

**PROFIL EKSPRESI GEN PENGONTROL SIFAT PRODUKTIVITAS  
DAN EFISIENSI PAKAN PADA AYAM KALOSI JANTAN**

**ANDI TENRI BAU ASTUTI MAHMUD**

**I013181003**



**PROGRAM STUDI ILMU PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**PROFIL EKSPRESI GEN PENGONTROL SIFAT PRODUKTIVITAS  
DAN EFISIENSI PAKAN PADA AYAM KALOSI JANTAN**

**DISERTASI**

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar doktor

Program Studi Ilmu Peternakan

Disusun dan diajukan oleh

**ANDI TENRI BAU ASTUTI MAHMUD  
I013181003**

Kepada

**PROGRAM STUDI ILMU PETERNAKAN  
FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**DISERTASI**

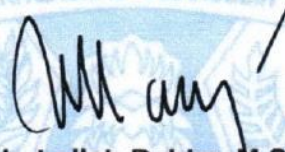
**PROFIL EKSPRESI GEN PENGONTROL SIFAT PRODUKTIVITAS  
DAN EFISIENSI PAKAN PADA AYAM KALOSI JANTAN**

**ANDI TENRI BAU ASTUTI MAHMUD  
I013181003**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Doktor Program Studi Ilmu Peternakan Fakultas  
Peternakan Universitas Hasanuddin  
Pada Tanggal 12 Januari 2023

Dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

**Menyetujui  
Promotor**



**Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc., IPU**  
**NIP. 196305011988031004**

**Ko-promotor**



**Dr. Muh. Ihsan A. Dagong, S.Pt., M.Si.**  
**Nip. 197705262002121003**

**Ko-promotor**



**Prof. Rr. Sri Rachma A. B. M. Sc., Ph.D**  
**Nip. 196804251994032002**

**Ketua Program Studi**



**Prof. Dr. drh. Ratmawati Malaka, M.Sc.**  
**Nip. 196407121989112002**

**Dekan Fakultas Peternakan**



**Dr. Syahda Baba, S.Pt., M.Si**  
**Nip. 197312172003121001**

## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, disertasi berjudul “**Profil Ekspresi Gen Pengontrol Sifat Produktivitas dan Efisiensi Pakan pada Ayam Kalosi Jantan**” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc., IPU sebagai promotor. Dr. Muh. Ihsan A. Dagong, S.Pt., M.Si sebagai ko-promotor dan Prof. Rr. Sri Rachma Aprilita Bugiwati, M.Sc., Ph.D sebagai ko-promotor. Karya ilmiah ini belum diajukan dalam bentuk apapun kepada Perguruan Tinggi manapun dan bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diberikan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka disertasi ini. Sebagian dari isi disertasi ini telah dipublikasikan pada The 4<sup>th</sup> *International Conference of Animal Science and Technology* (ICAST4) dengan judul tulisan “Physical Meat Characteristic of Kalosi Kampung Chicken Selected Based on RFI Phenotype” dan pada jurnal *Advances in Animal and Veterinary Sciences* dengan judul “Growth Traits and Carcass Characteristics of Kalosi Chicken Selected Based on Residual Feed Intake (RFI) Phenotype”.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa disertasi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 14 Desember 2022



Andi Tenri Bau Astuti Mahmud  
Nim. I013181003

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian sampai penyusunan tulisan disertai dengan judul ***“Profil Ekspresi Gen Pengontrol Sifat Produktivitas dan Efisiensi Pakan pada Ayam Kalosi Jantan”***.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin, Dr. Syahdar Baba, S.Pt., M.Si, selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin dan Prof. Dr. drh. Ratmawati Malaka, M.Sc selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Peternakan yang telah memberikan dukungan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Universitas Hasanuddin.
2. Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc., IPU., ASEAN Eng selaku Promotor, Dr. Muhammad Ihsan A. Dagong, S.Pt., M.Si dan Prof. Rr. Sri Rachma Aprilita Bugiwati, M.Sc., Ph.D selaku Ko-promotor yang telah membimbing, memberikan pengarahan dan dorongan semangat yang sangat berarti hingga penyusunan tulisan ini selesai.
3. Prof. Dr. agr. Asep Gunawan, S.Pt., M.Sc selaku penguji eksternal pada ujian sidang promosi doktor yang telah membimbing, memberikan pengarahan, saran dan masukan demi kelancaran penulisan disertasi.
4. Prof. Dr. Ir. Asmuddin Natsir, M.Sc, Dr. Ir. Wempie Pakiding, M.Sc, Dr. Hikmah Ali, S.Pt., M.Si., IPU dan Dr. Ir. Sri Purwanti, S.Pt., M.Si., IPM., ASEAN Eng selaku tim penguji internal yang telah memberikan saran dan masukan demi kelancaran penulisan disertasi.
5. Ayahanda H. Ir. Andi Mahmud T, MMA dan ibunda Hj. Dra. Jumiaty A. Mahmud dan adik – adik tercinta Dr. Andi Fitri Rahmadhany M, S.IP., M.Tr.IP dan Andi Masyta Putri, S.Ked beserta keluarga atas segala doa dan dukungan, kebersamaan, cinta dan kasih sayang yang telah diberikan.
6. Ketua Yayasan KH. Syibli Sahabuddin, M.Ag dan ibunda Rektor Dr. H. Chuduriah Sahabuddin, M.Si beserta jajaran Universitas Al Asyariah Mandar yang memberikan izin, dukungan dan motivasi selama ini.

7. Bapak/Ibu Dosen dan Staf Fakultas Peternakan UNHAS atas bantuan dan ilmu yang telah diberikan selama penulis menjadi mahasiswa pascasarjana.
8. Kepada Saudara Dr. Andy, S.Pt., M.Si dan Dr. Bogarth Kalikitnggamu Watuwaya, S.Pt., M.Sc teman seperjuangan pada Program Doktor Ilmu Peternakan UNHAS Angkatan 2018, terima kasih atas bantuan, motivasi, persaudaraan, kebersamaannya selama ini.
9. Kepada Saudari Santi, S.Pt., M.Si, Hikmawaty, S.Pt., M.Si, Ummul Masir, S.Pt., M.Si, Andi Fausiah, S.Pt., M.Si, Lili Andriani Salman, S.Pt, Ceceng Tenriawaru, S.Pt serta Lion 2010 dan ITP 2014, terima kasih atas bantuan, motivasi, semangat, suka dukanya selama penulis menjadi mahasiswa.
10. Kepada semua pihak yang turut membantu dalam penelitian dan penyusunan disertasi ini namun tidak disebutkan satu persatu, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya.

Penulis menyadari bahwa penulisan disertasi ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga saran dan kritikan sangat dibutuhkan demi perbaikan yang akan dilakukan. Penulis berharap semoga hasil penelitian yang tertuang dalam disertasi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembacanya.

Penulis.

Andi Tenri Bau Astuti Mahmud  
Nim. I013181003

## ABSTRAK

ANDI TENRI BAU ASTUTI MAHMUD (**Profil Ekspresi Gen Pengontrol Sifat Produktivitas dan Efisiensi Pakan pada Ayam Kalosi Jantan**) Dibimbing oleh Lellah Rahim, Muhammad Ihsan A. Dagong dan Sri Rachma Aprilita Bugiwati.

Ayam Kalosi merupakan salah satu ayam lokal asli Indonesia yang berasal dari Sulawesi Selatan. Ayam ini merupakan hasil persilangan dari beberapa jenis ayam lokal yang dapat menjadi salah satu sumber daya genetik yang sangat potensial untuk dikembangkan sebagai penghasil daging dan telur. Salah satu kendala dalam pengembangan ayam Kalosi adalah performa pertumbuhan dan efisiensi penggunaan pakan yang cenderung masih rendah. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi sifat pertumbuhan dan efisiensi pakan, kualitas karkas dan kualitas daging, dan gen pengontrol terhadap perbedaan profil ekspresi gen pada ayam Kalosi. Penelitian ini menggunakan 63 ekor ayam jantan Kalosi yang dipelihara secara intensif di kandang individu pada umur 24 – 70 hari. Konsumsi pakan dan bobot badan diamati setiap hari dan pengukuran morfometrik dilakukan setiap minggu. Sedangkan pengamatan kualitas karkas, kualitas daging dan identifikasi gen dilakukan pada umur 70 hari. Data yang diperoleh selanjutnya menjadi dasar pengelompokan ayam ke dalam kelompok HRFI dan LRFI untuk mengidentifikasi: (1) sifat pertumbuhan dan efisiensi pakan, (2) kualitas karkas dan kualitas daging, dan (3) gen pengontrol sifat pertumbuhan dan kualitas daging terhadap perbedaan profil ekspresi gen. Hasil penelitian tahap pertama menunjukkan bahwa pengelompokan HRFI berbeda dengan LRFI pada nilai FCR, ADFI dan RFI tetapi tidak berbeda pada BB<sub>24</sub>, BB<sub>70</sub>, MBW dan ADG serta nilai morfometrik. Hasil penelitian tahap kedua menunjukkan bahwa kelompok HRFI tidak berbeda dengan kelompok LRFI pada nilai kualitas karkas, non karkas, fisik daging dan sarkomer daging kecuali pada jantung dan jejunum pada ayam Kalosi. Hasil penelitian tahap ketiga menunjukkan bahwa keragaman gen GHSR|Hin6I, gen GHR'5|Eco721, gen IGF2|NlaIII bersifat polimorfik dan gen MSTN|SatI bersifat monomorfik. Berdasarkan ekspresi gen, gen GHSR, GHR'5 dan IGF2 terjadi asosiasi dan tidak terekspresi sedangkan gen MSTN tidak dapat diasosiasikan dan terekspresi. Kesimpulan penelitian ini adalah pengelompokan HRFI dan LRFI pada ayam Kalosi cenderung memiliki persamaan dalam hal produktivitas.

**Kata Kunci:** Ayam Kalosi, performa, morfometrik, kualitas karkas, gen pengontrol

## ABSTRACT

ANDI TENRI BAU ASTUTI MAHMUD (**The Expression Profiles of Genes Controlling Productivity and Feed Efficiency in Kalosi Chickens**) Supervised by Lellah Rahim, Muhammad Ihsan A. Dagong and Sri Rachma Aprilita Bugiwati.

Kalosi chicken is one of the Indonesian's native chicken originating from South Sulawesi. This chicken is formed by crossing several local chickens which can be a very potential genetic resource to be developed as a producer of meat and eggs. One of the obstacles in the development of these chickens is their growth performance and feed efficiency tends to be low. This study aims to identify growth characteristics and feed efficiency, carcass quality and meat quality, and control genes for differences in gene expression profiles in Kalosi chickens. Sixty three Kalosi chickens were intensively reared in individual cages at the age of 24 - 70 days. Feed consumption and body weight were observed daily and morphometric measurements were taken weekly. While observations of carcass quality, meat quality and gene identification were made at the age of 70 days. The data obtained then became the basis for grouping chickens into HRFI and LRFI groups to identify: (1) growth traits and feed efficiency, (2) carcass quality and meat quality, and (3) genes controlling growth traits and meat quality against differences in gene expression profiles. The results of the first stage of the study showed that HRFI grouping differed from LRFI in FCR, ADFI and RFI values but did not differ in BB24, BB70, MBW and ADG and morphometric values. The results of the second stage of research showed that the HRFI group did not differ from the LRFI group on the quality of carcass, non-carcass, physical meat and meat sarcomeres except in the heart and jejunum. The results of the third stage of research showed that the diversity of the GHSR|Hin6I gene, GHR'5|Eco721 gene, IGF2|NlaIII gene was polymorphic and the MSTN|SatI gene was monomorphic. Based on gene expression, the GHSR, GHR'5 and IGF2 genes were associated and not expressed while the MSTN gene cannot be associated and expressed. The conclusion of this study was that grouping of HRFI and LRFI of Kalosi chickens have a similarities in terms of productivity.

**Keywords:** *Kalosi chicken, performance, morphometric, carcass quality, controlling gene*



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGAJUAN .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI .....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH .....	v
ABSTRAK .....	vii
<i>ABSTRACT</i> .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH DAN LAMBANG .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN UMUM</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
1.5 Kebaharuan Penelitian .....	3
1.6 Ruang Lingkup Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Ayam Kalosi .....	6
2.2 <i>Residual Feed Intake</i> (RFI) .....	7
2.3 Produktivitas dan Morfometrik .....	8
2.4 Karkas dan Kualitas Daging .....	9
2.5 Pendekatan Molekuler DNA dan RNA .....	10
<b>BAB III IDENTIFIKASI SIFAT PERTUMBUHAN DAN EFISIENSI PAKAN, MORFOMETRIK DAN KUALITATIF PADA AYAM KALOSI BERDASARKAN <i>RESIDUAL FEED INTAKE</i> (RFI)</b>	
Abstrak .....	13
<i>Abstract</i> .....	13
3.1 Pendahuluan .....	14
3.2 Metode .....	15
3.3 Hasil dan Pembahasan .....	19
3.4 Kesimpulan .....	25

BAB IV IDENTIFIKASI KUALITAS KARKAS DAN KUALITAS DAGING AYAM  
KALOSI BERDASARKAN KELOMPOK *RESIDUAL FEED INTAKE* (RFI)

Abstrak .....	26
<i>Abstract</i> .....	26
4.1 Pendahuluan .....	27
4.2 Metode .....	28
4.3 Hasil dan Pembahasan .....	33
4.4 Kesimpulan .....	39

BAB V IDENTIFIKASI HUBUNGAN GEN PENGONTROL SIFAT  
PERTUMBUHAN DAN KUALITAS DAGING TERHADAP PERBEDAAN PROFIL  
EKSPRESI GEN PADA AYAM KALOSI

Abstrak .....	40
<i>Abstract</i> .....	40
5.1 Pendahuluan .....	41
5.2 Metode .....	43
5.3 Hasil dan Pembahasan .....	51
5.4 Kesimpulan .....	74

BAB VI PEMBAHASAN UMUM .....	75
------------------------------	----

BAB VII KESIMPULAN UMUM .....	78
-------------------------------	----

DAFTAR PUSTAKA .....	79
----------------------	----

LAMPIRAN .....	92
----------------	----

CURICULUM VITAE .....	175
-----------------------	-----

## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Kandungan nutrisi bahan pakan ayam Kalosi .....	15
2. Nilai rata-ran BB <sub>24</sub> , BB <sub>70</sub> , MBW, ADG, ADFI, FCR dan RFI pada ayam Kalosi .....	19
3. Nilai rata-ran morfometrik pada ayam Kalosi berdasarkan RFI .....	23
4. Sifat kualitatif bentuk jengger, warna bulu, warna pial, warna paruh, warna shank, warna earlob pada ayam Kalosi berdasarkan RFI.....	24
5. Nilai persentase bobot karkas, potongan karkas serta daging dan tulang pada ayam Kalosi berdasarkan RFI .....	34
6. Nilai persentase bobot non karkas, potongan non karkas dan bagian-bagian jeroan pada ayam Kalosi berdasarkan RFI .....	35
7. Nilai kualitas fisik daging ayam Kalosi berdasarkan RFI .....	36
8. Nilai panjang sarkomer dan diameter serat daging ( $\mu\text{m}$ ) ayam Kalosi berdasarkan RFI .....	38
9. Primer gen pengontrol sifat pertumbuhan dan kualitas daging .....	45
10. Penentuan genotipe gen pertumbuhan dan kualitas daging .....	47
11. Nilai frekuensi genotipe, frekuensi alel, heterozigositas dan keseimbangan <i>hardy-weinberg</i> gen GHSR Hin6I pada ayam Kalosi .....	53
12. Nilai frekuensi genotipe, frekuensi alel, heterozigositas dan keseimbangan <i>hardy-weinberg</i> gen GHR'5 Eco721 pada ayam Kalosi .....	56
13. Nilai frekuensi genotipe, frekuensi alel, heterozigositas dan keseimbangan <i>hardy-weinberg</i> gen IGF2 NlaIII pada ayam Kalosi .....	59
14. Nilai frekuensi genotipe, frekuensi alel, heterozigositas dan keseimbangan <i>hardy-weinberg</i> gen MSTN SatI pada ayam Kalosi .....	61
15. Asosiasi keragaman gen GHSR sifat pertumbuhan terhadap Parameter performa pada Ayam Kalosi .....	61
16. Asosiasi keragaman gen GHSR sifat pertumbuhan terhadap parameter morfometrik pada Ayam Kalosi .....	62
17. Asosiasi keragaman gen GHSR sifat pertumbuhan terhadap parameter kualitas karkas dan non karkas pada Ayam Kalosi .....	63
18. Asosiasi Keragaman Gen GHSR sifat pertumbuhan terhadap parameter kualitas daging pada Ayam Kalosi .....	64

19. Asosiasi keragaman gen GHR'5 sifat pertumbuhan terhadap parameter performa pada Ayam Kalosi.....	65
20. Asosiasi keragaman gen GHR'5 sifat pertumbuhan terhadap parameter morfometrik pada Ayam Kalosi .....	66
21. Asosiasi keragaman gen GHR'5 sifat pertumbuhan terhadap parameter kualitas karkas dan non karkas pada Ayam Kalosi .....	67
22. Asosiasi Keragaman Gen GHR'5 sifat pertumbuhan terhadap parameter kualitas daging pada Ayam Kalosi .....	67
23. Asosiasi keragaman gen IGF2 sifat pertumbuhan terhadap parameter performa pada Ayam Kalosi.....	68
24. Asosiasi keragaman gen IGF2 sifat pertumbuhan terhadap parameter morfometrik pada Ayam Kalosi .....	69
25. Asosiasi keragaman gen IGF2 sifat pertumbuhan terhadap parameter kualitas karkas dan non karkas pada Ayam Kalosi .....	70
26. Asosiasi Keragaman Gen IGF2 sifat pertumbuhan terhadap parameter kualitas daging pada Ayam Kalosi .....	71

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Roadmad penelitian Ayam Kalosi .....	5
2. Tren Bobot Badan (BB) ayam Kalosi berdasarkan RFI .....	21
3. Tren Pertambahan Bobot Badan (PBB) ayam Kalosi berdasarkan RFI .....	22
4. Sampel pengujian fisik dan warna daging ayam Kalosi .....	32
5. Pengukuran panjang sarkomer dan diameter serat otot .....	32
6. Visualisasi hasil amplifikasi gen GHSR exon 1 pada gel agarose 1,5%. M: Marker 100 bp dan 1 – 15: sampel pada ayam Kalosi .....	51
7. Visualisasi genotyping gen GHSR RFLP 'Hin6I' exon 1 pada gel agarose 1,5%. M : Marker 100 bp dan 1 – 15 : sampel pada ayam Kalosi .....	52
8. Visualisasi hasil amplifikasi gen GHR'5 exon 1 pada gel agarose 1,5%. M: Marker 100 bp dan 1 – 15: sampel pada ayam Kalosi .....	55
9. Visualisasi genotyping gen GHR'5 RFLP 'Eco721' exon 1 pada gel agarose 1,5%. M: Marker 100 bp dan 1 – 15: sampel pada ayam Kalosi .....	55
10. Visualisasi hasil amplifikasi gen IGF2 exon 4 pada gel agarose 1,5%. M: Marker 100 bp dan 1 – 15: sampel pada ayam Kalosi .....	57
11. Visualisasi genotyping gen IGF2 RFLP 'NlaIII' exon 4 pada gel agarose 1,5%. M: Marker 100 bp dan 1 – 15: sampel pada ayam Kalosi .....	58
12. Visualisasi hasil amplifikasi Gen MSTN exon 1 pada gel agarose 1,5%. M: Marker 100 bp dan 1 – 15: sampel pada Ayam Kalosi .....	60
13. Visualisasi genotyping gen MSTN RFLP 'SatI' exon 1 pada gel agarose 1,5%. M: Marker 100 bp dan 1 – 15: sampel pada ayam Kalosi .....	60
14. Ekspresi mRNA gen GHSR, GHR'5, IGF2 dan MSTN di jaringan hati pada sifat – sifat pertumbuhan dengan menggunakan qRT-PCR .....	72
15. Struktur gen <i>myostatin</i> ayam (berdasarkan No. Akses enBank: AF346599.2) dan mekanisme proses proteolisis protein <i>Myostatin</i> .....	77

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Hasil analisis <i>Uji Independent – samples T Test</i> .....	92
2. Hasil analisis popgene .....	126
3. Hasil analisis asosiasi gen sifat pertumbuhan dan kualitas daging .....	133
4. Dokumentasi rangkaian penelitian .....	168

## DAFTAR SINGKATAN, ISTILAH DAN LAMBANG

Lambang/Singkatan	Arti dan Keterangan
<b>RFI</b>	<i>Residual Feed Intake</i> merupakan indeksasi antara konsumsi pakan dengan pertambahan bobot badan harian pada periode tertentu.
<b>FCR</b>	Feed Conversion Rasio merupakan penentuan banyaknya pakan yang dikonversi menjadi bobot badan.
<b>DOC</b>	Day Old Chicken merupakan anak ayam dengan umur dibawah 10 hari.
<b>BB</b>	Bobot Badan merupakan salah satu tolak ukur tingkat produktivitas ternak yang digunakan sebagai pedoman dasar pemilihan bibit maupun bakalan.
<b>PBB</b>	Pertambahan Bobot Badan merupakan selisih dari bobot akhir (panen) dengan bobot badan awal pada saat tertentu.
<b>ADFI</b>	<i>Average Daily Feed Intake</i> merupakan salah satu penentu utama produksi ternak terkait jumlah pakan yang dikonsumsi oleh setiap ekor ternak per hari.
<b>ADG</b>	<i>Average Daily Growth</i> merupakan pertambahan bobot harian rata – rata dalam suatu periode waktu tertentu sehingga dapat digunakan untuk mengetahui kecepatan pertumbuhan.
<b>pH</b>	<i>Potencial of Hydrogen</i> merupakan derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu larutan.
<b>DPD</b>	Day Putus Daging merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui tingkat kealotan dari daging.
<b>WHC</b>	<i>Water Holding Capacity</i> merupakan kemampuan protein daging untuk mengikat atau menahan kandungan air selama mengalami perlakuan dari luar seperti pemotongan, penggilingan dan pengolahan.
<b>DNA</b>	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> merupakan rantai molekul yang berisi materi genetik yang khas pada setiap makhluk

	hidup.
<b>RNA</b>	<i>Ribo Nukleat Acid</i> merupakan salah satu materi genetik yang terdiri dari nukleotida.
<b>RFLP</b>	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> merupakan salah satu teknik penciri genetik ( <i>genetik marker</i> ).
<b>qRT-PCR</b>	<i>Quantification Real Time Polymerase Chain Reaction</i> merupakan teknis berbasis PCR yang memasang amplifikasi sekuens DNA target dengan kuantifikasi konsentrasi spesies DNA tersebut dalam reaksi.
<b>mRNA</b>	<i>Messenger Ribo Nukleat Acid</i> merupakan salah satu jenis RNA ( <i>Ribo Nukleat Acid</i> ) yang ditemukan di dalam sel.
<b>GHSR</b>	<i>Growth Hormone Secretagogue Receptor</i> merupakan gen kandidat sifat pertumbuhan.
<b>GHR</b>	<i>Growth Hormone Receptor</i> merupakan salah satu gen pengontrol sifat pertumbuhan.
<b>IGF2</b>	<i>Insulin-Like Growth Factor2</i> merupakan salah satu dari tiga hormone protein yang memiliki kesamaan struktural dengan insulin.
<b>MSTN</b>	<i>Myostatin</i> merupakan gen utama dan penentu dalam mengontrol sifat pertumbuhan dan produksi daging yang berperan sebagai regulator negatif dari pertumbuhan.
<b>DEG</b>	<i>Differentially Expressed Gen</i> merupakan salah satu metode yang dapat melihat pengelompokan gen yang terekspresi dan tidak terekspresi ( <i>up regulated</i> dan <i>down regulated</i> ).
<b>SNP</b>	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> merupakan suatu perbedaan susunan basa nukleotida tunggal pada genom suatu individu yang menyebabkan adanya variasi genetik dalam suatu populasi.
<b>EDTA</b>	<i>Ethylenediaminetetraacetic</i> merupakan asam kompleks berupa asam karboksilat poliamino.
<b>KEG</b>	<i>Kyoto Encyclopedia of Gene and Genome</i> merupakan kumpulan database yang berkaitan dengan genom, pathway biologi, penyakit dan bahan kimia.



# BAB I PENDAHULUAN UMUM

## 1.1 Latar Belakang

Ayam Kalosi merupakan salah satu ayam lokal asli Indonesia berasal dari Sulawesi Selatan yang telah didomestikasi dan salah satu sumber daya genetik yang sangat potensial untuk dikembangkan sebagai penghasil daging dan telur. Ayam Kalosi adalah strain ayam lokal yang dikembangkan sekitar tahun 1990-an oleh Pemerintah Sulawesi Selatan untuk meningkatkan kualitas genetik dan produktivitas ayam setempat. Ayam lokal yang dikembangkan meliputi 3 galur yaitu Kalosi Lotong (hitam), Kalosi Pute (putih) dan Karame Pute (Wido-Putih). Pengembangan strain ayam lokal sangat didukung oleh Gubernur Sulawesi Selatan (HZB Palaguna), sehingga strain ini disebut dengan nama "Ayam Gubernur" (BPTP Sulawesi Selatan, 2011).

Kondisi Ayam Kalosi saat ini relatif menurun karena tidak dilakukan pemurnian secara terus menerus sehingga populasinya juga semakin berkurang. Selain dari pemurnian, yang menjadi kendala pada ayam Kalosi yaitu dari segi performa pertumbuhan dan efisiensi penggunaan pakan yang cenderung masih rendah. Sehingga perlu perbaikan genetik dari manajemen dan efisiensi pakan guna meningkatkan kembali populasi Ayam Kalosi.

Kendala dalam pengembangan ayam Kalosi adalah performa penambahan bobot badan yang masih rendah yaitu bobot badan dewasa jantan sekitar 1,5-2,2 kg dan ayam betina sekitar 1,2-2,1 kg (Sartika *dkk.*, 2016). Pada umur 3 bulan ayam jantan Kalosi baru mencapai bobot 800 g (BPTP Sulawesi Selatan, 2011). Hal ini kemungkinan disebabkan kurangnya kemampuan ayam Kalosi dalam efisiensi pakan (Sartika *dkk.*, 2016).

Efisiensi pakan terdiri atas konsumsi pakan, *feed conversion ratio* (FCR) dan *Residual Feed Intake* (RFI). Salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengukur efisiensi pakan yang terkait dengan pertumbuhan yaitu *Residual Feed Intake* (RFI). RFI merupakan indeksasi antara konsumsi pakan dengan penambahan bobot badan harian pada periode tertentu. Dengan kata lain RFI adalah rasio konversi pakan yang berhubungan dengan pertumbuhan. Hal ini sesuai pendapat Begli *et al.*, (2016) secara umum RFI meningkatkan efisiensi pakan tanpa merusak komposisi karkas dan kualitas daging.

Menurut Alende *et al.*, (2016) RFI merupakan indeks antara konsumsi pakan dengan rataan pertambahan bobot badan pada periode tertentu, sehingga rasio konversi pakan ini yang berkaitan terhadap pertumbuhan. Selain itu, RFI yang digunakan juga diketahui sebagai sifat kuantitatif dari efisiensi pakan yang dikontrol oleh banyak gen dengan metode *Differentially Expressed Gen* (DEG). Metode tersebut merupakan salah satu metode yang dapat melihat pengelompokan gen yang terekspresi dan tidak terekspresi (*up regulated* dan *down regulated*). Seperti dilaporkan oleh Izadnia *et al.*, (2019) bahwa ditemukan 400 gen yang berperan pada RFI dengan 121 *up regulated* dan 279 gen *down regulated* pada ayam Isfahan.

Yang *et al.*, (2020) melaporkan DEG yang terekspresikan di *up regulated* dikelompok RFI rendah pada ternak unggas berdasarkan KEGG *Pathways* yaitu kelompok gen '*oksidatif phosphorylation*'. Validasi DEG pada *breast muscle* ayam Kampung dengan RNASeq telah menunjukkan beberapa gen yang berperan seperti PEPD, SERBP1, TAP2, SEC23B, KLHL18 dengan metode RFI.

Indeks RFI sebagai salah satu program pemuliaan yang perlu diperhatikan untuk meningkatkan efisiensi pakan. Hal ini sangat penting untuk menguji hubungan kuantitatif dengan sifat karkas dan kualitas daging (Nascimento *et al.*, 2016). Hal ini sesuai dengan pendapat Anggrey *et al.*, (2010) bahwa RFI dapat digunakan sebagai program pemuliaan ternak untuk meningkatkan produksi daging yang umumnya difokuskan pada fenotipe sifat pertumbuhan dan konversi pakan. Oleh karena itu, penelitian ini mengkarakterisasi profil ekspresi gen yang terkait dengan sifat produktivitas dan efisiensi pakan pada ayam Kalosi melalui pengujian DNA dan RNA.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana identifikasi sifat pertumbuhan dan efisiensi pakan pada ayam Kalosi.
2. Bagaimana hubungan sifat pertumbuhan dan efisiensi pakan terhadap kualitas karkas dan kualitas daging pada ayam Kalosi.
3. Bagaimana hubungan gen pengontrol sifat pertumbuhan (GHSR, GHR'5, IGF2 dan MSTN) berasosiasi dengan sifat pertumbuhan dan kualitas daging terhadap perbedaan profil ekspresi gen pada ayam Kalosi.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengidentifikasi antara sifat pertumbuhan dan efisiensi pakan pada ayam Kalosi.
2. Mengidentifikasi kualitas karkas dan kualitas daging pada ayam Kalosi berdasarkan kelompok *Residual Feed Intake* (RFI).
3. Mengidentifikasi hubungan gen pengontrol sifat pertumbuhan dan kualitas daging terhadap perbedaan profil ekspresi gen pada ayam Kalosi.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan gambaran mengenai ekspresi gen pengontrol sifat pertumbuhan dan kualitas daging berdasarkan *Residual Feed Intake* (RFI).
2. Berdasarkan ekspresi gen tersebut diharapkan dapat mengetahui gen - gen yang terekspresi pada HRFI dan LRFI di fenotipe yang berbeda dan kaitannya dengan produktivitas ayam Kalosi.
3. Hasil penelitian ini juga diharapkan menjadi salah satu informasi dasar dalam melengkapi data riset genetika molekuler ternak dalam upaya perbaikan dan penentuan kebijakan mutu genetik.

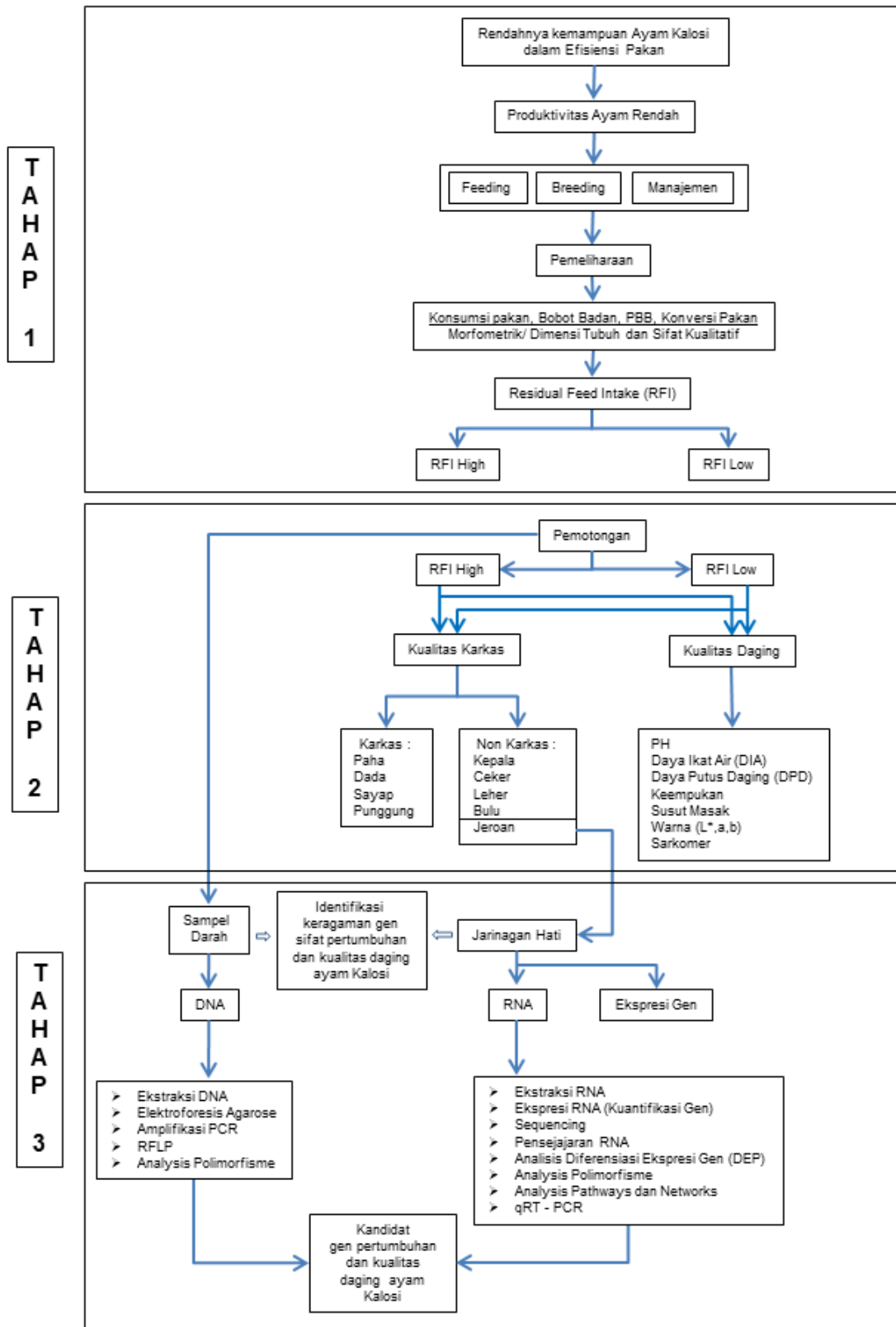
### **1.5 Kebaruan Penelitian**

1. Informasi terkait sifat performa dan efisiensi pakan berdasarkan pengelompokkan HRFI dan LRFI.
2. Informasi terkait hubungan sifat performa dan efisiensi pakan terhadap kualitas fisik dan kualitas daging ayam Kalosi berdasarkan kelompok RFI
3. Informasi keragaman dan sekuen DNA gen GHSR, GHR'5, IGF2 dan MSTN pada ayam Kalosi.
4. Rekomendasi gen kandidat penciri sifat pertumbuhan dan kualitas daging ayam Kalosi.
5. Sekuensing dan ekspresi gen sifat pertumbuhan dan kualitas daging ayam Kalosi.

## 1.6 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup atau Batasan penelitian merupakan upaya untuk memberikan lingkup atau batasan terhadap aspek yang diteliti. Batasan penelitian dipandang perlu untuk mendekatkan pada pokok permasalahan yang dibahas, sehingga tidak terjadi kesalahan dalam menginterpretasikan hasil penelitian. Batasan penelitian sebagai berikut :

1. Identifikasi antara sifat pertumbuhan dan efisiensi pakan pada ayam Kalosi.
2. Identifikasi kualitas karkas dan kualitas daging pada ayam Kalosi berdasarkan kelompok *Residual Feed Intake* (RFI).
3. Identifikasi hubungan gen pengontrol sifat pertumbuhan dan kualitas daging terhadap perbedaan profil ekspresi gen pada ayam Kalosi.



Gambar 1. Roadmap Penelitian Ayam Kalosi.

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Ayam Kalosi**

Ayam Kalosi adalah hasil rekayasa genetik yang pernah dilakukan di Sulawesi Selatan dan telah dijadikan sebagai Ayam Buras, namun karena tidak dilakukan pemurnian secara terus – menerus sehingga ayam Kalosi sudah berkurang di Sulawesi Selatan. Ayam Kalosi merupakan strain ayam lokal yang dikembangkan sekitar tahun 1990-an oleh Pemerintah Sulawesi Selatan untuk meningkatkan kualitas genetik dan produktivitas ayam setempat.

Pemeliharaan ayam Kalosi dilakukan secara intensif yang disertai persilangan antar ras. Persilangan mulai dilakukan sejak tahun 1993. Salah satu tantangan yang dihadapi dalam pengembangan ayam Kalosi di Sulawesi Selatan adalah belum adanya pusat – pusat pembibitan yang mampu menyediakan ayam Buras berkualitas. Ayam Kalosi dikembangkan di Sulawesi Selatan seperti pada daerah Maros dan Gowa. Usaha budidaya ayam Kalosi sebagian besar belum bersifat intensif dan semi intensif bahkan bersifat tradisional dimana ayam dipelihara secara bebas tanpa adanya sistem pakan dan perkandangan permanen. Ayam Kalosi termasuk salah satu jenis ayam Kampung yang produktivitasnya secara umum termasuk tinggi. Disamping itu, ayam Kalosi termasuk ayam yang tahan terhadap penyakit maupun perubahan kondisi lingkungan (BPTP Sulawesi Selatan, 2011).

Menurut Agustina (2013) ayam Kalosi sebagai hasil rekayasa genetik melalui seleksi dan persilangan yang pembentukannya melibatkan beberapa indukan ayam lokal yang memiliki sifat-sifat khusus. Hasil proses kawin silang ayam lokal dengan ayam introduksi melalui seleksi dan persilangan yang kontinyu, ternyata berhasil meningkatkan performa turunannya dan menghasilkan bibit unggul yang meliputi 3 galur sekaligus. Selain sebagai ayam petelur, ayam Kalosi unggul pada pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan ayam Kampung lainnya. Produksi telur rata- rata per tahun sekitar 150 butir untuk kalosi Lotong, 180 butir untuk kalosi Pute dan 160 butir untuk Karame Pute. Produksi telur tersebut masih lebih tinggi dibanding ayam Kampung biasa yang hanya mencapai 115 butir/tahun.

Ciri – ciri khas ayam Kalosi yaitu warna bulu hitam polos, putih polos dan coklat kombinasi. Ayam jantan mempunyai bulu leher *sex-linked* berwarna

keemasan atau keperakan, memiliki warna paruh hitam, warna kaki hitam atau putih, jengger tunggal dengan warna merah atau merah kehitaman. Ayam Kalosi memiliki fungsi sebagai pedaging dan petelur (Sartika *dkk.*, 2016). Bobot ayam jantan dewasa 1,5 – 2,2 kg/ekor sedangkan bobot betina 1,2 – 2,1 kg/ekor. Adapun keunggulan yang dimiliki yaitu memiliki pertumbuhan dan masa bertelur lebih cepat serta produksi telur lebih tinggi dibandingkan ayam kampung. Produksi telur ayam Kalosi yaitu sekitar 140 butir/ekor/tahun dengan bobot 45 g/butir dan mulai bertelur umur 6,5 bulan (BPTP Sulawesi Selatan, 2011).

## **2.2 Residual Feed Intake (RFI)**

Residual Feed Intake (RFI) merupakan salah satu indikator efisiensi pakan (Herd dan Arthur, 2009). RFI merupakan sifat penting dalam efisiensi pakan yang harus dioptimalkan untuk meningkatkan keberlanjutan dan profitabilitas produksi ternak (Salleh *et al.*, 2017). Sejak tahun 1970, RFI juga telah lama digunakan sebagai indeks evaluasi kinerja produksi untuk ayam petelur. RFI dapat dihitung sebagai selisih antara asupan bahan kering / *Dry Matter Intake* (DMI) aktual dan yang diharapkan dengan data yang diperoleh dari pengukuran asupan pakan harian dan rataan pertambahan bobot badan (*Average Daily Growth/ADG*) dalam suatu periode (Sainz and Paulino, 2004).

Konsep RFI pertama kali pada sapi potong digunakan oleh Koch *et al.*, (1963) yaitu mengusulkan bahwa asupan pakan dapat disesuaikan dengan berat badan dan pertambahan berat badan yang dapat dibagi menjadi 2 komponen: 1) asupan diharapkan untuk kinerja atau tingkat produksi tertentu, dan 2) penyimpangan individu dari nilai yang diharapkan berdasarkan garis regresi (bagian sisa). Bagian RFI tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi ternak yang menyimpang dari yang diharapkan yaitu dengan ternak yang memiliki nilai RFI lebih rendah/negatif lebih efisien (Arthur dan Herd, 2008). Oleh karena itu, RFI didefinisikan sebagai perbedaan antara asupan pakan sebenarnya dari ternak dan asupan pakan yang diharapkan berdasarkan ukuran dan pertumbuhannya selama jangka waktu tertentu.

RFI dihitung sebagai residual dalam model linier untuk memprediksi asupan pakan ternak individu, dengan demikian pada dasarnya perbedaan antara konsumsi pakan yang diamati individu dengan konsumsi pakan yang diprediksi (Potts *et al.*, 2015). Variasi RFI dipengaruhi oleh banyak faktor biologis (Moore *et al.*, 2009) di antara mekanisme biologis yang terkait adalah pola

makan, pencernaan, aktivitas, pergantian protein dan metabolisme jaringan, stres, termoregulasi, peningkatan panas dan komposisi tubuh (Richardson dan Herd, 2004; Herd dan Arthur, 2009). Ekspresi gen mungkin berkorelasi dengan RFI dan variasi dalam RFI. Hal tersebut sesuai pendapat (Chen *et al.*, 2012; Khansefid *et al.*, 2017) bahwa gen yang ekspresinya berkorelasi dengan RFI sebagai pengendalian dalam menemukan gen dan polimorfisme yang menyebabkan variasi RFI. Eksplorasi variasi ekspresi gen menggunakan RNA sekuensing untuk menemukan ekspresi gen yang terkait dengan RFI dan kemudian menyelidiki *signaling pathway* untuk gen tersebut (Khansefid *et al.*, 2017).

### 2.3 Produktivitas dan Morfometrik

Produktivitas meliputi pengukuran morfometrik, performa produksi dan reproduksi pada suatu ternak. Herren (2000) menyatakan bahwa ternak mengalami pertumbuhan secara cepat sejak lahir hingga ternak mencapai dewasa kelamin. Pada periode ini, ternak mengalami pertumbuhan jaringan dan otot secara cepat. Setelah mencapai dewasa kelamin, ternak akan tetap mengalami pertumbuhan, namun kecepatan pertumbuhan semakin berkurang sampai dengan pertumbuhan tulang dan otot berhenti. Soeparno (1992) menyatakan bahwa pertumbuhan tulang yang cepat setelah pubertas, laju pertumbuhan otot menurun dan deposisi lemak mulai meningkat.

Performa bobot badan dipengaruhi variasi genetik dan faktor lingkungan. Bobot badan sangat berkaitan erat dengan sifat ekonomis, semakin tinggi bobot badan maka telur yang dihasilkan akan semakin besar (Oke *et al.*, 2004). Selain bobot badan, konversi pakan juga sangat erat hubungannya terhadap produktivitas. Konversi pakan merupakan pembagian antara berat badan yang dicapai dengan konsumsi pakan pada waktu yang sama. Konversi pakan erat kaitannya dengan konsumsi pakan dan pertumbuhan. Semakin rendah nilainya, maka efisiensinya dalam menghasilkan bobot badan akhir semakin tinggi (Rasyaf, 2004).

Morfometrik merupakan informasi mengenai ukuran – ukuran bagian tubuh yang berguna untuk mengidentifikasi karakteristik individu ayam dan nilai ekonomis produktivitasnya. Berdasarkan hal tersebut, maka terdapat dua komponen besar mengenai morfometrik yaitu *size* atau ukuran dan *shape* atau bentuk diartikan sebagai model, pola, karakteristik sebagai pembeda. Hasil



penelitian Nishida *et al.*, (1982) menyatakan bahwa bentuk tubuh ayam Kalosi di Indonesia dapat dibedakan berdasarkan panjang sayap dan tinggi jengger. Ukuran tulang paha, betis dan *shank* serta perbandingan antara panjang *shank* dengan lingkaran *shank*, efektif digunakan dalam menduga konformasi tubuh.

Pengukuran morfometrik sebagai sifat kuantitatif dapat digunakan dalam seleksi dan dilakukan untuk memperoleh perbedaan ukuran – ukuran tubuh dalam populasi ternak. Menurut Scanes (2003) perbedaan morfometrik pada saat dewasa kelamin dapat memberikan bentuk yang berbeda pada setiap ternak. Informasi ukuran tubuh digunakan untuk memprediksi bobot badan dan komposisi karkas ayam, hubungannya antara berat badan dan ukuran tubuh sangat penting sebagai informasi untuk meningkatkan genetik ternak (Oke *et al.*, 2004). Sifat fisik yang terlihat dengan ciri – ciri khusus dapat menentukan keseragaman suatu populasi dan untuk mengategorikan suatu spesies ternak. Ciri khusus yang terlihat dapat juga memprediksi produktivitas ternak (Assan, 2013).

#### **2.4 Karkas dan Kualitas Daging**

Karkas adalah bagian tubuh ternak setelah dikurangi bagian saluran pencernaan, kepala, bulu dan ceker. Bobot karkas adalah bobot hidup setelah dikurangi bobot saluran pencernaan, darah, kepala, bulu dan ceker dari persendian *carpus* atau *tarsus* ke bawah. Persentase karkas dapat diukur dalam beberapa cara yakni dengan mengukur perbandingan antara bobot karkas dengan bobot hidup saat dipotong atau perbandingan bobot hidup dengan bobot kosong (*empty body weight*) yakni bobot setelah dikurangi isi saluran pencernaan dan urine (Ekiz *et al.*, 2009). Persentase karkas dipengaruhi oleh bobot karkas, bobot ternak, kondisi, bangsa ternak, proporsi bagian-bagian non karkas, ransum yang diberikan serta cara pemotongan.

Kualitas daging didefinisikan sebagai istilah yang menggambarkan semua karakteristik daging yaitu sifat fisik, kimia, biokimia, mikrobiologi, kebersihan, sensori (penampakan umum) dan kandungan nutrisi (Anadon, 2002). Daging ayam mudah mengalami penurunan kualitas sebagai akibat dari adanya perlakuan yang kurang baik pada saat ayam masih hidup, pada saat penanganan atau pada saat penyimpanan yang kurang sempurna (Sams, 2001). Menurut Soeparno (2005), faktor yang menentukan kelezatan dan daya terima daging antara lain warna, daya ikat air oleh protein atau *water holding capacity*

(WHC), kesan jus daging (*juiciness*), tekstur, keempukan, rasa atau *flavor* dan nilai pH daging.

Komponen utama daging yang berpengaruh terhadap keempukan atau kealotan yaitu jaringan ikat, serabut-serabut otot, dan jaringan adipose. pH daging yang berhubungan dengan daya ikat air, jus daging, keempukan dan susut masak, juga berhubungan dengan warna dan sifat mekanik daging (daya putus daging), kompresi, adhesi dan menurunkan susut masak. Kenaikan pH daging akan meningkatkan jus daging dan menurunkan susut masak. pH ultimat daging adalah 5,5 – 5,8 dan faktor yang mempengaruhi laju besarnya penurunan pH postmortem (Soeparno, 2005). Menurut Lawrie (2003), pH akhir daging yang dicapai merupakan petunjuk untuk mengetahui mutu daging yang baik. Daging yang mempunyai pH antara 5,5-5,7 (pH normal) memberikan warna merah pucat pada daging ayam. Yanti *et al.*, (2008) mengatakan bahwa daya ikat air mempengaruhi nilai susut masak daging yaitu peningkatan daya ikat air akan diikuti dengan turunnya persentase susut masak.

## 2.5 Pendekatan Molekuler DNA dan RNA

*Deoxyribonucleic acid* (DNA) adalah polimer asam nukleat yang tersusun secara sistematis dan merupakan pembawa informasi genetik yang diturunkan kepada keturunannya. Informasi genetik disusun dalam bentuk kodon yang berupa tiga pasang basa nukleotida. Secara struktural, DNA merupakan polimer nukleotida, dimana setiap nukleotida tersusun atas gula deoksiribosa, fosfat dan basa. Polimer tersebut membentuk struktur dua untai heliks ganda yang disatukan oleh ikatan hydrogen antara basa – basa yang ada. Terdapat empat basa dalam DNA yaitu adenin (A), sitosin (C), guanin (G) dan timin (T). Adenin akan membentuk dua ikatan hydrogen dengan timin sedangkan guanin akan membentuk tiga ikatan hydrogen dengan sitosin.

DNA merupakan asam nukleat yang mengandung materi genetik yang berfungsi untuk mengatur perkembangan biologis seluruh bentuk kehidupan secara seluler (Yuwino, 2009). Komponen satu nukleotida terdiri dari tiga bagian yaitu gula pentosa (deoksiribosa pada DNA dan ribose pada RNA), basa nitrogen dan gugus fosfat. Basa nitrogen yang menyusun asam nukleat adalah basa purin (adenin = A, guanin = G) serta basa pirimidin (sitosin = C, timin = T, urasil = U). Timin hanya terdapat pada DNA sedangkan urasil hanya terdapat pada RNA (Yuwino, 2009).

RNA (*Ribonucleic acid*) menurut Dale and Thenawijaya (1994) merupakan suatu asam ribonukleat yang terdapat dalam alur informasi genetik organisme yang berupa dogma sentral dari DNA → RNA → Protein, yaitu DNA ditranskripsi menjadi RNA, dan selanjutnya RNA ditranslasi menjadi protein. Di dalam sel terdapat tiga jenis RNA yaitu mRNA, tRNA dan rRNA. Dalam keadaan normal, RNA merupakan untaian tunggal yang pada kenyataannya dapat membentuk dupleks dengan membentuk ikatan hidrogen yang sama seperti DNA jika terdapat untaian yang komplemen dalam urutan basa nukleotidanya. Bentuk dupleks RNA akan mengakibatkan terhalangnya proses translasi sehingga sintesis protein terganggu, atau posttranscriptional gene silencing (PTGS), atau gene silencing (Agrawal, 2003; Provost, 2002).

Isolasi DNA dilakukan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak dan karbohidrat. Proses isolasi DNA terdiri atas tiga tahapan diantaranya penghancuran (lisis), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti protein dan selulosa serta pemurnian DNA. Tahap awal isolasi DNA adalah proses penghancuran membran dan dinding sel yang bertujuan untuk mengeluarkan isi sel. Penghancuran membran dan dinding sel dilakukan secara enzimatik menggunakan proteinase K atau yang lebih dikenal dengan Prot K. Prot K berfungsi melisis membran pada sel darah, mendegradasi protein globular maupun rantai polipeptida dalam komponen (Brown, 2010).

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah suatu metode *in vitro* untuk menghasilkan sejumlah besar fragmen DNA spesifik dengan panjang dan sekuens yang telah ditentukan dari jumlah kecil template kompleks. PCR didasarkan pada amplifikasi enzimatik fragmen DNA dengan menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplemen dengan ujung 5' dari rantai kedua rantai sekuens target (Anggereini, 2008). Hidayati (2016) menyatakan bahwa PCR adalah suatu proses pelipatgandaan molekul DNA secara eksponensial dilakukan secara *in vitro* dengan bantuan enzim polymerase dan oligonukleotida pendek (primer forward + primer reverse) dalam suatu mesin thermocycler. Pada proses PCR diperlukan beberapa komponen utama, yaitu DNA cetakan, oligonukleotida primer, deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), enzim DNA polymerase dan pendukung lain adalah senyawa buffer (Yusuf, 2010). Hidayati (2016), tahapan PCR terdiri dari: denaturasi yaitu proses pemisahan untai ganda menjadi single helix berkisar pada suhu di atas 90°C, annealing yaitu proses penempelan primer pada DNA target berkisar pada suhu 50-60 °C dan

elongasi/ektensi yaitu proses perpanjangan untai baru DNA dimulai dari posisi 5' menuju ujung 3' dari untai tunggal DNA dengan suhu berkisar 70-78 °C.

Metode keragaman genetik dapat digunakan untuk melakukan analisis keragaman genetik diantaranya adalah metode *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), Mikrosatelit, RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) dan sekuensing. *Restriction Fragment Length Polymorphism* yaitu suatu metode identifikasi keragaman DNA menggunakan enzim restriksi (enzim pemotong). Enzim restriksi mengikat sekuens basa spesifik yang disebut sekuens rekognisi dan setiap enzim memotong DNA pada situs pemotongan. Pada prinsipnya RFLP adalah suatu metode penentuan mutase pada sekuens DNA atau gen target menggunakan enzim restriksi yang mampu memotong sekuens DNA pada titik tertentu atau lebih dikenal dengan titik rekognisi, dimana keragaman yang muncul ditampilkan melalui pita – pita yang terbentuk dari hasil elektroforesis (Hidayati, 2016).