

Eksplorasi Genetik dari Lokus GH|MspI Ekson 3 dan GHRH|HaeIII Intron 2 pada Kerbau Rawa di Stasiun Bibit dan Peternak Rakyat

(Genetic Exploration of GH|MspI Exon 3 and GHRH|HaeIII Intron 2 Loci of Local Swamp Buffalo at a Breeding Station and Small Farmers)

Anggraeni A¹, Thalib C¹, Novitasari WT²

¹Balai Penelitian Ternak, Ciawi, Bogor

²Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor
ria.anneke@yahoo.co.id

ABSTRACT

The improvement on livestock productivity can be conducted by molecular selection using genes controlling growth traits. Study of genetic polymorphism of the growth family genes providing GH, GHRH, Pit-1 genes were done in local swamp buffaloes from BPTU Siborong-borong (ST) 68 females from Tapanuli Utara District in South Sumatra Province and from smallholder (SFs) (37 females, 4 males) from Pandeglang District in Banten Province. Genetic variants of the GH|MspI exon 3 and GHRH|HaeIII intron 2 loci were genotyped by Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) method. Data were analyzed for allele frequency and genotype frequency, Hardy-Weinberg equilibrium, heterozygosity value, and PIC (polymorphism of information content) value. Genotyping results of both the GH|MspI exon 3 and GHRH|HaeIII intron 2 loci of swamp buffalo from ST produced only B allele (100%), whereas those from SFs had only A allele (100%). Hardy-Weinberg equilibrium (q^2) could not be analyzed for the two loci. Heterozygosity observation (H_o) and expectation (H_e) values and the PIC value for the respective locus were 0.00. It was concluded that the GH|MspI exon 3 and GHRH|HaeIII intron 2 loci of the observed local swamp buffaloes were monomorphic.

Key words: Growth gene family, PCR-RFLP, swamp buffalo

ABSTRAK

Perbaikan produktivitas ternak dapat dilakukan melalui seleksi secara molekular pada gen-gen pengontrol sifat pertumbuhan. Keragaman genetik dari famili gen pertumbuhan, yaitu gen GH dan GHRH dipelajari pada kerbau rawa dari stasiun pembibitan BPTU Siborong-borong (ST) (68 betina) di kabupaten Tapanuli Utara, Provinsi Sumatra Utara dan peternak rakyat (PR) (37 betina, 4 jantan) di kabupaten Pandeglang, Provinsi Banten. Varian genetik dari lokus GH|MspI ekson 3 dan GHRH|HaeIII intron 2 *digenotyping* dengan metode *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP). Data dianalisis terhadap frekuensi alel dan genotipe, keseimbangan Hardy-Weinberg, nilai heterozigositas, dan nilai PIC. Hasil

genotyping dari lokus GH|MspI ekson 3 dan GHRH|HaeIII intron 2 menghasilkan hanya alel B (100%) pada kerbau rawa dari ST, sebaliknya pada PR hanya alel A (100%). Keseimbangan Hardy-Weinberg tidak dapat dianalisis untuk kedua lokus. Nilai heterozigositas pengamatan (H_o) dan harapan (H_e) serta nilai PIC untuk setiap lokus adalah sebesar 0,00. Disimpulkan bahwa lokus GH MspI ekson 3 dan GHRH HaeIII intron 2 pada kerbau rawa lokal pengamatan bersifat monomorfik.

Kata kunci: Famili gen pertumbuhan, PCR-RFLP, kerbau rawa

PENDAHULUAN

Pemanfaatan marka genetik dalam teknologi genetika molekuler telah digunakan secara luas sebagai salah satu dasar program seleksi. Hal ini, dikarenakan marka molekuler memiliki tingkat polimorfisme tinggi, memberi gambaran populasi genetik, serta mampu mengidentifikasi gen-gen pengontrol sifat-sifat penting. Kerbau rawa lokal potensial untuk dikembangkan sebagai ternak penghasil daging karena menghasilkan bobot karkas yang tinggi dan mudah beradaptasi pada keterbatasan lingkungan dan keberadaannya yang dekat dengan kehidupan masyarakat pedesaan (Anggraeni et al. 2011). Usaha pengembangan kerbau rawa lokal oleh karenanya dapat dijadikan suatu alternatif dalam mendukung program penyediaan daging masyarakat. Perbaikan sifat kuantitatif kerbau lokal dapat dilakukan antara lain melalui seleksi terhadap famili gen hormon pertumbuhan, yaitu *growth hormone* (GH) dan *growth hormone releasing hormone* (GHRH).

Growth Hormone (GH) memiliki peranan yang cukup besar terhadap aktivitas fisiologis, meliputi regulasi pertumbuhan, perkembangan kelenjar mamari, laktasi, glukoneogenesis, aktivasi lipolisis, dan meningkatkan inkorporasi asam amino ke dalam protein otot. *Growth Hormone* (GH) diperlukan dalam pertumbuhan jaringan dan metabolisme lemak, sehingga berperan penting dalam reproduksi, laktasi, dan pertumbuhan tubuh normal (Beauchemin et al. 2006; Curi et al. 2006; Yardibi et al. 2009;). *Bovine Growth Hormone* (bGH) merupakan hormon yang tersusun atas 22 KDa polipeptida rantai tunggal yang diproduksi oleh kelenjar pituitari (Othman et al. 2012). *Gen bovine Growth Hormone* (bGH) terletak pada kromosom 19, tersusun atas 5 ekson dan 4 intron (Fries et al. 1993). Gen GH dianggap sebagai gen kandidat gen untuk sifat produksi, seperti sifat produksi susu dan sifat karkas (Rong-qing et al. 2012).

Growth hormone releasing hormone (GHRH) merupakan hormon hipotalamus yang menstimulasi sekresi hormon pertumbuhan dalam kelenjar pituitari (Kmieć et al. 2007; Primasari et al. 2009). *Bovine GHRH* tertaut pada CSSM30 pada kromosom 13 (Barendse et al. 1994), terdiri atas lima ekson dan empat intron (Zhou et al. 2000). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman genetik dari gen GH dan GHRH pada lokus GH|MspI ekson 3 dan GHRH|HaeIII intron 2 menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-

RFLP) pada kerbau rawa lokal yang dipelihara di stasiun pembibitan di kabupaten Tapanuli Utara di Provinsi Sumut dan dari peternak rakyat di kabupaten Pandeglang di Provinsi Banten.

MATERI DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian lapangan ini dilakukan pada tahun 2013-2014. Penelitian lapangan berupa pengambilan sampel darah dari kerbau rawa lokal yang diambil dari stasiun pembibitan kerbau di BPTU HPT Siborong-borong di Kabupaten Tapanuli Utara, Provinsi Sumut dan dari sejumlah peternak rakyat di Kabupaten Pandeglang, Provinsi Banten. Penelitian molekular dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler Ternak, Bagian Pemuliaan dan Genetika Ternak, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

Materi

Kerbau rawa lokal yang dipakai sebagai sampel penelitian berjumlah 109 ekor, yang meliputi 68 betina dari BPTU Siborong-borong serta 37 betina dan 4 jantan dari peternak rakyat di Kabupaten Pandeglang.

Metode

Metode yang dipakai untuk mempelajari polimorfisme genetik dari gen GH dan GHRH mengikuti prosedur standar yang dimodifikasi. Tahapan kerja meliputi ekstraksi DNA, isolasi DNA, dan amplifikasi gen, elektroforesis, dan restriksi fragmen basa dari produk PCR.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA menggunakan bahan-bahan meliputi sampel darah, DW, 1xSTE, 10% SDS, Proteinase-K (5 mg/ml), NaCl 5 M, phenol, CIAA, EtOH 70%, buffer TE 80%. Bahan-bahan untuk proses PCR meliputi primer *forward*, primer *reverse*, dNTPs, MgCl₂, 10xBuffer, dan *Taq polymerase*, *destilated water*. Primer yang digunakan untuk amplifikasi gen GH pada lokus GH|MspI ekson 3 mengacu pada Mitra et al. (1995) dengan runutan primer *forward* F: 5'-CCC ACG GGC AAG AAT GAG GC-3' dan primer *reverse* R: 5'-TGA GGA ACT GCA GGG GCC CA-3'. Gen GHRH pada lokus GHRH|HaeIII intron 2 diamplifikasi dengan primer berdasarkan Moody et al. (1995) dengan runutan primer *forward* F: 5'-TGA AGG ATG CTG CTC TGG GT-3' dan primer *reverse* R: 5'-TGC CTG TTC ATG ATA TCC TGG A-3'.

Proses elektroforesis menggunakan gel agarose 1,5%, 0,5xTBE, *Ethidium Bromide*, *loading dye*, dan *marker* 100 pb. Bahan-bahan untuk RFLP meliputi enzim restriksi *MspI* dan *HaeIII*, *buffer*, dan *destilated water*.

Isolasi DNA

DNA diisolasi dengan metode *phenol chloroform* mengacu pada Sambrook et al. (1989). Sampel darah sebanyak 200 µl ditambah dengan 1000 µl NaCl 0,2%, disentrifuse pada 8000 rpm selama lima menit. Untuk melisiskan sel, degradasi protein, dan bahan organik dilakukan penambahan 1xSTE hingga 350 µl, 40 µl 10% SDS, dan Prot-K (10 mg/ml) serta dikocok (*tilting*) dalam inkubator dengan suhu 55°C selama dua jam. Pemurnian sel dilakukan dengan menambahkan 40 µl 5 M NaCl, 400 µl *phenol*, dan 400 µl CIAA (*Chloroform: Isoamyl alcohol* = 24:1) kemudian dikocok pada suhu ruang selama satu jam. DNA dipisahkan dari fase *phenol* dengan sentrifugasi pada 12000 rpm selama lima menit. Supernatan dipindah ke tabung 1,5 ml baru, ditambahkan 800 µl EtOH 70% dan disentrifugasi pada 12000 rpm selama lima menit. DNA yang berupa benang putih dilarutkan dengan 100 µl TE 80% dan DNA disimpan dalam *freezer* siap untuk digunakan.

Amplifikasi gen GH dan GHRH

Amplifikasi dilakukan pada 25 µl volume yang mengandung 0,3 µl primer 25 pmol, 0,3 µl dNTPs 10 mM, 2 µl MgCl₂ 25 mM, 3 µl 5xbuffer, 0,1 µl enzim *taq polymerase* 5 unit/µl, dan sisanya air. Proses amplifikasi dilakukan pada mesin *thermal cycler* dengan kondisi denaturasi awal (95°C; 5 menit), 35 siklus yang terdiri dari denaturasi (95°C per 10 detik), *annealing* (60°C per 20 detik), ekstensi (72°C per 30 detik), dan ekstensi akhir (72°C per 5 menit).

Elektroforesis

Elektroforesis diawali dengan pembuatan gel agarose 1,5%. Gel agarose dibuat dengan melarutkan agarose (0,45 g untuk cetakan besar atau 0,3 g untuk cetakan kecil) dengan 0,5xTBE (30 ml dan 20 ml untuk masing-masing cetakan). Larutan agarose dipanaskan dalam *microwave* (suhu *medium high* selama ± 5 menit). Larutan agarose diaduk dengan *magnetic stirrer* dan ditambahkan *Ethidium Bromide* (2,5 µl dan 2 µl untuk setiap cetakan), selanjutnya larutan didiamkan sampai menjadi gel.

Elektroforesis menggunakan 5 µl sampel hasil PCR yang dicampur dengan 1 µl *loading dye*, sehingga diperoleh warna campuran biru dan sampel dimasukkan ke dalam sumur, 2 µl *marker* 100 pb dimasukkan ke dalam sumur, sebagai alat dalam penentuan panjang fragmen DNA. Elektroforesis dilakukan pada *power supply* 100 volt selama ± 35 menit dan hasilnya divisualisasikan dengan *uv transilluminator*.

Restriction fragments length polymorphism (RFLP)

Sampel hasil PCR sebanyak 5 µl dimasukkan ke dalam tabung 0,5 ml menggunakan mikropipet. Sebanyak 2 µl RE *mix* (0,7 µl buffer; 0,3 µl enzim restriksi; 1 µl *destilated water*) ditambahkan ke dalam sampel. Sampel disentrifuse dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 16 jam. Sampel hasil PCR-RFLP dielektroforesis pada gel agarose 2% pada tegangan 100 volt. Hasil elektroforesis divisualisasi dengan *uv transilluminator*. *Genotyping* lokus GH|MspI ekson 3 dan GHRH|HaeIII intron 2 dilakukan dengan menarik lurus fragmen pita DNA sampel ke arah *marker*, selanjutnya dibandingkan terhadap *marker* untuk mengetahui panjang fragmen.

Analisis data

Data hasil *genotyping* berupa produk fragmen basa hasil PCR-RFLP dari kedua gen GH dan GHRH dihitung mengenai frekuensi genotipe, frekuensi alel, dan nilai PIC. Hasil analisis kemudian dibandingkan antara kedua lokasi dari sumber kerbau rawa pengamatan.

- Frekuensi genotipe merupakan rasio dari jumlah suatu genotipe terhadap jumlah populasi yang diamati yang ditentukan berdasarkan fragmen pita-pita yang ditemukan.
- Frekuensi genotipe dan alel dihitung menggunakan rumus Nei & Kumar (2000).
- Keseimbangan Hardy-Weinberg diuji menggunakan perhitungan Chi-kuadrat (χ^2) menurut Hartl & Clark (1997).
- Derajat polimorfisme dapat diukur dengan menghitung nilai PIC (Buchanan & Thue 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

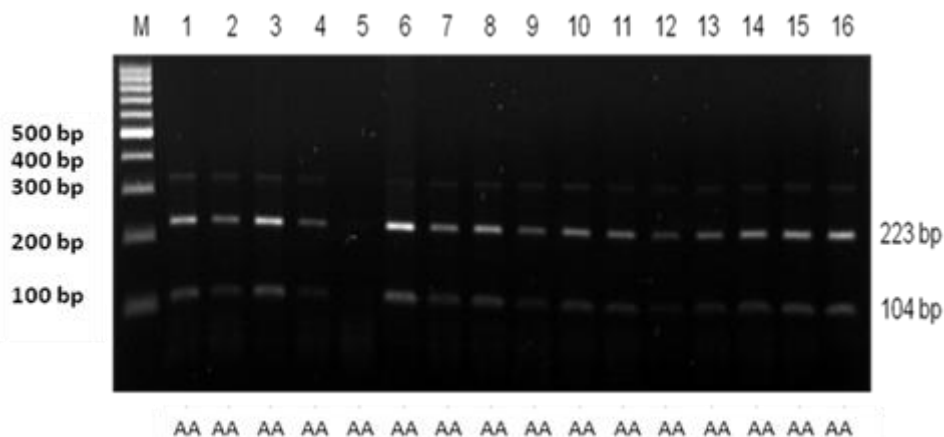
Amplifikasi gen GH dan GHRH

Panjang produk amplifikasi dari fragmen basa dari gen GH dan GHRH masing-masing sebesar 327 pb dan 451 pb. Amplikon dari potongan basa dari gen GH tersebut terdiri atas 33 pb pada ekson 3 dan 294 pb pada intron 3 (GenBank M57764.1), sedangkan untuk gen GHRH terdiri atas 86 pb pada ekson 2, 266 pb pada intron 2, dan 99 pb pada ekson 3 (GenBank AF242855). Produk amplifikasi dari gen GH dan GHRH sesuai dengan penelitian Sumantri et al. (2010) yang memperoleh panjang produk amplifikasi masing-masing sebesar 327 pb dan 451 pb.

Lokus GH|MspI

Genotyping gen GH lokus GH|MspI menghasilkan hanya satu alel pada masing-masing lokasi, yaitu alel A untuk kerbau rawa dari peternak rakyat dari

Pandeglang, Banten dan alel B untuk lokasi stasiun bibit dari BPTU Siborong-borong, di Tapanuli Utara, Sumut. Genotipe AA ditandai dengan dihasilkannya dua fragmen, yaitu 223 pb dan 104 pb, sementara genotipe BB hanya ditemui satu fragmen yang panjangnya sama dengan produk PCR, yaitu 327 pb. Hasil pemotongan fragmen basa dari sekuen gen GH|MspI dari hasil PCR-RFLP ditampilkan pada Gambar 1. Panjang fragmen yang berbeda dengan produk hasil PCR disebabkan adanya situs pemotongan yang dikenali oleh enzim restriksi endonuklease MspI, yaitu C*CGG.



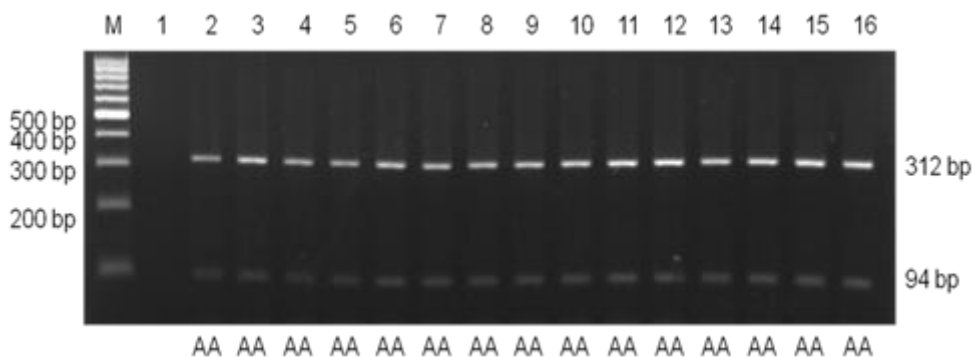
Gambar 1. Hasil PCR-RFLP dari fragmen gen GH|MspI pada gel agarose 2%. M (marker): 1-16 (sampel). Genotipe AA (223 bp, 104 bp)

Polimorfisme yang terjadi pada nukleotida ke-1547 pada intron 3 tersebut disebabkan oleh adanya perubahan basa Timin (T) menjadi Sitosin (C), sehingga disebut sebagai mutasi transisi (Yao et al. 1996). Genotipe BB merupakan genotipe yang terjadi karena adanya mutasi pada situs pemotong MspI (C*CGG). Kerbau rawa pengamatan di lokasi BPTU Siborong-borong dengan demikian umumnya mengalami mutasi gen hormon pertumbuhan pada nukleotida ke-1547 di situs pemotong enzim MspI. Sementara kerbau pengamatan di lokasi Pandeglang, Banten hanya menampilkan genotipe AA, tanpa adanya individu bergenotipe BB. Ini mengindikasikan bahwa pada lokasi tersebut tidak ada kerbau pengamatan yang mengalami mutasi pada situs restriksi MspI (C*CGG) di lokasi kedua.

Lokus GHRH|HaeIII

Hasil *genotyping* gen GHRH lokus GHRH|HaeIII intron 2 menunjukkan bahwa semua kerbau pengamatan dari peternak rakyat di Kabupaten Pandeglang hanya bergenotipe AA, sebaliknya semua kerbau tersebut bergenotipe BB pada lokasi Siborong-borong. Visualisasi hasil PCR-RFLP gen GHRH|HaeIII ditampilkan pada Gambar 2. Mutasi terjadi pada intron 2, yaitu pada basa ke-312. Untuk genotipe AA ditemui dua situs pemotongan oleh enzim HaeIII (GG*CC), yaitu pada nukleotida

4666*4667 (intron 2) dan 4760*4761 (ekson 3), sehingga diperoleh tiga fragmen, yaitu 312 pb, 94 pb, dan 45 pb. Sementara pada genotipe BB ditemui tiga situs pemotongan, yaitu 4472*4473 (intron 2), 4666*4667 (intron 2), dan 4760*4761 (ekson 3), sehingga menghasilkan empat fragmen, yaitu 194 pb, 118 pb, 94 pb, dan 45 pb. Panjang fragmen 45 pb tidak terlihat (Gambar 2) disebabkan terjadinya *running off* pada saat elektroforesis.



Gambar 2. Hasil PCR-RFLP dari fragmen gen GHRH|HaeIII pada gel agarose 2%. M (marker): 1-16 (sampel). Genotipe AA (312 pb, 94 pb, dan 45 pb)

Frekuensi alel dan genotipe

Hasil perhitungan frekuensi alel dan genotipe dari lokus GH|MspI ekson 3 dan GHRH|HaeIII intron 2 pada kerbau rawa pengamatan di masing-masing lokasi ditampilkan pada Tabel 1. Gen GH dari lokus GH|MspI ekson 3 bersifat monomorfik pada kedua lokasi, yaitu dengan frekuensi alel A sebesar 1,00 (100%) di lokasi peternak rakyat di Pandeglang, Banten dan frekuensi alel B sebesar 1,00 (100%) pada lokasi BPTU Siborong-borong (Tabel 1). Suatu alel dikatakan polimorfik apabila frekuensi alel nilainya kurang atau sama dengan 0,99 (Nei 1987). Pada lokasi peternak rakyat di Pandeglang, Banten menunjukkan seluruh individu kerbau bergenotipe AA, sebaliknya seluruh kerbau pada lokasi BPTU Siborong-borong memiliki genotipe BB. Namun demikian, secara keseluruhan dari 109 ekor kerbau pengamatan diperoleh frekuensi alel A lebih rendah terhadap alel B, yaitu 0,38 *vs* 0,62.

Pengamatan terhadap gen GH lokus GH|MspI ekson 3 oleh Sumantri et al. (2010) melaporkan hasil hampir serupa. Dilaporkan bahwa hasil pengamatan pada kerbau rawa yang berasal dari 11 kecamatan di kabupaten Pandeglang dan 2 kecamatan di kabupaten Lebak menunjukkan lokus GH|MspI ekson 3 sebagian besar (ada 9 kecamatan) juga bersifat monomorfik, yang hanya memiliki genotipe AA (100%), sehingga diperoleh frekuensi alel A sebesar 1,00. Sisanya (pada 2 kecamatan lain) juga memiliki frekuensi alel A yang tinggi, yaitu 0,97 (97%) dan 0,89 (89%). Alel A atau (+) pada gen GH diasosikan dengan peningkatan jumlah susu, protein, dan lemak, namun menurunkan persentase lemak dan protein (Zhou et al.

2005). Sementara itu, sapi Holstein di Beijing memiliki frekuensi alel A atau (+) dengan kisaran 0,80-0,92.

Tabel 1. Frekuensi genotipe dan alel dari lokus GH|MspI ekson 3 dan lokus GHRH|HaeIII intron 2 pada kerbau rawa lokal berdasarkan lokasi

Lokus	Lokasi	Genotipe			Frek. Genotipe			Frek. Alel	
		AA	AB	BB	AA	AB	BB	A	B
GH MspI	Pandeglang (41)	41	0	0	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00
	Siborong-borong (68)	0	0	68	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00
	Total (109)	41	0	68	0,38	0,00	0,62	0,38	0,62
GHRH HaeIII	Pandeglang (41)	41	0	0	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00
	Siborong-borong (68)	0	0	68	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00
	Total (109)	41	0	68	0,32	0,00	0,68	0,38	0,62

Angka dalam kurung adalah jumlah sampel

Gen GHRH lokus GHRH|HaeIII intron 2 bersifat monomorfik, dengan frekuensi alel A sebesar 1,00 dari peternak rakyat di Pandeglang, Banten dan frekuensi alel B sebesar 1,00 di lokasi stasiun pembibitan dari Siborong-borong di Tapanuli Utara di Sumut (Tabel 1). Secara keseluruhan kerbau pengamatan pada kedua lokasi diperoleh frekuensi alel A sebesar 0,38 dan alel B sebesar 0,68. Penelitian lain mengenai lokus GHRH|HaeIII intron 2 oleh Sumantri et al. (2010) memperoleh 9 kecamatan di kabupaten Pandeglang dan satu kecamatan di kabupaten Lebak lokus ini bersifat monomorfik dengan frekuensi alel A = 1,00 (100%). Lokus GHRH|HaeIII yang diteliti pada empat lokasi (Semarang, Mataram, Siborong-borong, dan Banten) diperoleh bahwa pada keseluruhan lokasi bersifat polimorfik dengan total frekuensi alel (A = 0,180; B = 0,820) dan tidak ditemukannya genotipe AA (Primasari et al. 2009). Hal tersebut cukup berbeda dengan kerbau pengamatan pada lokasi peternak rakyat dari Pandeglang, Banten yang bersifat monomorfik (A = 100%). Hasil tersebut mengindikasikan adanya kecenderungan terjadinya mutasi mengarah ke alel A pada kerbau di Pandeglang, Banten. Hasil studi ini sama dengan pengamatan Konca & Akyüz (2017) dari lokus GHRH|HaeIII pada kerbau sungai Anatolia di Turki yang hanya memiliki genotipe AA dan alel A (A = 100 %).

Keseimbangan Hardy-Weinberg

Hasil perhitungan Hardy-Weinberg pada keseluruhan gen di masing-masing lokasi menunjukkan hasil χ^2 hit yang tidak dapat dianalisis karena genotipe dari kedua lokus GH|MspI ekson 3 dan GHRH|HaeIII intron 2 bersifat monomorfik. Hal ini terjadi karena jumlah genotipe dari kerbau rawa pengamatan di kedua

lokasi tidak memenuhi asumsi untuk dianalisis keseimbangan Hardy-Weinberg. Derajat bebas χ^2 merupakan hasil pengurangan antara jumlah genotipe dengan jumlah alel (Allendorf & Luikart 2007). Sementara jumlah genotipe yang dimiliki kerbau rawa pengamatan hanya dua, sehingga menghasilkan derajat bebas 0. Suatu populasi dikatakan berada dalam keseimbangan apabila frekuensi genotipe dan frekuensi alel selalu konstan dari generasi ke generasi. Keseimbangan tercapai apabila dalam populasi tersebut tidak terjadi seleksi, mutasi, migrasi, dan *genetic drift* (Falconer & Mackay 1996).

Nilai heterozigositas dan derajat polimorfisme (PIC)

Derajat polimorfisme suatu gen dapat diketahui dengan menghitung nilai PIC. Nilai heterozigositas observasi (H_o), heterozigositas ekspektasi (H_e), dan PIC dari lokus GH|MspI ekson 3 dan GHRH|HaeIII intron 2 semuanya menghasilkan nilai sebesar 0,00. Hasil ini mempertegas bahwa tidak terdapat keragaman genetik pada gen GH lokus GH|MspI ekson 3 dan gen GHRH lokus GHRH|HaeIII intron 2 pada kerbau rawa yang diamati. Hasil studi ini didukung oleh hasil laporan Sumantri et al. (2010) yang memperoleh nilai PIC sebesar 0,00 untuk kedua lokus di 11 kecamatan dari 13 kecamatan yang diamati di Kabupaten Pandeglang dan Lebak. Hildebrand et al. (1992) menyatakan apabila suatu gen hanya memiliki dua alel maka akan dihasilkan nilai PIC maksimum sebesar 0,375. Nilai PIC sama dengan nol dinyatakan pula hanya apabila ditemukan satu alel pada marker genetik, sedangkan diperoleh nilai PIC sama dengan satu ($PIC = 1$) apabila terdapat jumlah alel yang tak terhingga.

KESIMPULAN

Gen GH pada lokus GH|MspI ekson 3 dan gen GHRH pada lokus GHRH|HaeIII intron 2 pada kerbau rawa di BPTU Siborong-borong dan dari peternak rakyat di Pandeglang bersifat monomorfik. Lokus GH|MspI ekson 3 dan lokus GHRH|HaeIII intron 2 dari kerbau rawa di lokasi pertama hanya memiliki alel B (genotipe BB), sebaliknya kerbau rawa di lokasi kedua hanya memiliki alel A (genotipe AA), Monomorfisme kedua lokus ditunjukkan pula oleh dengan nilai heterozigositas pengamatan dan nilai PIC yang bernilai 0,00.

DAFTAR PUSTAKA

- Allendorf FW, Luikart G. 2007. Conservation and the genetics of populations. Hoboken (USA): Blackwell Publishing.
- Anggraeni A, Sumantri C, Praharani L, Dudi, Andreas E. 2011. Estimasi jarak genetik kerbau rawa lokal melalui pendekatan analisis morfologi. JITV. 16:199-210.

- Barendse W, Armitage SM, Kosarek LM, Shalom A, Kirkpatrick BW, Ryan AM, Claytoni DLL, Neiberghs HL, Zhang N, Grosse WM, Weiss J, Creighton P, Miccarthy F, Ron M, Teale AJ, Fries R, McGraw RA, Moore SS, Georges M, Soller M, Womack JE, Hetzel DJ. 1994. A genetic linkage map of the bovine genome. *Nat Genet.* 6:227-235.
- Beauchemin VR, Thomas MG, Franke DE, Silver GA. 2006. Evaluation of DNA polymorphisms involving growth hormone relative to growth and carcass characteristics in Brahman steers. *Genet Mol Res.* 5:438-447.
- Buchanan FC, Thue TD. 1998. Interbreed polymorphic information content of microsatellites in cattle and sheep. *Can J Anim Sci.* 78:425-428.
- Burton JL, McBride BW, Block E, Glim DR, Kennely JJ. 1994. A review of bovine growth hormone. *Can J Anim Sci.* 74:167-201.
- Curi RA, Palmieri DA, Suguisawa L, de Oliveira HN, Silveira AC, Lopes CR. 2006. Growth and carcass traits associated with GH1/Alu 1 and POU1F1/Hinf1 gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle. *Genet Mol Biol.* 29:56-61.
- Falconer DS, Mackay TFC. 1996. Introduction to quantitative genetic. 4th ed. Essex, England (ENG): Longman Group Ltd.
- Fries R, Eggen A, Womack JE. 1993. The bovine genome map. *Mamm Genome.* 4:405-428.
- Hartl DL, Clark AG. 1997. Principle of population genetic. Massachusetts (US) Sinauer Associates, Inc.
- Hildebrand CE, Torney DC, Wagner RP. 1992. Informativeness of polymorphic DNA markers. *Los Alamos Sci.* 20:100-102.
- Mitra A, Schele P, Balakrisnan CR, Pirchner F. 1995. Polymorphisms at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo. *J Anim Breed Genet.* 112:71-74.
- Montaldo HH, Herrera CAR. 1998. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. *EJB Unversidad Catolica de Valparaso-Chili.*
- Moody DE, Pomp D, Barendse W. 1995. Restriction fragment lenght polymorphisms in amplification product in the bovine growth hormone releasing hormone gene. *J Anim Sci.* 73:3789-3793.
- Nei M. 1987. Molecular evolutionary genetics. New York (USA): Columbia University Press.
- Nei M, Kumar S. 2000. Molecular, evolution and phylogenetics. New York (USA): Oxford University Press.
- Othman OE, Abdel-Samad MF, El Maat NAA, Sewify KM. 2012. Evaluation of DNA polymorphism in Egyptian buffalo growth hormone and its receptor genes. *J App Biol Sci.* 6:37-42.
- Primasari AC, Sumantri C, Farajallah A. 2009. Identification of growth hormone releasing hormone gene in local buffalo buffalo (*Bubalus bubalis*) using PCR_RFLP. Abstrak book. The 1st International Seminar on Animal Industry. 23–24 November 2009. p. 180–186.

- Rong-qing G, Lan-ping W, Hong C. 2012. Identification and characterization of variants in the 5' flanking region of bovine growth hormone gene. *Afr J Biotechnol.* 11:7318-7322.
- Sambrook J, Fritsch F, Maniatis T. 1989. *Molecular cloning laboratory manual*. 3rd ed. New York (USA): Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sumantri C, Diyono R, Farajallah A, Anggraeni A, Andreas E. 2010. Pemanfaatan famili gen hormon pertumbuhan (GH, GHR, GHRH dan PIT-1) untuk mendeteksi keragaman genetik kerbau di kabupaten Pandeglang dan Lebak provinsi Banten. *JITV.* 15:286-296.
- Yao J, Aggrey SE, Zadworny D, Hayes JF, Kühnlein U. 1996. Sequence variations in the bovine growth hormone gene characterized by single strand conformation polymorphism (SSCP) analysis and their association with milk production traits in Holsteins. *Genetics.* 144:1809-1816.
- Yardibi H, Hosturk GT, Paya I, Kaygisiz F, Ciftioglu G, Mengi A, Oztabak K. 2009. Associations of growth hormone gene polymorphisms with milk production traits in South Anatolian and East Anatolian red cattle. *J Anim Vet Adv.* 8:1040-1044.
- Zhou GL, Jin HG, Liu IC, Guo SL, Zhu QI, Wu YH. 2005. Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows. *J Biosci.* 30:595-598.
- Zhou P, Kazmer GW, Yang X. 2000. *Bos taurus* growth hormone releasing hormone gene, complete cds. GenBank. AF 242855.