

Keragaman Genetik Gen Hormon Pertumbuhan (GH|MboII) pada Itik Sikumbang Janti Menggunakan Penciri PCR-RFLP

Genetic Diversity of Growth Hormone Genes (GH|MboII) on Sikumbang Janti Ducks using PCR-RFLP Founder

T. D. Nova*, Yurnalis dan A. K. Sari

Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang, 25163

E-mail: tertianand@ymail.com

(Diterima: 30 November 2015; Disetujui: 18 Januari 2016)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman gen hormon pertumbuhan (GH) dengan enzim *MboII* pada itik Sikumbang Janti dengan menggunakan penciri PCR-RFLP (*polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism*). Penelitian ini menggunakan sebanyak 50 sampel darah itik Sikumbang Janti. Sampel darah itik Sikumbang Janti diambil melalui *vena achilaris* sebanyak ± 1 ml. DNA sampel darah diisolasi menggunakan protocol Genomik DNA *Purification Kit* (Promega). DNA total diamplifikasi menggunakan sepasang primer F : 5'-CTG GAG CAG GCA GGA AAA TT-3' dan R: 5'-TCC AGG GAC AGT GAC TCA AC-3' yang menghasilkan fragmen exon 1 gen GH dengan panjang 801 bp. Produk amplifikasi direstriksi dengan menggunakan *MboII* yang mengenali situs pemotongan GAAGA (N/8) \downarrow . Dari 46 sampel hasil restriksi diperoleh dua posisi. Pada posisi 618 bp dengan genotip yaitu genotip heterozigot (+/-) yang terdiri dari 3 pita (266 bp, 535 bp dan 801 bp), genotip homozigot (+/+) yang terdiri dari 3 pita (109 bp, 266 bp, 426 bp) dan genotip homozigot (-/-) yang terdiri dari 1 pita (801) dan terdapat dua tipe alel, yaitu alel (+) dan all (-), all (+) sebesar 0,79 dan alel (-) sebesar 0,21. Sedangkan pada posisi 727 bp memiliki genotip yaitu genotip heterozigot (+/-) yang terdiri dari 3 pita (109 bp, 266 bp, 426 bp), dan genotip homozigot (-/-) yang terdiri dari 3 pita dan terdapat dua tipe alel, yaitu frekuensi alel (+) sebesar 0,61 dan frekuensi alel (-) sebesar 0,39. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa gen GH-*MboII* memiliki keragaman yang tinggi serta menunjukkan adanya keseimbangan atau tidak menyimpang dari keseimbangan Hardy Weinberg pada posisi keragaman 618 bp dan pada posisi 727 dalam ketidakseimbangan Hardy Weinberg.

Kata kunci: Itik Sikumbang Janti, gen GH (hormon pertumbuhan), enzim *MboII*

ABSTRACT

This study aimed at determining the gene diversity of growth hormone (GH) by the enzyme MboII identifier at ducks of Sikumbang Janti using PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism). This study used 50 blood samples of Sikumbang Janti ducks, taken through a vein achilaris as much as ± 1 ml. DNA blood samples were isolated using the protocol Genomic DNA Purification Kit (Promega). Total DNA was amplified using primer pair F: 5'-CTG GAG CAG GCA GGA GAG AAA TT-3' and R: 5'-TCC AGG TCA GAC GAC AGT AC-3' which resulted in exon 1 fragment GH gene with a length of 801 bp. Amplification products were restricted by using MboII which recognize the cutting site GAAGA (N /8) \downarrow . Of the 46 samples of the obtained results showed two positions of restriction diversity. At position 618 bp with a genotype that was heterozygous genotype (+/-) consisting of 3 band (266 bp, 535 bp and 801 bp), genotype homozygous (+/+), which consists of three band (109 bp, 266 bp, 426 bp) and genotype homozygous (- / -), which consists of one band (801). There were two types of alleles, the GH-MboII (+) of 0.79 and (-) 0.21. At the position 727 bp genotypes that genotype was heterozygous (+/+), consisting of three band (109 bp, 266 bp, 426 bp), and genotype homozygous (-/-), which consists of three band (266 bp, 535 bp and 801 bp). There were two types of alleles, the allele frequency (+) of 0.61 and allele frequency (-) 0.39. Therefore the GH gene-MboII have high diversity and show a balance or not deviate from Hardy-Weinberg equilibrium in diversity position 618 and at position 727 bp imbalance by Hardy-Weinberg.

Keywords: Sikumbang Janti Ducks, gene GH (growth hormone), enzyme MboII

PENDAHULUAN

Beternak itik telah dilakukan sejak lama oleh masyarakat di Sumatera Barat. Itik merupakan sumber mata pencaharian keluarga. Biasanya, mereka memelihara itik dengan sistem gembala. Setiap pagi hingga sore peternak mengembalakan itik di sawah-sawah untuk mendapatkan gabah-gabah yang tercecceh sebagai sumber pakan. Sistem pemeliharaannya memang masih sangat sederhana. Namun, dari telur dan daging yang dihasilkan oleh itik peliharaannya, para peternak di pedesaan mampu memenuhi kebutuhan hidup keluarganya. Itik telah menjadi salah satu pilihan usaha penyedia telur dan daging sehingga dapat dijadikan ternak andalan.

Ternak itik merupakan salah satu jenis ternak unggas penghasil telur dan daging yang potensial. Populasi ternak itik tersebar diseluruh pelosok Nusantara mulai dari daerah perkotaan sampai pedesaan. Daging dan telur itik cukup digemari oleh masyarakat Indonesia. Menurut Bharoto (2001) jenis-jenis itik di Indonesia adalah itik Tegal, itik Mojosari, itik Alabio, itik Manila (entok), dan itik Bali. Penamaan dan pengelompokan jenis-jenis itik tersebut berdasarkan nama daerah tempat itik berkembang. Di Sumatera Barat itik lokal yang berkembang adalah itik Pitalah, itik Kamang, dan itik Bayang. Harahap, Arbi, Tami, Azhari dan Bandaro (1980) menyatakan bahwa dilihat dari fenotip itik yang dipelihara di Sumatera Barat seperti itik di pulau Jawa yang berdarah Indian Runner.

Menurut Dirtjen Peternakan (2013) populasi itik di Sumatera Barat terus meningkat dengan tingkat pertumbuhan itik 7%, populasi sementara mencapai 1.201.892 ekor pada tahun 2012. Sumbangan produksi daging itik pada tahun tersebut mencapai 703 ton pertahun atau 3% dari produksi daging unggas nasional. Kelebihan ternak itik dibandingkan unggas lainnya adalah harga produknya lebih mahal, lebih stabil dan lebih tahan terhadap penyakit sehingga resiko pemeliharaannya tidak banyak.

Itik merupakan sumber daya genetik yang tinggi keanekaragamannya, baik dalam hal jenis maupun potensi produksinya. Ternak itik juga mempunyai potensi untuk dikembangkan karena memiliki daya adaptasi yang cukup baik. Itik memiliki banyak kelebihan dibandingkan ternak unggas lainnya, diantaranya adalah ternak itik lebih tahan terhadap penyakit. Selain itu, itik memiliki efisiensi dalam mengubah pakan menjadi daging yang baik (Akhdiarto, 2002). Salah satu itik lokal di Sumatera Barat adalah itik Sikumbang Janti yang merupakan itik petelur lokal dan itik ini berasal dari kota payakumbuh khususnya di Kenagarian Koto Baru Payobasuang.

Keragaman genetik sangat diperlukan dalam upaya pemuliaan ternak, karena dengan diketahuinya keragaman genetik ternak dimungkinkan untuk membentuk bangsa ternak baru melalui seleksi dan sistem perkawinan (Tixier-Boichard, 2009). Ismoyowanti dan Purwantini (2010) menyatakan bahwa identifikasi dan karakterisasi populasi itik lokal sangat penting dilakukan untuk identifikasi plasma nutfah dan pengembangan program pemuliaan.

Gen-gen yang diduga memiliki pengaruh pada pertumbuhan ternak diantaranya adalah Gen *Growth Hormone* (GH), GHR, GHRL, dan IGF1 telah digunakan sebagai gen kandidat dalam mencari keterkaitan antara genotipe dengan fenotipe pada ternak (Yon *et al.*, 1990).

Berdasarkan pemaparan diatas, maka dilakukan penelitian ini mengenai "Keragaman Genetik Gen Hormon Pertumbuhan (GH|*MbolI*) pada Itik Sikumbang Janti Menggunakan Penciri PCR-RFLP".

METODE

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen di Laboratorium Bioteknologi Ternak Fakultas Peternakan Unand.

Sampel darah itik diambil ± 1 ml melalui *vena achilaris* menggunakan jarum suntik (*Disposable Syringe*), dimasukkan dalam tabung *vacutainer* EDTA dan disimpan pada suhu -20°C

Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan dari sampel darah menggunakan *genomic DNA purification kit* dari *Promega* dengan prosedur sebagai berikut (Yurnalis, 2014):

1. Disiapkan tabung *microcentrifuge* 2 ml yang di isi dengan *cell lysis* sebanyak 300 μl .
2. Dikocok tabung sampel darah, kemudian diambil sebanyak 50 μl , dan dimasukkan ketabung yang telah berisi *cell lysis*, agar tercampur rata tabung dibolak-balik sebanyak 5-6 kali.
3. Kemudian diinkubasi selama 10 menit lalu dicampurkan sampel darah dan *cell lysis* pada temperature ruang, sambil dibolak balik sebanyak 3 kali kemudian disentrifuse pada kecepatan 14000 rpm selama 30 detik.
4. Setelah disentrifuse buang *supernatant* hati-hati endapan jangan sampai ikut terbuang.
5. Selanjutnya ditambahkan kembali *cell lysis* sebanyak 300 μl , lalu disentrifuse pada kecepatan 14000 rpm selama 30 detik. Kemudian dibuang *supernatant* dan endapan yang tinggal di tabung selanjutnya divortex selama 10-15 detik sehingga endapan tercampur rata.
6. Setelah itu ditambahkan larutan *nuclei lysis* sebanyak 500 μl pada tabung hasil *cell lysis di lysis* dengan menggunakan pipet larutan untuk memecah sel darah. Kemudian diinkubasi selama 1 jam dalam *waterbath* pada temperature 37°C . Jika setelah diinkubasi masih terlihat gumpalan, tambahkan 100 μl larutan *nuclei lysis*.
7. Setelah diinkubasi ditambahkan larutan *protein precipitasi* sebanyak 200 μl lalu divortex selama 20 detik, kemudian disentrifuse pada kecepatan 14000 rpm selama 3 menit. Selanjutnya pindahkan *supernatant* kedalam tabung *ependorf* baru yang berisi 300 μl Isopropanol.
8. Dicampur ratakan larutan isopropanol dengan membolak-balik secara perlahan tabung sampai terlihat benang-benang DNA, kemudian disentrifuse pada kecepatan 14000 rpm selama 1 menit. Kemudian tabung larutan yang berisi DNA akan terlihat sebagai pellet putih. Buang cairan dan ditambahkan larutan *ethanol* 70% sebanyak 300 μl . Kemudian dibolak balik tabung secara perlahan untuk mencuci pellet, kemudian disentrifuse (14000 rpm) selama 1 menit.
9. Buang cairan *ethanol*, balikan tabung diatas kertas *tissue* steril, lalu didiamkan hingga kering selama ± 20 menit.
10. Lalu ditambahkan larutan DNA *rehydration* sebanyak 100 μl ke dalam tabung sambil tabung di *typping* sehingga pellet larut atau didiamkan pada suhu 4°C semalam dan kemudian di simpan dalam *freezer* pada temperatur -20°C .
11. Untuk melihat hasil, DNA yang telah di isolasi dilakukan elektroforesis (*Thermo Scientific*) pada gel *agarose* 1 %.

Amplifikasi Gen GH

DNA total hasil isolasi, selanjutnya diamplifikasi menggunakan sepasang primer F : 5'-CTG GAG CAG GCA GGA AAA TT-3' dan R: 5'-TCC AGG GAC AGT GAC TCA AC-3' (Yurnalis, 2014).

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

- a. Sampel DNA sebanyak 2 μl .
- b. *Master mix* sebanyak 15 μl .
- c. Campuran primer F dan R sebanyak 3 μl .
- d. *Water nuclease-free* sebanyak 10 μl .

Amplifikasi *invitro* dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (*Eppendorf Mastercycler gradient*) dengan program pradenaturasi pada temperatur 95°C selama 45 detik, annealing pada temperatur 60°C selama 45 detik dan ekstensi 72°C selama 1 menit dan ekstensi akhir 72°C selama 5 menit dengan 35 siklus.

Untuk melihat hasil amplifikasi gen GH, dielektroforesis menggunakan agarose 1,5% yang diwarnai dengan pewarnaan *ethidium bromide* dan hasilnya di amati dengan menggunakan UV transiluminator. Amplifikasi gen GH dikatakan berhasil jika pada gel agarose terlihat pita-pita pada posisi/ukuran pada sumur yang berisi sampel DNA produk PCR sesuai dengan target sepanjang 801 bp yang dapat di tentukan dengan membandingkan posisi pita yang terbentuk dengan posisi pita DNA ladder. Kemudian hasil elektroforesis didokumentasikan dengan kamera.

Restriksi Enzim *MboII*

Setelah selesai proses PCR dilakukan restriksi enzim dengan menggunakan enzim *MboII*. Penentuan genotipe menggunakan pendekatan RFLP dengan menggunakan produk PCR 15 µl lalu dimasukkan enzim *MboII* 15 µl, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam. Produk pemotongan DNA tersebut divisualisasikan pada gel agarose 2% dengan buffer 0,5 x TBE (Tris Borat EDTA) yang diwarnai dengan *ethidium bromide*, dan dijalankan menggunakan *power supply electrophoresis* pada tegangan 100 Volt. Hasil elektroforesis diamati dengan bantuan sinar UV transiluminator. 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|*MboII* (+) dan GH|*MboII* (-) ditunjukkan dengan jumlah dan ukuran besarnya fragmen yang terpotong.

Analisis Data

Analisis diskripsi untuk melihat keragaman sekuen GH dilakukan menurut prosedur SNP stat (Sole *et al.*, 2006) sebagai berikut :

- a) Frekuensi genotip dihitung berdasarkan jumlah alel suatu genotif di bagi dengan jumlah sampel:

$$f_1 = \frac{\sum x}{N} : X_1 = \text{genotip yang diamati}$$

- b) Frekuensi alel dihitung dengan menjumlah semua alel dibagi dengan 2N

$$f_2 = \frac{\sum x_1}{2N} : x_1 = \text{alel yang diamati}$$

- c) Keseimbangan Hardy-weinberg diuji dengan chi-square (χ^2) (Hartl, 1988).

Pengujian keseimbangan Hukum Hardy-Weinberg pada populasi itik dilakukan dengan menggunakan uji chi-square untuk mengetahui apakah data pengamatan diperoleh menyimpang atau tidak menyimpang dari yang diharapkan.

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

Keterangan :

X_n^2 = chi-square

O = jumlah pengamatan genotipe ke-i

E = jumlah harapan genotip ke-i

HASIL DAN PEMBAHASAN

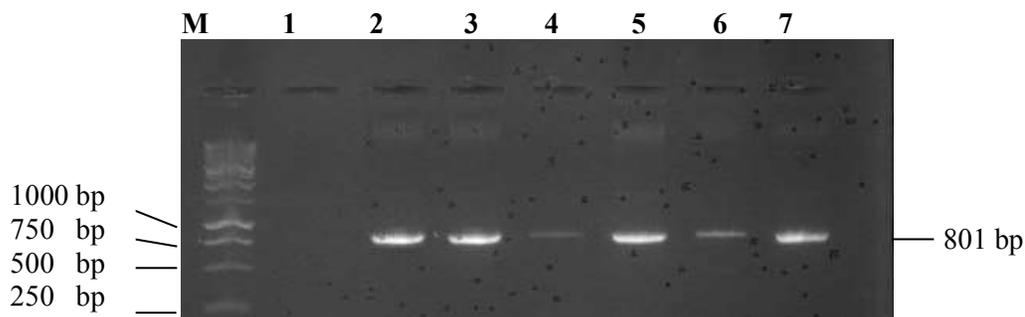
Isolasi DNA Total

Isolasi DNA Genomik dari darah itik dilakukan menggunakan protocol Genomik DNA Purification Kit dari Promega yang telah dimodifikasi. Sampel darah yang sudah di isolasi untuk mengetahui keberhasilan dari isolasi DNA tersebut maka dilakukan elektroforesis seperti pada Gambar 1 dibawah ini. Dari hasil elektroforesis menunjukkan bahwa pita DNA yang diperoleh dari isolasi darah menghasilkan pita DNA yang jelas dan bersih hal ini menunjukkan kualitas DNA yang dihasilkan baik. Langkah awal yang sangat menentukan dalam keberhasilan penelitian molekuler yang berbasis pada DNA adalah kualitas DNA yang diperoleh dari tahapan isolasi. Kemurnian dan kualitas DNA yang diperoleh dari tahap ini akan sangat menentukan dalam penelitian-penelitian biologi molekuler.

Tiga langkah utama dalam isolasi DNA adalah perusakan dinding sel atau lisis, pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Surzycki, 2000). DNA yang diperoleh dari hasil isolasi darah ada yang terlihat *smear*, hal ini menunjukkan bahwa metabolit – metabolit yang terkandung di dalam darah tidak dapat dibersihkan secara sempurna pada proses isolasi, sehingga tidak diperoleh



Gambar 1. Hasil elektroforesis isolasi DNA nomor sampel 1-35
Keterangan : M = marker

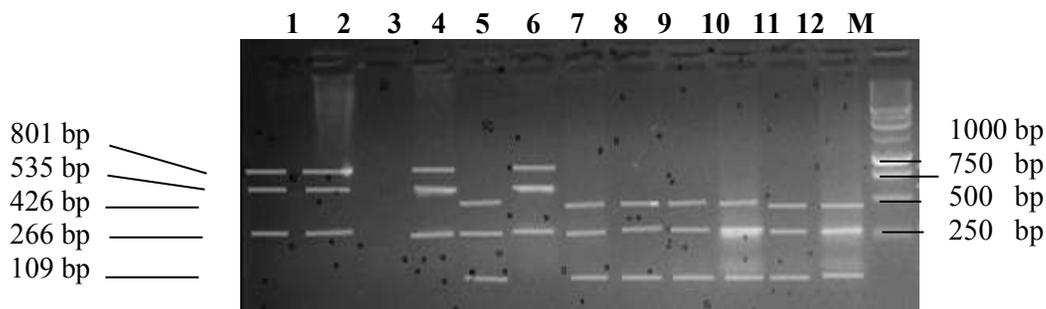


Gambar 2. Elektroforesis hasil produk PCR Gen hormon pertumbuhan.
Keterangan : M = Marker, 1-7 = Sampel DNA

DNA yang murni. Sedangkan pada hasil isolasi darah yang terlihat jelas proses pemurnian DNA dapat terjadi lebih sempurna sehingga dapat diperoleh DNA yang murni. Hal ini ditandai dengan pita DNA yang jelas dan bersih. Menurut Peccia dan Hernandez (2006) bahwa pada dasarnya prinsip dari isolasi DNA terdiri dari melisiskan sel dan memurnikan asam nukleat (DNA). Pemurniaan DNA merupakan proses untuk memisahkan DNA dari lisat sel (protein, karbihidrat, lipid) dan kontaminan lain. Pada hasil elektroforesis ini terdapat sumur (*slot*) yang kosong atau tidak terdapat pita. Hal ini disebabkan karena diduga pada waktu menginjeksi sampel keluar dari *slot*, adanya kontaminasi sehingga DNA yang harus diambil supernatan ikut terbuang dengan hasil sentrifugasi yang dibuang serta kesalahan dalam memasukan bahan dan komposisinya. Hasil elektroforesis tersebut dilihat dengan transilluminator UV dan dipotret pada Gambar 1.

Amplifikasi Gen Hormon Pertumbuhan

Amplifikasi gen hormon pertumbuhan dari DNA total itik Sikumbang Janti, menggunakan metode PCR dengan suhu *annealing* 60°C selama 3 jam menggunakan pasangan primer F : 5'-CTG GAG CAG GCA GGA AAA TT-3' dan R: 5'-TCC AGG GAC AGT GAC TCA AC-3' (Yurnalis, 2014). Pada elektroforesis hasil amplifikasi yang dilakukan, dengan menggunakan gel *agarose* 1,5 %, dari 50 sampel DNA gen GH itik Sikumbang Janti diperoleh hasil produk PCR sebanyak 46 slot blok gel (sumur). Sampel DNA yang tidak teramplifikasi diduga karena terjadi mutasi dititik pemotongan basa DNA gen GH yang menyebabkan perubahan dari basa DNA gen GH, sehingga pasangan primer yang digunakan tidak dapat mengamplifikasi fragmen yang dikenali, tidak menempelnya primer pada DNA target selama proses *annealing*. Ketidakberhasilan amplifikasi DNA ditandai dengan tidak terlihat pita DNA pada saat dilakukan



Gambar 3. Hasil restriksi fragmen Gen GH menggunakan enzim *MboII*.

Posisi pemotongan enzim dapat dilihat pada gambar berikut ini :

```

301 aggtgtcccagctctggccttgtcagccctgttaactgtgggccagaccctgctgagcag
361 gcaggaaaattaggagcacttttctatctatgcggggaaattccaccatgtaaaagcactg
421 atctgatthgggtggctcttccatgatgataaaaccggttatttgcaataaacagcagaa
481 tatggagaaatcattcagtgctaatttcatccctaggcaaacatcctcccaacctttcc
541 atctatgtataaatgactacaattaggtagcaccattgccaacacgtgtgcatthtatgca
601 tggagaagatatagagaggttgttgtgatcatgaacacatatatacatthtaaacagacc
661 ccctactatataaggggtgtctcaacagttgccattaccagcctagatgaaaggaagaaa
721 cattcactthcaagcaacatctgagcaactctccaggcagaaaatggctccagggtactctt
781 cthtatttcagthtacgaggattgccaatgcggctacaggcagcattgtgtccaaagaag
841 ggcaataaagctggtgaaggtctagagaacaagtcttattaggagcagccgtgggcact
901 ggggttgtthtagcttggagaaaaggtggctcaggagagaccttaccacaccctacaatta
961 ccttaaaggaggctgtagcaaggtggggatcaggctcttctccaggtactaagtggtaa
1021 gatgaggggaaatggcctcaagttgtgccaggggaggtttaggttgatattaagaagaag
1081 tttctthtactgaaaggttgtgtggcactggaataggctgccaggggaagtgtgagtc
1141 actgtccctggaaggctcatcatgaaacatgtagatgtagaagttagtagtatgtthtcatg

```

Gambar 4. Posisi pemotongan gen GH|*MboII* menghasilkan fragmen 109 bp, 266 bp, 426 bp dan 535 bp.

elektroforesis menggunakan gel *agarose* 1,5%. Hasil elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 2.

Proses amplifikasi dinyatakan berhasil apabila dalam satu slot blok gel (sumur) terlihat satu pita DNA atau satu fragmen yang berukuran sesuai dengan yang diharapkan. Hal ini sesuai dengan pendapat Rojas *et al.* (1993), bahwa fragmen DNA dengan ukuran tersebut sesuai dengan ukuran yang diharapkan dengan primer. 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 gambar di atas bahwa hasil amplifikasi gen GH dengan primer tersebut dapat dinyatakan teramplifikasi secara spesifik karena hanya

terdapat satu pita DNA di setiap sumur pada saat di lakukan elektroforesis. Keberhasilan amplifikasi gen GH sangat ditentukan oleh kondisi penempelan primer pada DNA genom (gen target). Berdasarkan pasangan primer yang digunakan sesuai dengan rancangan Yurnalis, (2014) menunjukkan hasil bahwa panjang produk PCR hasil amplifikasi gen GH adalah 801 bp yang terletak pada daerah *exon 1*.

Keragaman Gen GH|*MboII*

Keragaman gen hormon pertumbuhan diketahui dengan menentukan alel dan genotip pada setiap individu melalui pendekatan PCR-RFLP menggunakan enzim restriksi *MboII*. Nei dan Kumar (2000) menyatakan bahwa gen dikatakan polimorfik apabila salah satu alelnya kurang dari 99 %. Bagian pada DNA yang dikenai aksi

pemotongan oleh enzim restriksi ini dinamakan sekuen pengenal. Enzim ini hanya mengenali situs pemotongan GAAGA (N/8). Dari hasil amplifikasi produk PCR fragmen gen GH|MboII yang dielektroforesis pada gel agarose 2% diperoleh tiga macam fragmen, yaitu fragmen yang dapat dipotong dengan satu pemotongan dikenal dengan (+/+), fragmen gabungan dengan dua pemotongan dikenal dengan (+/-) dan tidak terpotong (-/-) dan 2 alel + dan -. Untuk menentukan alel GH|MboII (+) dan GH|MboII (-) ditunjukkan dengan jumlah dan ukuran besarnya fragmen yang terpotong lalu dicocokkan dengan marker yang digunakan. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terjadi keragaman pada gen hormon pertumbuhan dengan enzim MboII karena terdapat perbedaan situs pemotong dari hasil elektroforesis pada gel agarose 2% yang dapat dilihat pada Gambar 3.

Pada Itik Sikumbang Janti dengan menggunakan enzim MboII terdapat 2 titik pemotongan pita DNA, pemotongan pertama dengan posisi 266 bp, 535 bp dan 801 bp keragaman gen hormon pertumbuhan terjadi pada posisi 618 bp kemudian pada pemotongan kedua dengan jumlah basa 109 bp, 266 bp dan 426 bp keragaman gen hormon pertumbuhan terjadi pada posisi 727 bp. Pada posisi 618 bp mempunyai genotip +/-, +/+ dan -/- dan posisi 727 bp mempunyai genotip -/- dan +/+ yang dapat dilihat pada Gambar 3.

Frekuensi Genotip dan Frekuensi Alel

Frekuensi alel yaitu frekuensi relatif dari suatu alel dalam populasi atau jumlah suatu alel terhadap jumlah total alel dalam suatu populasi (Nei dan Kumar, 2000). Pemotongan produk PCR menggunakan

enzim MboII menghasilkan fragmen dengan pola potongan yang beragam (*polimorfik*). Frekuensi genotip dan frekuensi alel gen GH|MboII pada Itik Sikumbang Janti dilihat dan dihitung berdasarkan situs pemotongan enzim MboII yang divisualisasikan dari hasil elektroforesis pada gel agarose 2%. Polimorfisme atau keragaman dapat ditunjukkan dengan adanya dua alel atau lebih dalam satu populasi. Hasil frekuensi alel dan genotip pada Itik Sikumbang Janti dapat dilihat pada Tabel 1.

Keragaman pada posisi 618 mempunyai genotip GH|MboII (+/+) dengan nilai frekuensi genotip sebesar 0,61, serta genotip GH|MboII (+/-) dengan nilai frekuensi genotip sebesar 0,37 dan GH|MboII (-/-) dengan nilai frekuensi genotip sebesar 0,02. Demikian pula yang didapat pada frekuensi alel GH|MboII (+) lebih tinggi dengan frekuensi 0,79 dibandingkan dengan frekuensi alel gen GH|MboII (-) sebesar 0,21. Sedangkan keragaman untuk posisi pemotongan 727 bp memiliki genotip GH|MboII (+/+) dengan nilai frekuensi genotip sebesar 0,61, dan genotip GH|MboII (-/-) dengan nilai frekuensi genotip sebesar 0,39. Dengan frekuensi alel GH|MboII (+) lebih tinggi dengan frekuensi 0,61 dibanding dengan frekuensi alel gen GH|MboII (-) sebesar 0,39. Dari hasil analisa frekuensi alel dinyatakan bahwa terdapat keragaman yang tinggi pada gen hormon pertumbuhan pada itik Sikumbang Janti yang direstriksi dengan enzim MboII karena terdapat perbedaan panjang fragmen DNA. Sesuai dengan pendapat Nei dan Kumar (2000) bahwa gen dikatakan polimorfik apabila salah satu alelnya kurang dari 99 %.

Tabel 1. Hasil frekuensi alel dan genotip pada Itik Sikumbang Janti

Keragaman Posisi Gen Pemotongan (bp)	Frekuensi Genotip			Frekuensi Alel		X_k^2
	+/+	+/-	-/-	+	-	
618	0,61	0,37	0,02	0,79	0,21	0,728

Keterangan :

$X_k^2(0,728) \leq X_c^2(0,05)$ (tidak berbeda nyata) untuk posisi pemotongan pada 618 bp.

$X_k^2(39,249) \geq X_c^2(0,01)$ (sangat berbeda nyata) untuk posisi pemotongan pada 727 bp.

Keseimbangan Hardy-Weinberg

Suatu populasi dinyatakan dalam keseimbangan Hardy-Weinberg, jika frekuensi genotip (p^2 , $2pq$ dan q^2) dan acak. Hasil Pengujian keseimbangan Hukum Hardy-Weinberg pada populasi Itik Sikumbang Janti GH|MboII dilakukan dengan menggunakan uji *chi-square* untuk mengetahui apakah data pengamatan diperoleh menyimpang atau tidak menyimpang dari yang diharapkan. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya keseimbangan Hukum Hardy Weinberg dimana $X^2_{(0,728)} \leq X^2_{(0,05)}$ untuk posisi pemotongan pada 618 bp dan $X^2_{(39,249)} \geq X^2_{(0,01)}$ untuk posisi pemotongan pada 727 bp menunjukkan adanya penyimpangan atau dalam ketidakseimbangan Hardy Wienberg, dapat dilihat pada Tabel 1. Pada posisi pemotongan 727 bp data diperoleh tidak seimbang diduga karena sudah ada kegiatan seleksi yang dilakukan, tidak adanya perkawinan secara acak, tidak terkontrolnya sistem perkawinan sehingga ada peluang terjadinya seleksi, terjadi penyempitan pada populasi (*bottleneck effect*) dan sudah terjadi migrasi.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat keragaman gen GH|MboII pada itik Sikumbang Janti dengan pemotongan
2. Pada posisi pemotongan 618 bp, frekuensi alel dan frekuensi genotip yaitu; frekuensi alel (+) sebesar 0,79, frekuensi alel (-) sebesar 0,21 dan genotip GH|MboII (+/+) dengan nilai frekuensi genotip sebesar 0,61, serta genotip GH|MboII (+/-) dengan nilai frekuensi genotip sebesar 0,37 dan GH|MboII (-/-) dengan nilai frekuensi genotip sebesar 0,02.
3. Pada posisi pemotongan 727 bp, frekuensi alel dan frekuensi genotip

frekuensi alel (p dan q) konstan dari generasi ke generasi, karena akibat penggabungan gamet yang terjadi secara

yaitu; frekuensi alel (+) sebesar 0,61, frekuensi alel (-) sebesar 0,39 dan genotip GH|MboII (+/+) dengan nilai frekuensi genotip sebesar 0,61, dan genotip GH|MboII (-/-) dengan nilai frekuensi genotip sebesar 0,39.

4. Pada posisi pemotongan 618 bp menunjukkan adanya keseimbangan atau tidak menyimpang dari keseimbangan Hardy Weinberg dan pada posisi pemotongan 727 bp menunjukkan dalam ketidakseimbangan Hardy – Weinberg.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhadiarto, S. 2002. Kualitas Fisik Daging Itik pada Berbagai Umur Pemotongan Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Budidaya Pertanian. BPPT.
- Bharoto, K.D. 2001. Cara Berternak Itik. Aneka Ilmu, Semarang.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2013. Daftar Populasi, Konsumsi, dan Produksi Ternak, Jakarta.
- Harahap., D. A. Arbi, D. Tami, W. Azhari dan Dj. Dt. T. Bandaro. 1980. Pengaruh manajemen terhadap produksi telur itik di Sumatra Barat. P3T Universitas Andalas, Padang.
- Ismoyowati and D. Purwantini. 2011. Genetic variability of Bali and Alabio duck on the basis of phenotypic and microsatellite. Asian J Poult Sci. 5 (3): 107-115
- Peccia, J. and M. Hernadez. 2006. Incorporating polymerase chain reaction-based identification population characterization, and quantification of microorganisms into aerosol: A Review. Atmospheric Environment. 40: 3941-3961.
- Rojas, M. R., R. L. Gilbertson, D. R. Russel, and D. P. Maxwel. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase

- chain reactin to detect whitefly transmitted geminiviruses. *Plant Disease*. 71:340-347.
- Sole, X., E. Guino, J. Valls, R Iniesta and V. Morena. 2006. SNPtats : a web tool for the analysis of association studies bioinformatic 22:1928-1929
- Surzycki, S. 2000. *Basic Techniques in Molecular Biology*. Spinger-Verlag. Berlin. Heidelberg, New York.
- Tixier-Boichard, M, A. Bordas and X. Rognon.2009. Characterisation and monitoring of poultry genetic resources. *World's Poult Sci*. 65: 272-285.
- Yoon, J. B., S. A. Berry., S. Seelig., and H. C. Towle. 1990. An indocible nuclear factor binds to a growth hormone – regulated gene. *Journal of biological chemistry* 265 : 19947 – 19954.