gordon *et al* (1983).

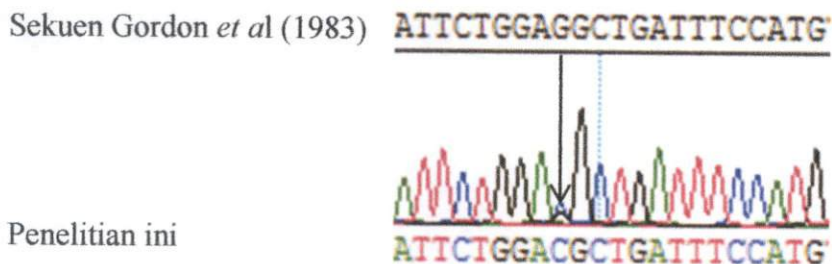
No.	Perubahan	Posisi	Jumlah Sampel	Frekuensi Alel (%)
1	Delesi A	226	9	19,56
2	Mutasi transisi A→G	229	1	2,17
3	Mutasi tranversi G→C	524	9	19,56
4	Normal	-	27	58,70
5	Hasil jelek	-	4	-
6	Total	-	50	-

Berdasarkan pada Tabel 1 di atas dapat dikemukakan bahwa sebagian besar (frekuensi alel 58,70%) dari sampel yang diuji masih memiliki urutan nukleotida yang sama dengan sekuen Gordon *et.,al* (1983). Sisanya mengalami mutasi transisi A→G pada posisi 229 sebanyak 1 sampel dengan frekuensi alel 2,17%, mutasi tranversi G→C pada posisi 524 sebanyak 9 sampel dengan frekuensi alel 19,56% dan mengalami delesi A pada posisi 226 sebanyak 9

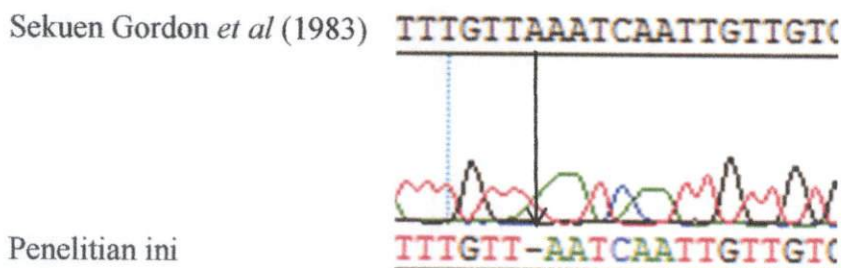
sampel dengan frekuensi alel 19,56% Perubahan-perubahan yang terjadi pada produk sekuensing dibandingkan dengan sekuen Gordon *et al* (1983), selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 5, 6, dan 7.



Gambar 5 : *Electropherogram* yang menunjukkan kejadian perubahan mutasi transisi A→G pada posisi 229.



Gambar 6 : *Electropherogram* yang menunjukkan kejadian perubahan mutasi tranversi G→C pada posisi 524.



Gambar 7 : *Electropherogram* yang menunjukkan kejadian perubahan delesi A pada posisi 226.

Pada Gambar 5 di atas dapat dijelaskan bahwa terjadi mutasi transisi A→G pada posisi 229, juga pernah dilaporkan oleh Ge *et al.*, (2000) pada ekson 10, bentuk mutasi ini akan merubah sisi pemotongan enzim restriksi *TasI* (↓AATT). Kemudian pada Gambar 6 memperlihatkan terjadi mutasi tranversi

G→C pada posisi 524, dimana mutasi tranversi G→C ini juga pernah dilaporkan oleh Yurnalis (2014) pada sapi Pesisir, bentuk mutasi ini akan merubah sisi pemotongan enzim restriksi *CviJI* (GG↓CT).

Selanjutnya pada Gambar 7 di atas memperlihatkan bahwa terjadi delesi A pada posisi 226, yang juga pernah dilaporkan oleh Yurnalis (2014). Delesi ini akan menyebabkan terjadi perubahan sisi pemotong enzim restriksi *MseI* (T↓TAA) atau enzim restriksi *TruII* (T↓TAA).

## V. KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat dikemukakan kesimpulan sebagai berikut :

1. Telah terjadi Delesi A pada sekuen ekson 10 gen GHR pada posisi 226 sebanyak 9 sampel dengan frekuensi alel 19,56%.
2. Ditemukan mutasi transisi A→G pada posisi 229 sebanyak 1 sampel dengan frekuensi alel 2,17% dan mutasi tranversi G→C pada posisi 524 sebanyak 9 sampel dengan frekuensi alel 19,56%.
3. Sekuen gen ini memiliki tingkat kesamaan dengan sekuen Gordon *et al* (1983) antara 96-100%.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan antara delesi A, mutasi transisi A→G dan mutasi tranversi G→C terhadap penotip pada sapi Pesisir Sumatera Barat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adrial. 2010. Potensi sapi pesisir dan upaya pengembangannya di Sumatera Barat. *Litbang Pertanian*. 29:66-72.
- Anwar, S. 2004. Keragaman Genetik Eksternal dan DNA Mikrosatelit Sapi Pesisir Sumatera Barat. Disertasi. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Azra'i, M. 2006. Sinergi Teknologi Marka Molekuler Dalam Pemuliaan Tanaman Jagung. *Jurnal litbang*. 25:81-89.
- 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 (3) : 438-447.
- Bollano, E., E. Omerovic., M. Bohlooly-y., V. Kujacic., B. Madhu., J. Tornell., O. Isaksson., B. Soussi., W. Schulze., M. L. X. Fu., G. Matejka., F. Waagstein., and J. Isgard. 2000. Impairment of cardiac function and bioenergetics in adult transgenic mice overexpressing the bovine growth hormone. *Endocrinology* 141:2229-2235.
- Chung, E.R., W.T. Kim., and C. S. Lee. 1998. DNA polymorphism of casein, lactoglobulin, growth hormone and prolactin and insulin-like factor-1 gens in Korean cattle (Hanwoo). *Dairy Sci.* 11(4) 422-427.
- Coulonges, C., O. Delaneau, M. Girard, H. Do., R. Adkins, J. L. Sapdino and J. F. Zagury. 2006. Computation of haplotypes on SNP subsets: advantage of the "global method". *BMC Genetics*. 7:50.
- Cousin, E., J. F. Deleuze and E. Genin, 2006. Selection of SNP for association studies in candidate genes: comparison of the power of different strategies to detect single disease susceptibility locus effects. *BMC Genetics*. 7:20.
- Di Stasio, L., G. Destefanis., A. Brugiapaglia., A. Albera., and A. Rolando. 2005. Polymorphism of the GHR gene in cattle and relationships with meat production and quality. *Anim. Genet.* 36:138-140.
- Dybus, A., M. Kmiec., Z. Sobek., and B. Wisniewski. 2002. Association between polymorphism of the growth hormone gene and production traits of Limousin cattle. *Animal Science Papers and Report* 20(4):203-212.
- Eleswarapu, S., and H. Jiang. 2005. Growth hormone regulates the expression of hepatocyte nuclear factor-3 gamma and other liver-enriched transcription factors in the bovine liver. *Journal of Endocrinology* (2005) 184, 95-105.
- Etherton, T. D., and D. E. Bauman. 2004. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physical Rev.* 78: 745-61.
- Evans, D. M. and D. E. Beuman. 1998. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. *Physical Rev.* 78:745-61.

- Falaki, M., N. Gengler., M. Sneyers., A. Prandi., S. Massart., A. Formigoni., A. Burny., D. Portetelle., and R. Renaville. 1996. Relationships of polymorphisms for growth hormone and growth hormone receptor genes with milk production traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *J. Dairy Sci.* 79:1446–1453.
- Feng, X. P., U. Kuhnlein, S. E. Aggrey., J. S. Gavora., and D. Zadworny. 1997. Trait association of genetic markers in the growth hormone and the growth hormone receptor gene in a White Leghorn strain. *Poult. Sci.* 76:1770-1775.
- Findling, J. W., and J. B. Tyrrell. 1991. The anterior pituitary gland. Pages 79–132 in *Basic and Clinical Endocrinology*. F. S. Greenspan, ed. Appleton and Lange, Norwalk, CT.
- Ge, W., M. E. Davis., H. C. Hines and K. M. Irvin. 2000. Rapid Communication: Single nucleotide polymorphism detected in exon 10 of the bovine growth hormone receptor gene. *J. Anim. Sci.* 78:2229-2230.
- Ge, W., M. E. Davis., H. C. Hines., K. M. Irvin., and R. C. M. Simmen. 2003. Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. *J. Anim. Sci.* 81:641–648.
- Gordon, D.F., D. P. Quick., C. R. Erwin., J. E. Donelson., and R. A. Maurer. 1983. Nucleotide sequence of the bovine growth hormone chromosomal gene. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 33:81-95.
- Hale, C. S., W. O. Herring., H. Shibuya., M. C. Lucy., D. B. Lubahn., D. H. Keisler., and G. S. Johnson. 2000. Decreased growth in Angus steers with a short TG-microsatellite allele in the P1 promoter of growth hormone receptor gene. *J. Anim. Sci.* 78:2099–2104.
- Hartl, D. L and A. G. Clark. 1997. *Principle of Population Genetic* Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Harvey, S., C. G. Scanes., and W. H. Daughaday. 1995. *Growth Hormone*. Boca Raton: CRC Press.
- Jakaria. 2008. *Keragaman Genetik Gen Hormon Pertumbuhan Pada Sapi Pesisir Sumatera Barat*. Disertasi Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Jamsari. 2007. *Bioteknologi Pemula. Prinsip Dasar dan Amplifikasi Analisis Molekuler*. Unri Pres Pekanbaru. 193 hal.
- Jamsari. 2008. Preparasi DNA Species *Collectotrichum* sp. Dan spesies Sistem Fingerprinting RPAD. *Jurnal Natur Indonesia*. 11:31-39.
- Jamsari dan I. Ferita. 2010. Pengembangan Metode Preparasi DNA Cepat, Hibridasi DNA genetik-Produk PCR dan visualisainya untuk

mendukung Sistem Deteksi Dini patogen Anthraknosa pada pertanaman Cabai. Laporan hibah Bersaing tahun anggaran 2009. Padang. 33 hal.

- Johannsson, G., Y. B. Sverrisdottir., L. Ellegard., P.-A. Lundberg., and H. Herlitz. 2002. GH increases extracellular volume by stimulating sodium reabsorption in the distal nephron and preventing pressure natriuresis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87:1743-1749.
- Khasrad. 2006. Pertumbuhan, konsumsi, dan konversi ransum sapi Pesisir yang digunakan dengan tingkat pemberian ransum dan lama penggemukan berbeda. *J. Ilmu-ilmu Peternakan.* 9: 215-223.
- Kennedy, G. C., H. Matsuzaki., S. Dong., W. M. Liu., J. Huang., G. Liu., X. Su., M. Cao., W. Chen., J. Zhang., W. Liu., G. Yang., X. Di., T. Ryder., Z. He., U. Surti., M. S. Phillips., M. T. Boyce-jacino., S.P. Fodor., and K. W. Jones. 2003. Large scale genotyping of complex DNA. *Nat Biotechnol.* 21:1233-1237.
- Lie, X., K. Li., B. Fan., Y. Gong., S. Zhao., Z. Peng., and B. Liu. 2000. The Genetic Diversity of Seven Pigs Breeds in China, Estimated by Means of Microsatellites, *J. Anim. Sci.* 80:528-531.
- Lin, J., and K. Y. Liu. 2005. Linkage and association analyses of microsatellites and single-nucleotide polymorphism in nuclear families. *BMC genetics*, 6(Suppl 1):S25.
- Liu, N., L. Chen., S. Wang., C. Oh., and H. Zhao. 2005. Comparison of single-nucleotide polymorphisms and microsatellites in inference of population structure. *BMC Genetics.* 6:S26.
- Lefebvre, V., B.Goffinet., J. Chauvet., B. Caromel., P. Signoret., R. Brand., and A Palloix. 2001. Evaluation of genetic distance between pepper in breed lines for cultivar protein purpose : comparison of AFLP, RAPD, and phenotypic data. *Theor. Appl. Genet.* 102:741-750.
- Lucy, M. C., S. D. Hauser., P. J. Eppard., G. G. Krivi., J. H. Clark., D. E. Bauman., and R. J. Collier. 1998. Variants of somatotropin allele in cattle: Gen frequencies in major dairy breeds and associated milk production. *Dom. Anim. Endocrinol.*, 10: 325-333.
- Mathews, L. S., G. Norstedt., and R. D. Palmiter. 1986. Regulation of insulin-like growth factor I gene expression by growth hormone. *PNAS* 83 9343-9347.
- Nasir, N. 2000. Gambir, Budidaya, Pengolahan, dan Diversifikasinya. Hutanku. Padang. 286 ha.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics.* Columbia University Press. New York.
- Nei, M., and S. Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics.* Oxford University Press, New York.

- Ooi, G. T., F. J. Cohen., L. Y. Tseng., M. M. Rechler., and Y. R. Boisclair. 1997. Growth hormone stimulates transcription of the gene encoding the acid-labile subunit (ALS) of the circulating insulin-like growth factor-binding protein complex and ALS promoter activity in rat liver. *Molecular Endocrinology* 11 997–1007.
- Park, H. B. 2004. Genetic analysis of Quantitative Traits Using Domestic Animals: A Candidate Gen and Genome Scanning Approach Dissertation Uppsala University. Sweden.
- Peralta, J. M., T. D. Dyer., D. M. Warren., J. Blangero., and L. Almasy. 2005. Linkage disequilibrium across two different single nucleotide polymorphism genome scans. *BMC Genetics*. 6(Suppl 1).
- Peterson, A.H., S.D. Tanksley and M.E. Soller. 1991. DNA marker in plant improvement. *Advances in Agronomy*. 44:39-44.
- Pierzchala, M., T. Blicharski., and J. Kuryl. 2004. Growth rate and carcass quality in relation to GHIMspl and GHIHaell PCR-RFLP polymorphism in pig *Animal Science Papers and Report* 22(1):57-64.
- Reis, C., D. Navas., N. Pereira., and A. Cravador. 2001. Growth hormone *AluI* polymorphism analysis in eight Portuguese *bovine* breeds. *Arch. Zootec.*,50:41-48.
- Saladin, R. 1983. Penampilan Sifat-sifat Produksi dan Reproduksi Sapi Lokal Pesisir Selatan di Propinsi Sumatera Barat. Disertasi. Fakultas Pascasarjana IPB. Bogor.
- Sanger, F., S. Nicklen, A.R. Coulson. 1997. DNA Sequencing with Chain-terminating Inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 74:5463-5467.
- Sarbaini. 2004. Kajian Keragaman Karakter Eksternal dan DNA Mikrosatelit Sapi Pesisir Sumatera Barat. Disertasi Pasca Sarjana, Bogor.
- Sari. E. M. 2011. Keragaman Genetik Gen Hormon Pertumbuhan (GH) dan Hubungannya dengan Kualitas Karkas Pada Sapi Aceh. Disertasi. Sekolah Pascasarjana IPB Bogor.
- Schlieff, R. 1993. *Genetics and Molecular Biology*. Second edition. The Johns Hopkins University Press Baltimore and London.
- Seneviratne C., J. M. Luo., and L. J. Murphy. 1990. Transcriptional regulation of rat insulin-like growth factor-binding protein-1 expression by growth hormone. *Molecular Endocrinology* 4 1199–1204.
- Sirja Viitala., J. Szyda., S. Blott., N. Schulman., M. Lidauer., A. Ma`ki-Tanila., M. Georges., and J. Vilkki. 2006. The Role of the Bovine Growth Hormone Receptor and Prolactin Receptor Gens in Milk, Fat and Protein Production in Finnish Ayrshire Dairy Cattle. *Genetics* 173: 2151–2164.

- Sodhi, M., M. Mukesh., B. Prakash., B. Mishra., R. Sobti., Singh., Karn., S. Singh., S. Ahlawat. 2007. MspI Allelic Pattern of Bovine Growth Hormone Gen in Indian Zebu Cattle (*Bos indicus*) Breeds. *Biochemical Genetics*, Vol.45:145-153
- Soller, M., and J. S. Beckmann. 1983. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theor. Appl. Genet.* 76:25-33
- Sugeng, B. Y. 1992. *Beternak Sapi Potong*. Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Tambasco, D. D., C. C. P. Paz., M. T. Stuart., A. P. Pereira., M. M. Alencar., A. R. Freitas., L. L. Coutinho., I. U. Packer., and L. C. A. Regitano. 2003. Candidate genes for growth traits in beef cattle crosses *Bos taurus* x *Bos indicus*. *Abstract J. An. Breeding and Genetics*, 120 (1):v51
- Tatsuda, K., A. Oka., E. Iwamoto., Y. Kuroda., H. Takeshita., H. Kataoka., and S. Kouno. 2008. Relationship of the bovine growth hormone gene to carcass traits in Japanese black cattle. *J. of Anim. Breed. and Genet.* 125:45-49.
- Tollet-Egnell, P., A. Flores-Morales., A. Stavreus-Evers., L. Sahlin., and G. Norstedt. 1999. Growth hormone regulation of SOCS-2, SOCS-3, and CIS messenger ribonucleic acid expression in the rat. *Endocrinology* 140:3693-3704
- Ulgen, A., and W. Li. 2005. Comparing single-nucleotide polymorphism marker-based and microsatellites marker-based linkage analyses. *BMC Genetics*. 6(Suppl 1):S13
- Valera, A., J. E. Rodriguez-Gil., J. S. Yun., M. M. McGrane., R. W. Hanson., and F. Bosch. 1993. Glucose metabolism in transgenic mice containing a chimeric P-enolpyruvate carboxykinase/bovine growth hormone gene. *FASEB Journal* 7:791-800.
- Viitala, S., J. Szyda., S. Blott., N. Schulman., M. Lidauer., A. Mäki-Tanila., M. Georges., and J. Vilkki. 2006. The Role of the Bovine Growth Hormone Receptor and Prolactin Receptor Genes in Milk, Fat and Protein Production in Finnish Ayrshire Dairy Cattle. *Genetics* 105. 2006. *Genetics* 173: 2151-2164.
- Wang, D. G., J. B. Fan., C. J. Siao., A. Berno., P. Young., R. Sapolsky., G. Ghandour., N. Perkins., and J. Spencer. 1998. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphism in the human genome. *Science*. 280:1077-1082.
- Weising K., R. G. Atkinson., and R. C. Gardner. 1995. Genomic fingerprinting by microsatellite-primed PCR: a critical evaluation. *PCR Meth applications*, 4:249-255.
- Xing, C., F. R. Schumacher., G. Xing., Q. Lu, T. Wang., and R. C. Elston. 2005. Comparison of microsatellites, single-nucleotide polymorphism and composite markers derived from SNP in linkage analysis. *BMC Genetics*. 6(Suppl 1):S29.

- Yoon, J. B., S. A. Berry., S. Seelig., and H. C. Towle. 1990. An inducible nuclear factor binds to a growth hormone-regulated gene. *Journal of Biological Chemistry* 265 19947–19954.
- Yurnalis., dan Sarbaini. 2014. Keragaman Sekuen Gen Reseptor Hormon Pertumbuhan Exon 10 sebagai Informasi Dasar Seleksi pada Sapi Pesisir Plasma Nutfah Sumatera Barat. *J. Peternakan Indonesia*. 16:1907-1760.
- Yuwono, T. 2006. Teori dan Aplikasi Polimerase Chain Reaction. Penerbit Andi. Yogyakarta. 239 hal.
- Zhu, T., E. L. K. Goh, R. Graichen, L. Ling, and P. E. Lobie. 2001. Signal transduction via the growth hormone receptor. *Cell. Signal*. 13:599–616.
- Zhang, Q., D. Boichard., I. Hoeschele., C. Ernst., A. Eggen., B. Murkve., M. Pfister-Genskow., L. A. Witte., F. E. Grignola., P. Uimari., G. Thaller, and M. D. Bishop. 1998. Mapping quantitative trait loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbred pedigree. *Genetics* 149:1959–1973.
- Zhou, Y and H. Jiang. 2005. Trait-associated sequence variation in the bovine growth hormone receptor 1A promoter does not affect promoter activity invitro. *Anim. Genet* 36:156–159.



Lampiran 2 : Sekuen oligonukleotida gen GHR exon 10 pada sapi Pesisir.

	170	180	190	200	21	220
Transla	CA	TGG	TTG	TTA	TAA	TAT
Gordon.1	catggtttggtata-t--gatt-ttggtactgattagact-ca-atattatttggtaa	atc				
S04.ab1	CA	TGG	TTG	TTA	TAA	TAT
S05.ab1	CA	TGG	TTG	TTA	TAA	TAT
S08.ab1	CA	TGG	TTG	TTA	TAA	TAT
S02.ab1	CA	TGG	TTG	TTA	TAA	TAT
S03.ab1	CA	TGG	TTG	TTA	TAA	TAT
S06.ab1	CA	TGG	TTG	TTA	TAA	TAT
S01.ab1	CA	TGG	TTG	TTA	TAA	TAT
S07.ab1	CA	TGG	TTG	TTA	TAA	TAT
S09.ab1	CA	TTC	TAT	TCT	TAA	TAT
S10.ab1	IG	NTT	AA	A--GATT-GT	CTT	CTG
S33.ab1	IN	NGNT	TTG	TTA	TAA	TAT
S12.ab1	IN	NTT	GG	TA	T--GAAT-TT	GT
S13.ab1	IN	NNNT	GG	TA	T--GAAT-TT	GT
S14.ab1	IN	NGANT	ATG	T--ATG-TT	GT	T
S15.ab1	IN	NC	AAAA	A--GATG-TG	CTT	CTG
S16.ab1	IN	NT	NTT	TA	---GATT-T	GT
S17.ab1	IG	NTT	NG	NA	T--GATT-TT	GT
S18.ab1	IN	NN	NNNN	NN--GAAG-T	GCT	CTG
S21.ab1	IN	NT	TG	GATA	T--GATT-TT	GT
S11.ab1	IN	NN	NG	GGIA	T--GAT	GT
S19.ab1	IN	NN	NG	GGTT	T--GAT	GT
S24.ab1	IN	NN	NG	NGAAA	T--GATT-T	GT
S25.ab1	IN	NN	NT	GGAT	--TT	GAT
S28.ab1	IN	NN	NG	NGGTT	T--GAT	GT
S40.ab1	IN	NN	NG	NGNTA	IGA	ATT
S20.ab1	IN	NN	NA	ATA	ITAGAT	T
S22.ab1	IN	NT	T	NTA	T--GATT-T	GT
S23.ab1	IN	NN	NG	NTA	T--GATT-TT	GT
S31.ab1	IN	NT	T	NTA	T--GATT-TT	GT
S32.ab1	IN	NC	AAAA	NTAGAT	G--GCT	CTG
S36.ab1	IN	CA	AAAA	AAAA	ITAGAT	G--GCT
S41.ab1	IG	GG	GTT	GG	CCCGCAT	GT
S42.ab1	IN	NN	NG	NNNT	NT--GAT	GT
S43.ab1	IN	NN	NG	AGT	AG--GATT	GT
S27.ab1	IN	NG	NG	GGGA	AA	GAT
S34.ab1	IN	NG	T	NTT	A--GAT	GT
S35.ab1	IN	NN	NA	ANC	AA	CGAT
S37.ab1	IN	NT	T	NTT	ITAGAT	T
S26.ab1	IN	NN	NG	NN	NT	GT
S29.ab1	IG	GG	GTT	GG	AA	AA
S30.ab1	IN	NG	G	T	NT	GT
S38.ab1	IN	NN	NT	NGT	CAGT	T
S39.ab1	IN	NG	G	T	GAAT	GAT
S45.ab1	IG	GG	CG	GA	T---ATT	GT
S47.ab1	IN	NN	NG	AGT	AGT	GT
S44.ab1	IN	NN	GG	CAG	ATT	GT





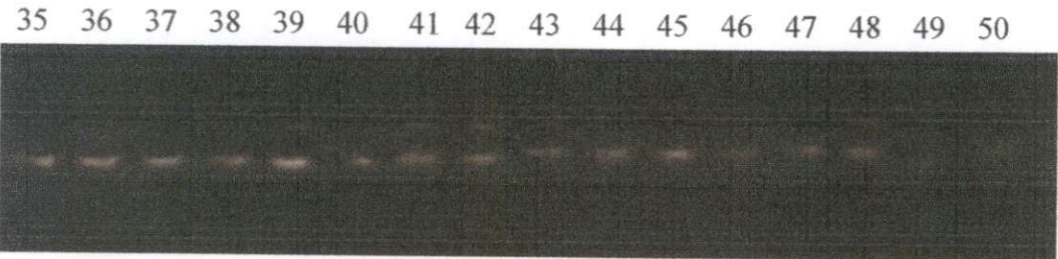
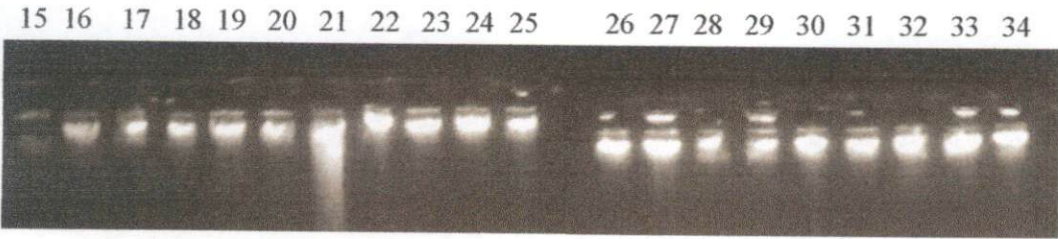
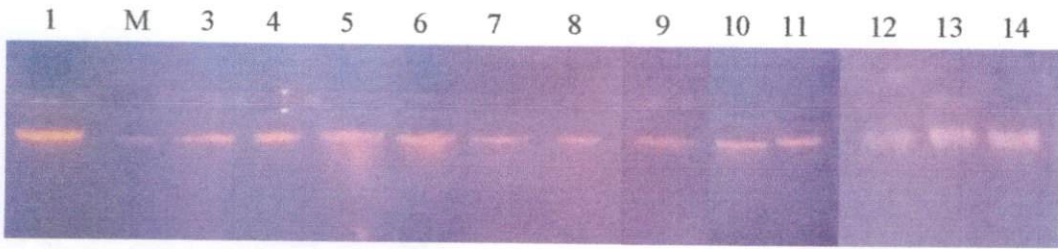






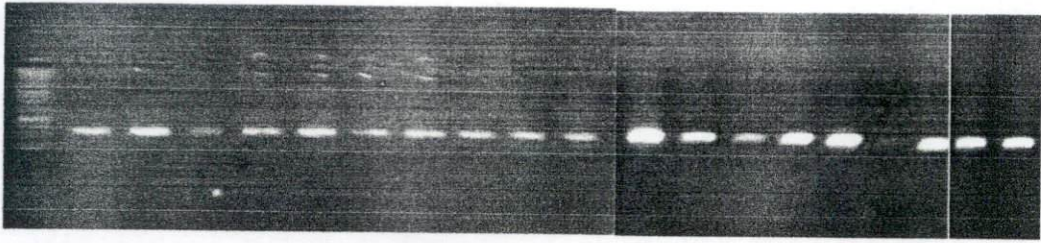
	500	510	520	530	540	550
Transla	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
Gordon.1	atgaacctgacattctggaggctgatttccatgtcagtgacatgtgccgatgg--tac					
S04.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S05.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S08.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S02.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S03.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S06.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S01.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S07.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S09.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S10.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S33.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S12.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S13.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S14.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S15.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S16.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S17.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S18.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S21.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S11.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S19.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S24.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S25.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S28.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S40.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S20.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S22.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S23.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S31.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S32.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S36.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S41.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S42.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S43.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S27.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S34.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S35.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S37.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S26.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S29.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S30.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S38.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S39.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S45.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S47.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					
S44.ab1	ATGAACCTGACATTCTGGAGGCTGATTTCCATGTCAGTGACATGTGCCGATGG--TAC					

Lampiran 3 : Hasil Isolasi DNA

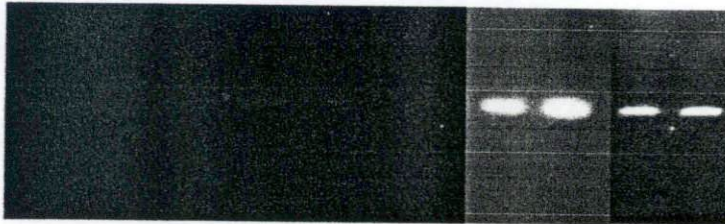


Lampiran 4 : Hasil amplifikasi

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19



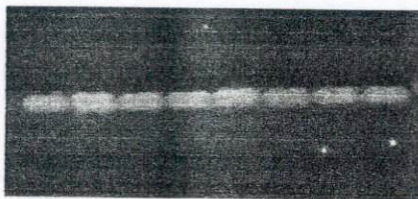
20 21 22 23 24 25 26 27 28 29



M 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42



43 44 45 46 47 48 49 50



## RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Trisa Fitriana, lahir di Banda Dalam 25 maret 1993. Penulis merupakan anak ketiga dari lima bersaudara dari Ayahanda Yuherdi dan Ibunda Damayus. Pada tahun 1998 penulis mulai masuk Taman Kanak-kanak (TK) di Payakumbuh. Setelah lulus dari TK pada tahun 1999, penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar Negeri (SDN) 03 Situjuah Banda Dalam dan lulus pada tahun 2005. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan sekolah ke SMPI Raudhatul Jannah Payakumbuh dan lulus pada tahun 2008. Pada tahun 2008 penulis masuk SMK SPP Padang Mengatas dan lulus pada tahun 2011. Setelah lulus SMK SPP penulis melanjutkan kuliah dan diterima di Fakultas Peternakan Universitas Andalas. Pada tanggal 26 Juni sampai 26 Juli 2014 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Nagari Kamang Hilia, kabupaten Agam. Kemudian penulis melaksanakan penelitian di Laboratorium Bioteknologi Ternak Fakultas Peternakan pada bulan Februari sampai Mei 2015, dengan judul “***Single Nucleotide Polymorphism* Ekson 10 Gen Reseptor Hormon Pertumbuhan pada Sapi Pesisir Sumatera Barat**”.

Padang, Oktober 2015

Trisa Fitriana