

SIFAT MENERAM PADA AYAM DITINJAU DARI ASPEK MOLEKULER

TIKE SARTIKA

Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002

ABSTRAK

Terdapatnya sifat mengeram pada ayam Kampung, mengakibatkan produksi telur rendah. Tinggi rendahnya sifat mengeram tergantung pada faktor genetik seperti bangsa, atau strain ayam dan faktor lingkungan seperti tata laksana pemeliharaan, perkandangan dan pencahayaan (*photo periodicity*). Dalam makalah ini dilakukan pengkajian terhadap sifat mengeram ditinjau dari aspek genetik secara molekuler. Ada dua pendapat yang dikemukakan dari hasil kajian tersebut, pendapat pertama mengemukakan sifat mengeram dipengaruhi oleh gen utama terpaut kelamin (*major gene sex-linked*) pada kromosom Z, gen tersebut adalah gen reseptor prolaktin. Akan tetapi, gen reseptor prolaktin yang dianalisa berdasarkan mRNA PRLR (*mRNA prolactin receptor*) tidak dapat membedakan ukuran transkripsi antara ayam WL (*White Leghorn*) tidak mengeram dengan ayam Bantam mengeram. Pendapat lainnya mengemukakan bahwa sifat mengeram dipengaruhi oleh gen mayor autosomal yang diturunkan dari ke-2 tetuanya. Promotor prolaktin sebagai gen mayor autosomal terletak pada kromosom 2 dapat membedakan genotipe sifat mengeram pada ayam Kampung. Genotipe AA dan AC sebagai genotipe sifat mengeram dan genotipe BB sebagai genotipe sifat tidak mengeram.

Kata kunci: Sifat mengeram, reseptor prolaktin, promotor prolaktin, ayam Kampung

ABSTRACT

BROODINESS TRAIT OF CHICKEN THROUGH MOLECULAR INVESTIGATION

Incubation behavior of Kampung chicken is associated with the cessation of egg laying, and intensity of broodiness trait depends on genetic and environmental factors such as breed, management system, type of cages and photo periodicity. In this review, broodiness trait was investigated through molecular analysis. The result of the study concluded that there are two hypothesis of genetic incubation behavior. Some authors agreed that the incubation behavior is controlled by a major gene sex-linked on the Z chromosome. The prolactin receptor (PRLR) gene is a candidate gene for broodiness trait on the Z chromosome. However, the expression of broodiness in White Leghorn and Bantam hens cannot be explained by differences in the amounts of PRLR mRNA in the transcription or gross structure of the PRLR gene. The other hypothesis concluded that the incubation behavior is controlled by a small number of dominant autosomal genes with no sex linkage. Prolactin promoter (PRLp) gene is the major gene autosomal as starting point to express prolactin gene on the 2 chromosome. Prolactin promoter gene could be represented by the broodiness bands. Genotype AA and AC is identified as the broody genotype and BB as the non broody genotype.

Key words: Broodiness, prolactin receptor, prolactin promoter, Kampung chicken

PENDAHULUAN

Dengan berkembangnya aspek molekuler, banyak kemungkinan yang dapat ditawarkan pada industri peternakan. Salah satunya yang sedang *trend* adalah mengetahui posisi gen dalam peta genetik yang diketahui mempunyai fungsi secara genetik. Identifikasi lokasi gen atau *marker* dapat dipakai sebagai penanda dalam *marker assisted selection* (MAS/seleksi berdasarkan penanda genetik).

Peta genetik dan *database* ayam *ARKdb-CHICK* telah lengkap dipetakan, diketahui bahwa terdapat 2530 lokus dengan 765 diidentifikasi sebagai gen. Hasil penelitian genom ayam sebanyak 2529 penelitian termasuk penelitian mikrosatelit sebanyak 1277, penggunaan primer sebanyak 3193, pustaka genom 32

dan klon sebanyak 316 (ROSLIN INSTITUTE, 2004). *Database* ayam ini dapat diakses melalui internet pada website <http://www.thearkdb.org>. Dengan mengetahui peta genetik diharapkan terdapat keterkaitan informasi genetik dengan sifat-sifat kuantitatif yang mempunyai gen pengontrol terhadap variasi fenotipe sifat tersebut. Sifat kuantitatif yang menarik dipelajari pada ayam Kampung salah satunya adalah sifat mengeram.

Kejadian/kebiasaan mengeram pada ayam Kampung ditandai dengan menyarang yang terus menerus, menjaga telurnya dan karakter *clucking* (sifat defensif pada ayam mengeram disertai bunyi suara yang khas) (ROMANOV *et al.*, 2002). Apabila ayam lokal dipelihara secara ekstensif atau semi intensif, setelah ayam tersebut bertelur kurang lebih sebanyak

12–15 butir biasanya dilanjutkan dengan mengerami telurnya selama 21 hari sampai telur menetas. Setelah menetas induk ayam tetap mengerami dan menjaga anaknya serta masih terdapat karakter *clucking*. Secara keseluruhan, kebiasaan mengeram selama masa inkubasi dan setelah menetas (selama masa *brooding*) dinamakan sifat mengeram (SHARP, 1997; ROMANOV *et al.*, 2002). Akan tetapi, fenomena sifat mengeram yang dipelajari adalah sifat mengeram selama masa inkubasi.

Pada pemeliharaan secara intensif/kondisi komersial dengan kandang batere, walaupun telurnya diambil setiap hari, masih dijumpai ayam Kampung yang menunjukkan gejala sifat mengeram dan bahkan ada yang mengeram lebih dari 21 hari bahkan sampai 100 hari. Adanya sifat mengeram ini berhubungan dengan menurunnya produksi telur (ROMANOV *et al.*, 2002), karena produksi telur akan terhenti selama ayam tersebut menunjukkan gejala mengeram dan diikuti dengan lama istirahat yang panjang (tidak bertelur). Lama istirahat produksi telur pada ayam Kampung berkisar 209–271 hari/ekor/tahun (SASTRODIHARDJO *et al.*, 1996). Seleksi terhadap persistensi produksi telur menghasilkan berkurangnya kejadian mengeram (ROMANOV *et al.*, 2002), akan tetapi sifat mengeram tersebut sangat sulit untuk dihilangkan sama sekali. Ulasan ini bertujuan untuk membahas adanya dua pemahaman fenomena sifat mengeram pada ayam secara molekuler dan penerapannya pada penelusuran sifat mengeram pada ayam Kampung di Indonesia.

TINJAUAN SIFAT MENERAM SECARA GENETIK

BLAKELY dan BADE (1991) mengemukakan bahwa sifat mengeram merupakan sifat yang menurun dan tinggi rendahnya sifat mengeram tergantung pada faktor genetik seperti bangsa atau strain ayam dan faktor lingkungan seperti lama cahaya (*photo periodicity*) dan tata laksana pemeliharaan. Oleh karena itu, upaya menghilangkan sifat mengeram dapat dilakukan dengan memperbaiki mutu genetik dengan metode seleksi seperti yang telah dilakukan pada ayam ras petelur.

ROMANOV *et al.* (1999) mengemukakan bahwa secara genetik sifat mengeram ini mempunyai dua hipotesis. Hipotesis pertama didasarkan pada penelitian HUTT (1949), SAEKI dan INOUE (1979), PARKHURST dan MOUNNEY (1987), serta DUNN *et al.* (1998) bahwa sifat mengeram dipengaruhi oleh gen utama terpaut kelamin (*major gene sex-linked*). Dinyatakan pula bahwa lokasi gen mayor sifat mengeram ini terletak pada kromosom Z. Hipotesis kedua berpendapat lain, SAEKI (1957) mengemukakan bahwa secara genetik sifat mengeram ini tidak hanya dipengaruhi oleh gen terpaut kelamin akan tetapi dipengaruhi pula oleh adanya aksi gen autosomal. Demikian pula, HAYS

(1940) dan ROMANOV *et al.* (1999) mengemukakan bahwa sifat mengeram ini adalah poligenik. Dikemukakan bahwa sifat mengeram dikontrol oleh gen dominan *autosomal* pada satu lokus dengan genotipe (AA), sedangkan pada ayam yang tidak mengeram dikontrol oleh gen dominan *autosomal* inhibitor dengan genotipe (BB) pada lokus lainnya.

Apabila sifat mengeram dapat dikurangi atau dihilangkan melalui seleksi, maka produksi telur akan meningkat. Heritabilitas (h^2) dari sifat mengeram adalah 0,3 (MARTOJO *et al.*, 1990), sedangkan SAEKI (1957) mendapatkan nilai heritabilitas yang dihitung berdasarkan komponen jantan, komponen induk dan komponen keduanya (*full-sib*) sebesar 0,163; 0,056; dan 0,109. Oleh karena itu, seleksi sifat mengeram berdasarkan seleksi konvensional memerlukan waktu yang lama. Dengan diketahuinya genotipe sifat mengeram secara molekuler, maka untuk mendapatkan ayam Kampung tidak mengeram akan lebih mudah dilakukan.

RESEPTOR PROLAKTIN SEBAGAI GEN UTAMA TERPAUT KELAMIN (*MAJOR GENE SEX-LINKED*) SIFAT MENERAM

Reseptor Prolaktin (PRLR) telah terseleksi sebagai gen kandidat untuk sifat mengeram karena merupakan bagian penting berfungsinya *neuroendocrin* yang menstimulir kejadian mengeram (SHARP, 1997). Mekanisme terjadinya mengeram diawali dari hasil akhir aktivitas hormon endokrin yang merupakan mediator untuk sekresi VIP (*Vasoactive Intestinal Polypeptide*) yang merupakan 28 asam amino *neuropeptide*. VIP tersebut dihasilkan dari bagian utama *hypothalamus* yang mengaktifkan pengeluaran prolaktin dari bagian *pituitary*. Prolaktin mempertahankan kebiasaan mengeram (*broody behavior*) dengan adanya aksi gen reseptor prolaktin. Gen reseptor prolaktin sangat menarik dipelajari sebagai gen kandidat, karena merupakan gen mayor yang berperan pada keberhasilan mengeram, terletak pada kromosom Z. Gen tersebut menunjukkan *sex linkage* dengan sifat mengeram (SAEKI dan INOUE, 1979). Walaupun pada mulanya tidak diketahui bahwa reseptor prolaktin adalah *sex-linked*, namun terdapat alasan yang kuat untuk diteliti lebih lanjut karena posisinya berdekatan dengan *growth hormone receptor* (GHR).

Berdasarkan peta genetik, posisi reseptor prolaktin (PRLR) dan GHR sangat berdekatan dan *linkage*/berhubungan dengan peta genetik manusia (kromosom 5 p14-p12) dan peta genetik tikus (kromosom 15, 4,60 cM). Diketahui bahwa GHR adalah *sex-linked* pada ayam dan terletak pada kromosom Z, sehingga karena posisi PRLR dan GHR

berdekatan dapat diprediksi bahwa PRLR juga terletak pada kromosom Z (DUNN *et al.*, 1998).

Untuk membuktikan hal tersebut telah dilakukan pemetaan dengan mempelajari segregasi *marker* polimorfik untuk reseptor prolaktin (PRLR) pada populasi ayam *East Lansing* dengan persilangan *backcross* (DUNN *et al.*, 1998). *Marker* polimorfik tersebut didapat dari kloning dan urutan intron 5 reseptor prolaktin. Dengan menggunakan informasi tersebut diproduksi sepasang primer yaitu *Forward primer* (PRM 192, TCCTTCCAGCTTTCATAGA) dan *Reverse primer* (PRM 195, CTCCTGGAAGCAAGCAATCTCAGA) yang menghasilkan fragmen DNA sebesar 303 pb. Analisis SSCP (*Single Stranded Conformational Polymorphism*) digunakan untuk menentukan alel-alel polimorfik pada turunan persilangan *East Lansing*. Pola alel dan posisinya dari referensi ayam Hutan (*Jungle Fowl*) dipelajari menggunakan *Software Map Manager*.

Reseptor Prolaktin (PRLR) dipetakan dan diketahui terletak pada posisi 45 cM pada kromosom Z, berdekatan dengan *growth hormone receptor* (GHR) pada posisi 49 cM. Walaupun dilaporkan berhubungan dengan sifat mengeram (*sex-linkage*), keberadaan reseptor prolaktin pada kromosom Z memacu reseptor sebagai gen kandidat untuk sifat mengeram, menjadi gen PRLR yang berhubungan dengan sifat mengeram. Selanjutnya, A'HARA dan BURT (2000) mengemukakan bahwa reseptor prolaktin telah dipetakan dan mempunyai *accession number* AJ011128, yaitu dapat diamplifikasi dengan *Forward primer*: GGGCAACTAATGAAATGGGA dan *Reverse primer*: CCCAGTTC-ACAGGTAGAGG. Dengan *primer* tersebut dapat menghasilkan fragmen DNA sebesar 680 pb. Akan tetapi berdasarkan analisis *Bi-allelic single nucleotide polymorphism* (SNPs) pada ayam petelur tidak diperoleh mutasi nukleotida.

BURT *et al.* (2000) mengemukakan bahwa berdasarkan perbandingan peta genetik dan peta fisik

gen yang konservatif (sulit mengalami mutasi) antara ayam, manusia dan tikus, terdapat 154 autosomal konservatif gen dimana 100 (64%) telah diidentifikasi, sedangkan antara ayam dan tikus terdapat 312 gen dan yang telah ditetapkan sebanyak 144 (46%). Diketahui bahwa PRLR dan GHR terletak pada kromosom Z pada lengan p23-p22 sedangkan pada manusia terletak pada kromosom 5, PRLR terletak pada lengan p14-p13 dan GHR pada lengan p14-p12. Pada tikus PRLR dan GHR terletak pada kromosom 15, posisi 4,6 cM (BURT *et al.*, 2000).

Dari urutan nukleotida gen reseptor prolaktin berdasarkan penelitian DUNN *et al.* (1998) diketahui terdapat 235 basa A, 150 basa C, 149 basa G, 243 basa T dan 5 basa anonim yaitu y, m, k, r dan y seperti terlihat pada urutan nukleotida PRLR (Gambar 1).

Untuk mengetahui struktur ataupun ekspresi gen PRLR pada *hypothalamus* dan jaringan *peripheral* ayam domestik (lokal) dilakukan penelitian terhadap dua *breed* ayam dengan karakter yang berbeda yaitu ayam *White Leghorn* (WL) yang tidak memperlihatkan sifat mengeram dan ayam *kate* (Bantam) yang mempunyai sifat mengeram dengan ekspresi mengeram yang jelas. Penelitian pendahuluan OHKUBO *et al.* (1998a) mengemukakan bahwa tidak terdapatnya sifat mengeram pada ayam WL tidak dipengaruhi oleh respons prolaktin terhadap *prolactin-releasing hormone vasoactive intestinal polypeptide* (VIP) yang merangsang pengeluaran prolaktin. Hal tersebut diperlihatkan dari jumlah PRLR mRNA terbanyak tidak berbeda nyata antara ke-2 *breed* yaitu terdapat pada otak, kelenjar *pituitary*, basal *hypothalamus* dan *preoptic hypothalamus*. Jumlah PRLR mRNA terkecil pada kedua *breed* juga tidak berbeda nyata yaitu terdapat pada *forebrain*, *cerebellum* dan *optic lobes*. Jumlah mRNA reseptor prolaktin terdistribusi sangat luas pada jaringan *peripheral* juga tidak berbeda nyata antara kedua *breed*. Analisis *Southern blotting* menggunakan 4 enzim restriksi dan *probe* cDNA

```

1  cccaattcct gctacttga taaaaaacac acttcttct ggaccatata caacattact
61  gtcagggcaa ctaatgaaat gggaagtaac agctctgatc ctcattatgt ggatgtgacc
121 tacataggtg agagactgtt ttcgttggaa ctaattaatt cagggctgtg ggttttgata
181 caataitttc ettccagctc ttctcataga ttgtagtaca ctcagttaaa atatgtaaga
241 acagtaagat cttgtctgtt gcagcagtag atcagtattc ttgtagcatt ggagcaaaaag
301 tgctgaaagc tttaaaactg cattcaggtg atcatttatt ggatccagta tttctccag
361 tcaagccgta agaaacacca tctgtctaaa atcctttcc actctaccac caactggaty
421 cmaattgata ttaaaactaa taactactaa attttactac ctgaaagtgg ttctgagat
481 tgctccagg agaagctgat cagtgttat agcatgactg atatctctca gactttctgc
541 agagtgactg cgacagtatt tagtattct aggaagaaca ttactgcaaa taatgatctt
601 tctatcaagg atgatctgc tcagaaccag ataactgaaa aagggttgg tkgraaatga
661 aggcgttata tttcacctct atgccctgac tacttgcttg gygaaatttt gcatcagacg
721 gtggtaaaac acatgcatta tatgcaggac cttctacctgt gaactggggg agctgcagga
781 tc

```

Gambar 1. Urutan nukleotida reseptor prolaktin (PRLR)

PRLR ayam memperlihatkan potongan fragmen DNA yang identik antara ayam WL dan Bantam. Demikian pula, hasil analisis *Northen blotting* pada kedua *breed* menghasilkan dua ukuran transkripsi mRNA PRLR ayam yang sama yaitu sebesar 7,5 dan 3,3 kb pada *hypothalamus*. Dari hasil penelitian, OHKUBO *et al.* (1998a) dikemukakan bahwa perbedaan ekspresi sifat mengeram pada ayam WL dan Bantam tidak dapat diterangkan oleh perbedaan jumlah mRNA PRLR pada *hypothalamus* ataupun transkripsi maupun struktur gen PRLR.

GEN AUTOSOMAL SIFAT MENERAM

ROMANOV *et al.* (1999) mengemukakan bahwa sifat mengeram dikontrol oleh gen *autosomal* dominan pada satu lokus pada ayam Bantam (B) dan gen *autosomal* sifat tidak mengeram (*non broody*) pada lokus lainnya pada ayam *White Leghorn* (WL). Diasumsikan bahwa A adalah gen dominan inkomplit untuk sifat mengeram dan B gen dominan inkomplit untuk inhibitor sifat mengeram. Sehingga genotipe tetua (P) dan turunannya (F1) pada persilangan *reciprocal cross* sebagai berikut:

P ♂ WL X ♀ B P ♂ B X ♀ WL
aaBB AAbb AA bb aaBB

F1 ♂ AaBb; ♀ AaBb F1 ♂ AaBb; ♀ AaBb

Dengan asumsi bahwa kedua gen dominan inkomplit, maka berdasarkan prediksi, kejadian mengeram pada turunan F1nya sebesar 50%. Hasil penelitian ROMANOV *et al.* (1999) mendekati kenyataan yaitu pada turunan F1 dan *reciprocalnya*, kejadian mengeram masing-masing sebesar 61,6% dan 54,8%.

Pada turunan F2 *backcross*, kemungkinan segregasinya sebagai berikut:

P ♂ F1 (♂ WL X ♀ B) X ♀ WL
AaBb aaBB

F2 ♂ 1/4 AaBB, 1/4 AaBb, 1/4 aaBB, 1/4 aaBb
♀ 1/4 AaBB, 1/4 AaBb, 1/4 aaBB, 1/4 aaBb

Pada turunan F2 *backcross*, fenotipe sifat mengeram betina diharapkan *diheterozygote* (AaBb) yang diperkirakan akan muncul sebesar 25%. Karena asumsi dominan inkomplit pada kedua gen untuk sifat mengeram hanya setengahnya, maka fenotipe sifat mengeram diperkirakan muncul sebesar 12,5%. Hasil penelitian ROMANOV *et al.* (1999) menunjukkan bahwa kejadian mengeram pada F2 *backcross* hanya terjadi sebesar 4,8%, hal tersebut berbeda nyata dengan hasil prediksi.

Penelitian sifat mengeram dilanjutkan pada siklus kedua masa bertelur, hasilnya menunjukkan bahwa

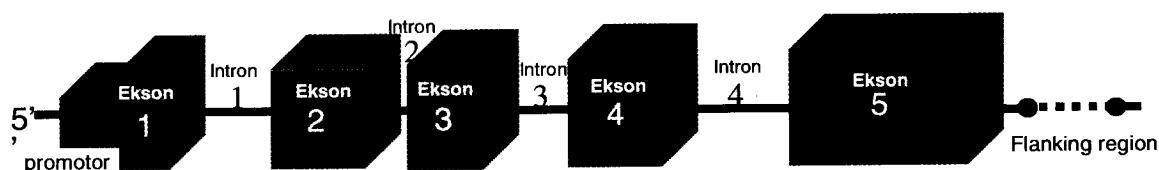
kebiasaan mengeram pada ayam tidak dikontrol oleh gen *major sex-linked* pada kromosom Z, akan tetapi oleh gen *major autosomal* yang berkontribusi pada ekspresi sifat mengeram. Apabila diketahui gen sifat mengeram terletak pada kromosom Z (hipotesis pertama), hal tersebut merupakan satu dari tiga gen yang mempunyai pengaruh yang sama terhadap sifat mengeram, dua gen lainnya yaitu gen *autosomal* dominan AA untuk sifat mengeram dan BB gen inhibitor sifat mengeram (ROMANOV *et al.*, 1999 dan ROMANOV *et al.*, 2002).

PROMOTOR PROLAKTIN SEBAGAI GEN AUTOSOMAL SIFAT MENERAM

Gen prolaktin (PRL) terletak pada Kromosom 2 (MIAO *et al.*, 1999; AU dan LEUNG, 2000), dan juga merupakan gen kandidat untuk sifat mengeram (SHIMADA *et al.*, 1991; DUNN *et al.*, 1998). Struktur primer dari gen prolaktin pada ayam (*Gallus gallus*) telah berhasil dievaluasi berdasarkan urutan cDNA (WATAHIKI *et al.*, 1989). Struktur primer yang didapat dari urutan cDNA prolaktin mRNA-PRL tersebut merupakan urutan gen Ekson 1 sampai dengan Ekson 5 yang terdiri atas *signal peptide* PRL dan gen prolaktin. Besarnya urutan mRNA-PRL Ekson 1 sampai dengan Ekson 5 berukuran 953 pb.

Informasi tersebut dilengkapi oleh AU dan LEUNG (2000) yang telah berhasil mengurutkan gen prolaktin ayam (*Gallus-gallus*) pada Kromosom 2 secara utuh berukuran 9.536 pb. Gen prolaktin tersebut terdiri atas promotor gen, 5 ekson, 4 intron dan *flanking region*. Bagian-bagian gen prolaktin secara parsial tersebut sebelumnya telah berhasil disekuensi (diurutkan) oleh beberapa peneliti antara lain: bagian eksonnya telah diurutkan OHKUBO *et al.* (1998b) yang terdiri atas Ekson 1 berukuran 81 pb, Ekson 2 berukuran 182 pb dan Ekson 4 berukuran 180 pb. Kemudian bagian intronnya telah berhasil diurutkan DHARA dan SOLLER (1999) yang terdiri atas bagian Intron 1 berukuran 714 pb, Intron 2 berukuran 406 pb dan bagian Intron 4 berukuran 744 pb. Dilanjutkan oleh KANSAKU (2000) yang telah berhasil mengurutkan bagian promotor gen prolaktin yang terbagi atas 3 bagian promotor yaitu Promotor 1 berukuran 330 pb, Promotor 2 berukuran 287 pb dan Promotor 3 berukuran 314 pb. MIAO *et al.* (1999) hanya berhasil mengurutkan bagian dari Ekson 3 dengan ukuran 59 pb dan terakhir CUI *et al.* (2004) berhasil mengurutkan Ekson 5 berukuran 418 pb.

Dari bagian-bagian gen prolaktin yang berhasil diurutkan secara parsial dan dari hasil urutan struktur gen prolaktin cDNA komplit (AU dan LEUNG, 2000), dapat direkonstruksi struktur gen prolaktin utuh dengan ukuran basa nukleotida yang tepat seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur gen prolaktin

Promotor	=	2.278 pb (5 dan 6)	
Ekson 1	=	81 pb (1, 2 dan 6),	Intron 1 = 1.521 pb (4 dan 6)
Ekson 2	=	182 pb (1, 2 dan 6),	Intron 2 = 406 pb (4 dan 6)
Ekson 3	=	108 pb (3 dan 6),	Intron 3 = 1.348 pb (6)
Ekson 4	=	180 pb (1, 2 dan 6),	Intron 4 = 1.910 pb (4 dan 6)
Ekson 5	=	418 pb (1, 6 dan 7)	
Flanking region	=	1.204 pb (6)	

Sumber: ¹WATAHIKI *et al.* (1989)
²OHKUBO *et al.* (1998b)
³MIAO *et al.* (1999)
⁴DHARA dan SOLLER (1999)
⁵KANSAKU (2000)
⁶AU dan LEUNG (2000)
⁷CUI *et al.* (2004)

Promotor prolaktin (PRLp) telah terseleksi sebagai gen kandidat untuk sifat mengeram (*broody behavior*) karena merupakan bagian penting terekspresinya (berfungsinya) suatu gen prolaktin. Posisi promotor dalam suatu gen prolaktin terletak pada bagian awal (*start point*) (LEWIN, 1997) dan berfungsi mengaktifkan awal transkripsi dari ekspresi gennya. Apabila terjadi mutasi pada promotor gen, maka gen prolaktin tidak akan bekerja atau tidak mampu mengekspresikan produknya yang mengakibatkan tidak muncul perilaku mengeram.

Promotor gen yang sama memiliki keragaman berbeda-beda tergantung pada jenis spesies hewan tersebut. Namun demikian, untuk spesies yang sama memiliki urutan yang konservatif, disamping itu masih ada urutan yang berbeda (*variable*). Oleh karena itu, apabila primer yang spesifik dapat didesain dan mampu mengamplifikasi fragmen promotor tersebut dengan baik, maka terbuka peluang untuk mendapatkan variasi keragaman urutan nukleotida pada daerah promotor gen PRL. KANSAKU (2000) dan AU dan LEUNG (2000) telah berhasil mengurutkan nukleotida fragmen promotor prolaktin.

TAKAHASHI (2003) berhasil mendesain primer spesifik untuk promotor prolaktin pada ayam sebanyak tiga pasang primer dengan urutan nukleotida primer digarisbawahi pada sekuens promotor prolaktin di bawah ini. Primer pertama (F: 5'-TATCTTTCCACCATCCATTCT-3'), (R: 5'-TTCCAACCCCTATAACTCTAT-3') dan primer

kedua (F: 5'-AAGATCACTGAGTCCAAAGT-3'), (R: 5'-ATATCT-AAAGGGATGAGAATG-3'). Kedua pasang primer tersebut menghasilkan fragmen DNA monomorfik pada ayam kampung yang dianalisa, sehingga primer tersebut tidak dapat dijadikan marker (penanda) untuk analisa selanjutnya. Primer ketiga (F: 5'-ATAACAATGGCCTGTCTTGC-3'), (R: 5'-CCACTGATCCTCGAAAACACTC-3'). Primer ketiga menghasilkan fragmen DNA polimorfik pada ayam Kampung, sehingga primer ini digunakan sebagai penanda ayam Kampung mengeram dan tidak mengeram (SARTIKA, 2005). Amplifikasi dari primer ketiga menghasilkan fragmen DNA sebesar 254 pasang basa (pb).

Bagian promotor prolaktin yang polimorfik tersebut merupakan urutan basa yang terletak pada bagian hampir mendekati akhir promotor hasil urutan KANSAKU (2000) dan AU dan LEUNG (2000) dan dapat dilihat pada urutan promotor (Gambar 3).

Hasil penelitian SARTIKA (2005) dengan menggunakan primer ke-3 tersebut, bahwa promotor prolaktin telah dapat mengidentifikasi sifat mengeram pada ayam Kampung berdasarkan genotipenya. Genotipe AA dan AC menunjukkan ayam Kampung mengeram dan genotipe BB menunjukkan ayam tidak mengeram. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian ROMANOV *et al.* (1999) yang mengemukakan bahwa sifat mengeram dipengaruhi oleh aksi gen autosomal yang diturunkan dari kedua tetuanya.

1 tgtgatttag aagacagcta tctttccacc atccattcta gtgttttcgg cctgtcggcc
61 ctgttcttag tgccttgatc agattatac tatctcag
1 ctggaggcaa ctacttcgtc tactcagtaa ggcctcaatt tccaaccag acccaggatc
61 tgaacagaac aaactgtcct agaaatcadc ctagatcta gaagatag actactfact
121 accagtactg gtttactgcc gaagcatcct cttttattgc ttccagtggt atgtctcca
181 tgetttacc cctaaatcat agagttatag ggtttggaag gcatatcca agatcactg
241 agtccaagt cccctgctaa tgcaggttct ctacagtagg ctgtacagga aactgtccag
301 gtggattttg agtacctcca cagaagactc aacagtctct ctgaccagtt tgttccaatg
361 ctctgtcacc ctaaagtaa agtctttct catgttcata tggaaactcc tgtgtcacag
421 ttttgccca ttgcccttg ttatgtcact tggcaccacc aaaaagatcc tgaccccat
481 ctcatccctt tagatatctg tgagcattga tgagatcca tcaatctcct ccagattgtg
541 tggccccagg tctctcagcc ttccctcata aaggagatgc tccaggcccc cagtcattt
601 tgtgtctcc cactagactc ttccagtag ttcccttggg ttcttaag tgagaggccc
661 agaactgggc acagtactcc agatattggc tcatcaggac agagtagaga gggagagtca
721 cctctcttg cctgtgatc acatccttt taatgcatc caagatacca ctggccctgt
781 tggccacaag ggctagtca cagtcaacct gttgtctacc aggacatca ggtcttca
841 gcagagctcc ttccagaag gtaagcccct aacctgtact aacacatgca gtaaaaaagg
901 tctaccttt tctatcttc atagaatcac agaactgtgg ggttgaagg aaccttaga
961 gatcatctag tctaaccacc ctgccaaagt gtcacagtaa gtaacacagg aaagtgtctg
1021 tttgattttg ttattattg ctcaaaaa cacaccata gttacgaaat aatggaggat
1081 tcaggattat acacatacct gttccacatg tacagaaca gttgtctaga ggcaagaaaa
1141 ttattaaca ctgtatacct tattcattat tgatcatcta atttagaagg tctttctgtg
1201 gataaatgca tctgagaaac agatgagaga ttacgattt gtaacatat tctgtcagat
1261 gaaactcaca caagaaaaca gggccaacct gctgaagcta ggtgcagatt accacagaca
1321 cattagatca ggaatcagat tccactgatt acgacagcat atactttgat tatgttggac
1381 atgcacatct ttacgcaaa gagtttcat atatagaaaa tgatttctgt gtttgggagt
1441 ttttaaaata atgctgattt aatcacaaaa tgtttatgat taaacagtaa gcatacaaat
1501 tcttctctt tgtgttaca aattaactc ttttaataa caactgtccc tgtttctcaa
1561 catattcat ccttaatacc atttatatca ttatctgtgg tatgtaatat cctttttagc
1621 tgtatggaga caaacacaca gaatgtcata tctgtaaac tacatataac aatggcctgt
1681 cttgcgagaa gctccattt acattctctg gatcaacttc agtgcaattc ctgtgtttc
1741 tcccatagta gaaatgtaa agtatitttc ctttctagaa atagctagaa ttttaattt
1801 ggtgggtgaa gagacaaggg aggaagagaa gacaccgca ggcagggaga ataacattt
1861 acaaacatag aggataacag tctcagaatt gacaactgga gttttcgagg atcagtggca
1921 ttgcaacta atcagggca aaattttggc gttcttaca tccagccata ctcagcatcc
1981 cacagctgaa attttaagt aaattccac tcaccgttaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
2041 aaaaaggtat tgaatgtaa tgtggaagag aggcaattg atattgtaa ttatcgaggt
2101 aaactccag acctgtgaa tgtatgcaa agtggacccc ggatggtgta tataaatctg
2161 acgtgcagaa agtaagagca

Gambar 3. Urutan nukleotida promotor prolaktin (PRLP)

KESIMPULAN

Sifat mengeram tidak hanya dipengaruhi oleh gen utama terpaut kelamin (*major gene sex-linked*), tetapi dipengaruhi pula oleh gen mayor autosomal yang diturunkan dari kedua tetuanya.

Reseptor prolaktin sebagai gen utama terpaut kelamin yang dianalisa berdasarkan mRNA PRLR (mRNA *prolactin receptor*) tidak dapat membedakan ukuran transkripsi antara ayam WL (*White Leghorn*) tidak mengeram dengan ayam Bantam mengeram.

Promotor prolaktin sebagai gen mayor-autosomal yang terletak pada kromosom 2 telah dapat membedakan genotipe sifat mengeram pada ayam

Kampung. Genotipe AA dan AC sebagai genotipe sifat mengeram dan genotipe BB sebagai genotipe sifat tidak mengeram.

SARAN

Dengan diketahui genotipe sifat mengeram secara molekuler dengan penanda promotor prolaktin, disarankan penelitian seleksi untuk mengurangi sifat mengeram pada ayam Kampung dilanjutkan dengan melakukan seleksi genotipe secara molekuler dengan memilih ayam-ayam yang mempunyai genotipe BB sebagai sifat tidak mengeram.

DAFTAR PUSTAKA

- A'HARA, S. and D.W. BURT. 2000. Single nucleotide polymorphism in the chicken genome. *In: First report on chicken genes and chromosomes 2000*. Cytogenet Cel. Gene. 90: 169–218.
- AU, W.L. and F.C. LEUNG. 2000. Genomic sequence of chicken prolactin gene. Department of Zoology, the University of Hongkong, Pokfulam Road, Hongkong, SAR, China. www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=Nucleotide&dopt=GenBank (15 Februari 2005).
- BLAKELY, J. dan D.H. BADE. 1991. Ilmu Peternakan. Edisi keempat. (Terjemahan). Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- BURT, D.W., J. SMITH, N. BUMSTEAD, M.A.M. GROENEN, R.P. M.A. CROOLMANS, I. NANDA, H.H. CHENG, S. MIZUNO, A. VIGNAL and F. PITEL. 2000. Comparative maps between chicken, mouse and human. *In: First report on chicken genes and chromosomes 2000*. Cytogenet Cel. Gene. 90: 169–218.
- CUI, J.X., H.L. DU, Y. LIANG and X.Q. ZHANG. 2004. Polymorphisms of chicken prolactin gene. Department of Animal Genetics, Breeding and Reproduction, College of Animal Science, South China Agricultural University, Wushan Street, Guangzhou, Guangdong, China. www.ncbi.nlm.nih.gov (15 Februari 2005).
- DHARA, S.K. and M. SOLLER. 1999. Intragenic haplotypes in chicken prolactin in four diversified breeds. Hebrew Univ. of Jerusalem, Israel. www.ncbi.nlm.nih.gov (15 Februari 2005).
- DUNN, I.C., G. MCEWAN, T. OHKUBO, P.J. SHARP, I.R. PATON and D.W. BURT. 1998. Genetic mapping of the chicken prolactin receptor gene: a candidate gene for the control of broodiness. *Br. Poult. Sci.* Dec 39; suppl. pp. S23–S24.
- HAYS, F.A. 1940. Inheritance of broodiness in Rhode Island Reds. Massachusetts Agricultural Experiment Station. *Tech. Bull.* 377 p.
- HUTT, E.B. 1949. *Genetics of the Fowl*. New York, McGraw-Hill.
- KANSAKU, N. 2000. Genetic variation of chicken prolactin promoter. Database 2000. www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/view.fcgi?db=nucleotide&dopt=GenBank&val (15 februari 2005).
- LEWIN, B. 1997. Transcription is catalyzed by RNA polymerase. *In: Genes VI*. Oxford University Press, Inc, New York. pp. 289–334.
- MARTOJO, H., P.H. HUTABARAT dan S.S. MANSJOER. 1990. Ilmu Pemuliaan Unggas. Diktat. PAU Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor. 213 hlm.
- MIAO, Y., D.W. BURT, I.R. PATON, P.J. SHARP and I.C. DUNN. 1999. Mapping of the prolactin gene to chicken chromosome 2. *Anim. Genet.* 30: 473.
- OHKUBO, T., M. T. ANAKA, K. NAKASHIMA, R.T. TALBOT and P.J. SHARP. 1998a. Prolactin receptor gene expression in the brain and peripheral tissue in broody and nonbroody breeds of domestic hen. *Gen. Com. Endocrinol.* 109(1): 60–68.
- OHKUBO, T., M. TANAKA and K. NAKASHIMA. 1998b. Cloning and characterization of chicken prolactin gene. Kagawa University, Department of Agriculture 2393 Ikenobe, Miki, Kita, Kagawa, Japan. www.ncbi.nlm.nih.gov (15 Februari 2005).
- PARKHURST, C.R. and G.J. MOUNTNEY. 1987. *Poultry Meat and Egg Production*. An AVI Book. Published by Van Nostrand Reinhold, New York, USA. 294 p.
- ROMANOV, M.N., R.T. TALBOT, P.W. WILSON and P.J. SHARP. 1999. Inheritance of broodiness in the domestic fowl. *Br. Poult. Sci.* 40. suppl. pp. S20–S21.
- ROMANOV, M.N., R.T. TALBOT, P.W. WILSON and P.J. SHARP. 2002. Genetic control of incubation behavior in the domestic hen. *Poult. Sci.* 81(7): 928–931.
- ROSLIN INSTITUTE. 2004. ARKdb-chicken Database Statistics. www.thearkdb.org (13 September 2004).
- SAEKI, Y. 1957. Inheritance of broodiness in Japanese Nagoya fowl, with special reference to sex linkage and notice in breeding practice. *Poult. Sci.* 36: 378–383.
- SAEKI, Y. and Y. INOUE. 1979. Body growth, egg production, broodiness, age at first egg and egg size in Red Jungle Fowls, and an attempt at their genetic analyses by the reciprocal crossing with White Leghorn. *Japanese Poult. Sci.* 16: 121–125.
- SARTIKA, T. 2005. Peningkatan Mutu Bibit Ayam Kampung Melalui Seleksi dan Pengkajian Penggunaan Penanda Genetik Promotor Prolaktin dalam GAS (Gene Assisted Selection). Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. 97 hlm.
- SASTRODIHARDJO, S., A.G. NATAAMIJAYA, R. DHARSANA, S. ISKANDAR, Y. SAEPUDIN dan Y. NURDIANI. 1996. Peranan hormon prolaktin ayam Kampung terhadap sifat lama istirahat produksi telur. Laporan Penelitian, Balai Penelitian Ternak. 13 hlm.
- SHARP, P.J. 1997. Neurobiology of the onset of incubation behaviour in birds. *In: Frontiers in Environmental and Metabolic Endocrinology*. MAITRA, S.K. (Ed.). The University of Burdwan, India. pp. 193–202.
- SHIMADA, K., H. ISHIDA, K. SATO, H. SEO and N. MATSUI. 1991. Expression of prolactin gene in incubating hens. *J. Reprod. Fertil.* 91(1): 147–154.
- TAKAHASHI, H. 2003. Design primer prolaktin promoter. Premier Biosoft International, www.PremierBiosoft.com (Dec 1, 2003).
- WATAHIKI, M., M. TANAKA, N. MASUDA, K. SUGISAKI, M. YAMAMOTO, M. YAMAKAWA, J. NAGAI and K. NAKASHIMA. 1989. Primary structure of chicken pituitary prolactin deduced from the cDNA sequence. Conserved and specific amino acid residues in the domains of the prolactins. *J. Biol. Chem.* 264(10): 5535–5539.