

LAPORAN AKHIR PENELITIAN
JURUSAN PRODUKSI TERNAK / FAKULTAS PETERNAKAN

TEMA : KETAHANAN PANGAN

KERAGAMAN KELOMPOK GEN PERTUMBUHAN (*GH, GHR, IGF-1, Leptin* DAN *Pit-1*) DAN HUBUNGANNYA DENGAN KARAKTERISTIK TUMBUH KEMBANG DAN KARKAS PADA KAMBING MARICA DAN KACANG

TIM PENELITI

Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc / 0001056304

Dr. Ir. Rr Sri Rachma Aprilita Bugiwati, M.Sc / 0025046801

Dr. Muhammad Ihsan Andi Dagong, S.Pt., M.Si / 0026057708

Drh. Kusumandari Indah Prahesti / 0015028402



UNIVERSITAS HASANUDDIN

DESEMBER 2012

ABSTRAK

Salah satu kandidat gen yang diyakini memiliki peranan penting dalam proses pertumbuhan ternak adalah gen *pituitary transcription factor 1* (Pit-1). Ekspresi gen Pit-1 sangat penting untuk beberapa proses regulasi pertumbuhan dalam tubuh ternak seperti kemampuan survival normal, differensiasi dan perkembangan tiga tipe sel adenohipofysis yakni somatotrop, laktotrop dan thyrotrop. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman gen Pit-1 pada populasi kambing lokal yang ada di Sulawesi Selatan. Total 119 sampel kambing yang terbagi atas kambing Marica, Kacang dan Peranakan Ettawa (PE) yang dikoleksi dari tiga lokasi yakni Kabupaten Jeneponto, Maros dan kota Makassar. Adapun metode yang digunakan untuk mengidentifikasi keragaman genetik gen Pit-1 dengan menggunakan teknik PCR-RFLP dengan enzim restriksi *PstI*. Frekuensi gen dan alel, heterosigositas dan kesetimbangan Hardy Weinberg pada lokus Pit-1|*PstI* dihitung dengan menggunakan software PopGen32 ver 1.3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada lokus Pit-1|*PstI* diidentifikasi dua alel dari hasil pemotongan situs enzim restriksi *PstI* yang menghasilkan dua fragmen potongan DNA dengan panjang 370 pb dan 80 pb dari panjang produk PCR awal sekitar 450 pb, alel T yang tidak terpotong (450 pb), sedangkan alel C adalah fragmen produk PCR yang terpotong oleh enzim (370 dan 80 pb). Alel T merupakan alel yang paling umum dengan frekuensi di total populasi sebesar 0.76 sedangkan alel C hanya sekitar 0.24. Sebaran alel pada populasi kambing Marica yang paling umum adalah alel T (0.95) sedangkan alel C adalah alel langka dengan frekuensi (0.05), sedangkan pada populasi Kacang dan PE frekuensi alel T masing masing adalah 0.71 dan 0.67 dan alel C masing-masing 0.29 dan 0.33. Variasi genetik yang ditemukan pada gen Pit-1 lokus *PstI* dapat digunakan dalam penelitian selanjutnya untuk mencari hubungan keragaman tersebut dengan sifat pertumbuhan dan kualitas karkas pada kambing lokal.

Kata Kunci : *Keragaman Genetik, Gen Pit-1, Lokus PstI, PCR-RFLP, Kambing Lokal*

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Umumnya kambing lokal di Sulawesi Selatan dibudidayakan untuk produksi daging dan menjadi salah satu sumber daya yang terbarukan bagi masyarakat miskin di pedesaan guna meningkatkan kesejahteraan mereka. Namun sampai saat ini, usaha untuk meningkatkan produktivitas kambing lokal belum begitu berkembang jika dibandingkan dengan ternak lainnya. Posisi kambing sebenarnya cukup strategis dan penting karena dalam dasawarsa terakhir ini permintaan daging khususnya daging sapi cenderung terus meningkat dan tidak mampu didukung oleh produksi daging sapi secara nasional sehingga daging kambing potensial untuk menjadi penyangga (substitusi) kebutuhan daging sapi. Dengan jumlah populasi sekitar 15.853.161 ekor (Ditjennak, 2010), kambing sangat potensial sebagai salah satu ternak penghasil daging untuk menunjang program swasembada daging nasional.

Beberapa kambing lokal yang ada di Sulawesi Selatan seperti Kacang dan Marica sangat potensial untuk dikembangkan dan dimanfaatkan untuk produksi daging karena kambing lokal tersebut memiliki beberapa kelebihan antara lain sifat prolifrik (kemampuan beranak kembar), resistensi tinggi terhadap parasit dan kemampuannya untuk bertahan pada lahan kering dengan kondisi pakan rumput yang minim dan kering pada musim kemarau (Pamungkas *et al*, 2009). Namun, di samping kelebihan tersebut beberapa kelemahan yang perlu diperbaiki adalah performa produksi seperti bobot badan dan laju pertumbuhan yang relatif lebih rendah jika dibandingkan dengan kambing lokal lainnya.

Kambing lokal merupakan sumber daya genetik yang potensial untuk dimanfaatkan sebagai sumber gen dalam membentuk bangsa kambing yang lebih

superior dan adaptif pada kondisi iklim lokal Indonesia, sehingga program seleksi untuk perbaikan produktivitas ternak lokal perlu mendapat prioritas utama. Ternak lokal seperti kambing Kacang dan Marica yang telah lama beradaptasi pada kondisi iklim tropik di Indonesia khususnya Sulawesi Selatan, secara genetik memiliki potensi yang unggul dan dapat dikembangkan menjadi ternak produsen daging untuk memenuhi kebutuhan nasional. Kemampuan daya tahan kambing Kacang dan Marica untuk bertahan pada kondisi pakan yang berkualitas rendah, tekanan perubahan iklim, serta parasit dan penyakit lokal merupakan sumber gen yang unik untuk mendapatkan *breed* atau bangsa kambing yang lebih unggul.

Hingga saat ini program pemuliaan dalam rangka meningkatkan kualitas genetik kambing Kacang dan Marica belum menunjukkan hasil yang signifikan, di samping itu informasi yang terkait dengan perbedaan karakteristik genetik tumbuh kembang dan sifat komponen karkas antara kambing Kacang dan Marica sampai saat ini belum tersedia sehingga program seleksi yang selama ini dilakukan belum terarah karena minimnya informasi genetik kambing tersebut.

Perkembangan teknologi dalam beberapa dekade terakhir ini telah menyebabkan revolusi dalam bidang pertanian dan peternakan. Khususnya dalam bidang pemuliaan untuk meningkatkan kemajuan genetik secara cepat melalui peningkatan intensitas seleksi. Perkembangan teknologi marker gen memungkinkan ilmuwan untuk meningkatkan ketelitian dan efisiensi metode seleksi tradisional dengan menerapkan penanda genetik yang dikenal dengan marker DNA terciri (*marker assisted selection*).

Beberapa sifat produksi pada ternak seperti performa pertumbuhan, kualitas dan kuantitas karkas, merupakan sifat yang memiliki nilai ekonomis penting pada ternak yang berada di bawah kontrol beberapa gen. Gen *Growth Hormone* (GH), *Growth*

Hormone Receptor (GHR), Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1), Leptin (LEP) dan Pituitary-1 (Pit-1) merupakan kelompok gen yang mengontrol sifat pertumbuhan pada ternak kambing. IGF-1 dan hormon pertumbuhan adalah regulator utama pertumbuhan sel somatik setelah kelahiran dan stimulasi proses anabolik. *Growth hormone receptor* (GHR) memediasi aktivitas biologi hormon pertumbuhan pada sel target (Rotwein *et al.*, 1994; Argetsinger & Carter-Su 1996). Gen leptin adalah regulator penting metabolisme energi, konsumsi pakan, pertumbuhan adiposa dan sifat reproduksi. Leptin juga terlibat dalam regulasi berat badan dan dapat dijadikan sebagai salah satu penanda biologi terbaik untuk sifat kegemukan (obesitas) pada hewan dan manusia (Oprzadek *et al.*, 2003; Munzberg *et al.*, 2005). Sedangkan Pit-1 merupakan suatu faktor transkripsi spesifik pituitary yang bertanggungjawab terhadap pengembangan pituitary dan ekspresi hormon pada mamalia (Cohen *et al.*, 1997).

Berdasarkan uraian tersebut di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi karakteristik tumbuh kembang dan keragaman beberapa kandidat gen yang mengontrol sifat performa produksi, kualitas karkas dan daging dalam rangka meningkatkan produktivitas kambing nasional.

Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini dirancang dengan tujuan antara lain untuk :

- Mengetahui keragaman (polimorfisme) genotipe dan alel gen GH/*Msp*I, GHR/*Msp*I, IGF-1/*Sna*BI, Leptin/*Hph*I, dan Pit-1/*Hinf*I, serta efek dari masing-masing genotipe terhadap karakteristik pertumbuhan (morfometrik, penambahan bobot badan) serta tumbuh kembang komponen karkas (persentase otot, lemak dan tulang), dan kualitas fisik dan kimia daging kambing Kacang dan Marica.

- Mengetahui jumlah, jenis dan frekuensi alel, heterozigositas serta frekuensi genotipe dari masing-masing gen pada populasi kambing Kacang dan Marica di Sulawesi Selatan.
- Mengetahui karakteristik genetik dan perbedaan tumbuh kembang komponen karkas (persentase otot, lemak, dan tulang) antara kambing Kacang dan Marica yang dipelihara dalam sistem produksi yang sama.

Adapun kegunaan dari penelitian ini antara lain :

- Ditemukannya penanda genetik untuk karakteristik pertumbuhan (morfometrik, penambahan bobot badan) serta tumbuh kembang komponen karkas (persentase daging, lemak dan tulang), dan kualitas fisik dan kimia daging kambing Kacang dan Marica dari beberapa kandidat gen yang dapat diaplikasi dalam program seleksi.
- Hasil penelitian ini dapat menambah wawasan ilmu pengetahuan khususnya menambah informasi karakteristik genetik dan karakteristik pertumbuhan (morfometrik, penambahan bobot badan) serta tumbuh kembang komponen karkas (persentase otot, lemak dan tulang), dan kualitas fisik dan kimia daging kambing Kacang dan Marica.
- Sebagai masukan dalam rangka perbaikan mutu genetik kambing Kacang dan Marica melalui aplikasi teknik biologi molekuler dalam program pemuliaan (breeding) untuk mempercepat tercapainya kemajuan genetik yang diinginkan.
- Dari sisi pengembangan disiplin keilmuan akan terpublikasinya hasil-hasil penelitian ini pada jurnal-jurnal ilmiah terakreditasi baik di dalam negeri (Akreditasi Nasional) maupun luar negeri (Akreditasi International).

MATERI DAN METODE

Model dan Tahapan Penelitian Tahun Pertama

Periode Pertama (Tahun I) model penelitian yang dilakukan adalah identifikasi keragaman beberapa kandidat gen yang mengontrol sifat pertumbuhan (kelompok gen pertumbuhan) seperti gen GH (Growth Hormon), GHR (Growth Hormon Receptor), IGF-1 (*Insulin-like Growth Factor-1*), Leptin dan Pit-1 (Pituitary 1). Dalam tahapan ini akan diidentifikasi pula perbedaan karakteristik kuantitatif seperti bobot badan dewasa (*mature body weight*), umur dewasa tubuh (*mature age*) kambing betina serta perbedaan morfometriknya (panjang badan, lingkaran dada, dalam dada, tinggi pundak, tinggi punggung, lebar kelangkang, panjang kelangkang, dan panjang puting).

Lokasi Pengambilan Sampel

Sampel ternak kambing untuk penelitian diambil dari tiga lokasi yakni Kabupaten Jeneponto, Maros dan Soppeng, dengan lokasi utama yang dipilih adalah Kabupaten Jeneponto. Khusus di Kabupaten Jeneponto, sampling dilakukan di tiga kecamatan yakni Kecamatan Binamu, Kelara dan Tamalatea. Sedangkan di Kabupaten Maros di Kecamatan Bontoa dan Tanralili, dan di Kabupaten Soppeng di rencanakan di Kecamatan Donri Donri dan Lalabata sedangkan data pembandingan lainnya dikoleksi dari kambing yang ada di Kota Makassar.

Pengukuran Performa dan Morfometrik Ternak Kambing

Parameter performa tubuh yang diukur antara lain adalah bobot hidup (kg), sedangkan untuk ukuran dimensi tubuh (morfometrik) yang diukur antara lain : lingkaran dada, dalam dada, panjang badan, tinggi badan, tinggi punggung, panjang kelangkang, lebar kelangkang, lebar pinggang dan panjang puting. Sedangkan untuk penentuan umur

ternak dilakukan dengan menghitung jumlah gigi seri yang berganti (I1, I2, I3, I4 dan Tua (di atas lima tahun).

Pengambilan Sampel Darah

Sebanyak 91 ekor kambing lokal dari jenis PE, Kacang dan Marica serta persilangannya yang berasal dari tiga kecamatan di Kabupaten Jeneponto (Kecamatan Kelara, Binamu dan Tamalatea). Sedangkan dari Kota Makassar untuk sementara saat ini telah diperoleh sampel sebanyak 11 ekor kambing Marica. Sedangkan dari kabupaten Maros telah terkumpul sebanyak 16 ekor dari kecamatan Bontoa serta 7 ekor dari Tanralili. Sehingga saat ini total sampel yang telah terkumpul sebanyak 125 ekor.

Pengambilan sampel darah dilakukan melalui *vena jugularis* menggunakan jarum vacutainer sebanyak 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung vacum berantikoagulan (EDTA) dan kemudian disimpan pada suhu 5 °C.

Ekstraksi DNA

DNA diisolasi dan dimurnikan dengan menggunakan Kit DNA ekstraksi **Genjet Genomic DNA Extraction** (Thermo Scientific) dengan mengikuti protokol ekstraksi yang disediakan. Sebanyak 200 µl sampel darah dilisiskan dengan menambahkan 400 µl larutan *lysis buffer* dan 20 µl proteinase K (10 mg/ml), campuran kemudian diinkubasi pada suhu 56 °C selama 60 menit di dalam *waterbath shaker*. Setelah inkubasi larutan kemudian ditambahkan 200 µl Ethanol absolute 96% dan disentrifugasi 6.000 x g selama 1 menit.

Pemurnian DNA kemudian dilakukan dengan metode *spin column* dengan penambahan 500 µl larutan pencuci *wash buffer* I yang kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi pada 8.000 x g selama 1 menit. Setelah supernatannya dibuang, DNA kemudian dicuci lagi dengan 500 µl *wash buffer* II dan disentrifugasi pada 12.000 x g

selama 3 menit. Setelah supernatan dibuang, DNA kemudian dilarutkan dalam 200 μ l *elution buffer* dan disentrifugasi pada 8.000 x g untuk selanjutnya DNA hasil ekstraksi ditampung dan disimpan pada suhu -20°C .

Amplifikasi lokus kelompok gen pertumbuhan

Amplifikasi lokus kelompok gen pertumbuhan (GH, GHR, IGF-1, Pit-1 dan Leptin) dilakukan dengan terlebih dahulu mendesain primer yang masing-masing bertujuan untuk mengamplifikasi gen target. Adapun pasang primer (primer set) untuk masing-masing gen tersebut adalah sebagai berikut :

No.	Primer	Sekuens Primer	Produk	Enzim RE
1.	Pit-1 (F)	5'-CCATCATCTCCCTTCTT-3'	450 bp	<i>AluI</i> & <i>PstI</i>
	Pit-1 (R)	5'-AATGTACAATGTCCTTCTGAG-3'		
2.	GHR (F)	5'-GCCCAGAGAAACAGCATTCTA-3'	439 bp	<i>MspI</i>
	GHR (R)	5'-TCACTGCCATATTTCCAGCATC-3'		
3.	IGF-1 (F)	5'-ATTACAAAGCTGCCTGCCCC-3'	249 bp	<i>SnaBI</i>
	IGF-1 (R)	5'-ACCTTACCCGTATGAAAGGAATATACGT-3'		
4.	GH (F)	5'-TCAGCAGAGTCTTCACCAAC-3'	116 bp	<i>MspI</i>
	GH (R)	5'-CAACAACGCCATCCTCAC-3'		
5.	Leptin(F)	5'-GAGGCAAAGGGCAGGGTGGTT-3'	331 bp	<i>HphI</i>
	Leptin(R)	5'-CCGGTGGGCGTGAATC-3'		

Amplifikasi lokus gen Pit-1

Fragmen gen Pit-1 kambing diidentifikasi dengan menggunakan metode PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism*). Fragmen exon 6 diamplifikasi dengan runutan primer F:5'-CCATCATCTCCCTTCTT-3' dan primer R: 5'-AATGTACAATGTCCTTCTGAG-3' berdasarkan Feng *et al.* (2012) dengan prediksi panjang produk PCR sekitar 450 bp.

Sampel DNA dari masing-masing individu digunakan sebagai cetakan untuk mengamplifikasi lokus gen Pit-1 melalui reaksi PCR dengan sekuen nukleotida pengait masing-masing (Primer Forward dan Reverse). Amplifikasi dilakukan dengan PCR dikondisikan pada volume reaksi 25 µl yang terdiri atas 50 - 100 ng DNA template, 0.25 µM primer, 150 µM dNTP (Fermentas), 2.5 mM Mg²⁺, 0.5 U *Taq DNA polymerase* (Fermentas) dan 1x buffer. Kondisi mesin PCR dimulai dengan denaturasi awal pada suhu 94°C selama 5 menit, diikuti dengan 35 siklus berikutnya masing-masing 94°C selama 30 detik (tahap denaturasi), 54.5°C selama 45 detik (tahap annealing), 72°C selama 45 detik (tahap ekstensi), yang diakhiri dengan satu siklus ekstensi akhir pada suhu 72°C 5 menit dengan menggunakan mesin PCR (Labcyler SensoQuest). Produk PCR kemudian dielektroforesis pada gel agarose 1.5%, dengan buffer 1x TBE yang mengandung 200 ng/ml *ethidium bromide* dan divisualisasi pada UV transiluminator.

Produk PCR kemudian dipotong dengan menggunakan enzim restriksi *AluI* dan *PstI* berdasarkan rekomendasi yang disediakan (Fermentas). Produk RFLP kemudian diidentifikasi genotipenya (pola pita restriksinya) dengan dielektroforesis pada gel agarose 2%, dengan buffer 1x TBE yang mengandung 200 ng/ml *ethidium bromide* dan divisualisasi pada UV transiluminator. Enzim restriksi *AluI* mengenali situs restriksi AG*CT, sedangkan enzim restriksi *PstI* mengenali situs restriksi CTGCA*G.

Analisis Statistik

Analisis data molekuler lokus kelompok gen pertumbuhan pada populasi kambing sampel meliputi frekuensi alel dan genotipe, keseimbangan Hardy-Weinberg, nilai heterosigositas meliputi heterosigositas pengamatan (H_o) dan heterosigositas harapan (H_e). Sedangkan untuk data performa (bobot badan dan morfometrik) di analisis dengan uji t dengan menggunakan program SPSS ver. 17.

Frekuensi Alel

Frekuensi alel untuk setiap lokus dihitung menurut Nei dan Kumar (2000) dengan formula sebagai berikut :

$$= \frac{(2N_{11} + N_{12})}{2}$$

Keterangan :

- x_1 = frekuensi alel ke-1
- N_{11} = jumlah genotype A_1A_1
- N_{12} = jumlah genotype A_1A_2

Keseimbangan Hardy-Weinberg

Keseimbangan Hardy-Weinberg diuji dengan chi-square (X^2) menurut Hartl (1988), sebagai berikut :

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

- X^2 = nilai uji chi-square
- O = Jumlah pengamatan genotipe ke-i
- E = Jumlah harapan genotipe ke-i

Nilai Heterozigositas Pengamatan (H_o)

Nilai heterosigositas teramati (H_o) dan heterosigositas harapan (H_e) dapat digunakan untuk menduga nilai koefisien *inbreeding* pada suatu kelompok ternak.

Perhitungan nilai H_o dan H_e dilakukan menurut Hartl (1988) dengan formula sebagai berikut :

$$= \frac{N}{N}$$

Keterangan :

H_o = heterosigositas pengamatan

N = Jumlah individu heterosigot pada lokus ke-1

N = jumlah individdu yang diamati

Nilai Heterozigositas Harapan (H_e)

$$= 1 -$$

Keterangan :

= heterosigositas harapan

P_{li} = frekuensi alel ke-I pada lokus ke-1

n = jumlah alel pada lokus-1

HASIL DAN PEMBAHASAN

Data Performa kambing Kacang, Marica dan PE

Data performa kambing Kacang, PE dan Marica dari hasil sampling berdasarkan kelompok umur disajikan pada table berikut :

Tabel 1. Rataan (\pm Std) dan perbedaan performa bobot badan (kg) kambing Kacang, Marica dan PE berdasarkan kelompok umur

Umur (tahun)	Bangsa Kambing					
	Marica (n)	KK	Kacang (n)	KK	P.E (n)	KK
1	11.4 \pm 3.15 ^a (15)	27.63	14.5 \pm 4.94 ^a (2)	34.07	22.7 \pm 5.30 ^b (2)	23.35
2	18.5 \pm 3.18 ^a (3)	17.19	20.0 \pm 6.08 ^a (3)	30.40	26.9 \pm 6.48 ^a (11)	24.09
3	28.5 \pm 2.12 ^a (2)	7.44	36.2 \pm 7.79 ^a (16)	21.52	31.9 \pm 9.65 ^a (13)	30.25
4	26.0 \pm 0.00 ^a (2)	0.00	35.9 \pm 9.94 ^a (18)	27.69	38.1 \pm 6.26 ^a (11)	16.43
5	41.0 \pm 0.00 (1)	0.00	35.6 \pm 8.30 (11)	23.31	45.7 \pm 12.34 (3)	27.00

Keterangan : n = jumlah sampel, KK = Koefisien Keragaman

Huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0.05$)

Dari hasil olah data performa bobot badan menunjukkan bahwa bobot badan kambing Marica pada beberapa kelompok umur berbeda umumnya tidak berbeda dengan kambing kacang namun lebih rendah jika dibandingkan dengan parameter yang sama pada kambing PE. Faktor lingkungan dan daya adaptasi diduga menjadi penyebab kecilnya ukuran dimensi tubuh kambing Marica lebih kecil pada usia dewasa. Namun simpulan tersebut tentunya masih terlalu awal untuk mendeskripsikan kambing Marica mengingat jumlah sampel (n) kambing Marica yang masih terlalu sedikit.

Kambing Marica merupakan salah satu kambing lokal khas Sulawesi Selatan yang telah lama beradaptasi dengan kondisi agroklimat daerah ini. Salah satu kelebihan yang dimiliki oleh kambing ini adalah sifat prolifrik (kemampuan beranak kembar), resistensi tinggi terhadap parasit dan kemampuannya untuk bertahan pada lahan kering dengan kondisi pakan rumput yang minim dan kering pada musim kemarau (Pamungkas *et al*, 2009). Namun salah satu kelemahan dari kambing Marica yang perlu diperbaiki

adalah performa bobot badan dan laju pertumbuhan yang relatif lebih rendah jika dibandingkan dengan kambing lokal lainnya.

Tabel 2. Rataan (\pm Std) dan perbedaan ukuran tinggi pundak (cm) kambing Kacang, Marica dan PE berdasarkan kelompok umur

Umur (tahun)	Bangsa Kambing					
	Marica (n)	KK	Kacang (n)	KK	P.E (n)	KK
1	46.3 \pm 4.32 ^a (15)	9.33	50.4 \pm 5.09 ^{ab} (2)	10.10	56.8 \pm 0.28 ^b (2)	0.49
2	50.2 \pm 2.50 ^a (3)	4.98	52.8 \pm 7.35 ^{ab} (3)	13.92	57.6 \pm 3.47 ^b (11)	6.02
3	59.5 \pm 0.42 ^a (2)	0.71	59.9 \pm 5.13 ^a (16)	8.56	60.2 \pm 4.46 ^a (13)	7.41
4	48.1 \pm 1.27 ^a (2)	2.64	59.2 \pm 4.04 ^b (18)	6.82	63.8 \pm 4.19 ^c (11)	6.57
5	62.2 \pm 0.00 (1)	0.00	63.5 \pm 2.80 (11)	4.41	66.3 \pm 3.18 (3)	4.80

Keterangan : n = jumlah sampel, KK = Koefisien Keragaman

Huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0.05$)

Dari hasil olah data ukuran tinggi pundak menunjukkan bahwa performa kambing Marica pada beberapa kelompok umur berbeda umumnya tidak berbeda dengan kambing kacang namun lebih rendah jika dibandingkan dengan parameter yang sama pada kambing PE.

Kambing Marica yang terdapat di provinsi Sulawesi Selatan merupakan salah satu genotipe kambing asli Indonesia yang menurut laporan FAO sudah termasuk kategori langka dan hampir punah (*endangered*). Daerah populasi dan penyebaran kambing Marica dapat dijumpai di sekitar Kabupaten Maros, Kabupaten Jeneponto, Kabupaten Soppeng dan daerah Makassar, Sulawesi Selatan (Pamungkas *et al.*, 2009).

Tabel 3. Rataan (\pm Std) dan perbedaan ukuran tinggi punggung (cm) kambing Kacang, Marica dan PE berdasarkan kelompok umur

Umur (tahun)	Bangsa Kambing					
	Marica (n)	KK	Kacang (n)	KK	P.E (n)	KK
1	49.6 \pm 3.46 ^a (15)	6.98	51.7 \pm 7.49 ^{ab} (2)	14.49	58.5 \pm 2.12 ^b (2)	3.62
2	55.7 \pm 1.44 ^a (3)	2.59	54.3 \pm 7.96 ^a (3)	14.66	61.2 \pm 2.85 ^b (11)	4.66
3	58.2 \pm 0.56 ^a (2)	0.96	61.5 \pm 4.06 ^a (16)	6.60	63.2 \pm 3.82 ^a (13)	6.04
4	53.9 \pm 3.25 ^a (2)	6.03	60.5 \pm 3.90 ^b (18)	6.45	64.9 \pm 2.75 ^c (11)	4.24
5	59.8 \pm 0.00 (1)	0.00	64.0 \pm 3.51 (11)	5.48	67.9 \pm 1.90 (3)	2.80

Keterangan : n = jumlah sampel, KK = Koefisien Keragaman

Huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0.05$)

Dari hasil olah data menunjukkan ukuran tinggi punggung pada kambing Marica pada umur satu tahun sampai tiga tahun tidak berbeda dengan kambing kacang namun berbeda nyata jika dibandingkan dengan parameter yang sama pada kambing PE.

Tabel 4. Rataan (\pm Std) dan perbedaan ukuran panjang badan (cm) kambing Kacang, Marica dan PE berdasarkan kelompok umur

Umur (tahun)	Bangsa Kambing					
	Marica (n)	KK	Kacang (n)	KK	P.E (n)	KK
1	49.0 \pm 7.24 ^a (15)	14.78	47.3 \pm 7.49 ^a (2)	15.84	50.1 \pm 1.83 ^a (2)	3.65
2	54.1 \pm 6.21 ^a (3)	11.48	54.8 \pm 2.35 ^a (3)	4.29	54.1 \pm 4.12 ^a (11)	7.62
3	65.1 \pm 0.14 ^a (2)	0.22	60.9 \pm 5.74 ^a (16)	9.43	56.6 \pm 5.97 ^a (13)	10.55
4	55.8 \pm 1.41 ^a (2)	2.53	60.4 \pm 6.06 ^a (18)	10.03	61.6 \pm 3.13 ^a (11)	5.08
5	57.8 \pm 0.00 (1)	0.00	61.1 \pm 5.25 (11)	8.59	67.3 \pm 4.24 (3)	6.30

Keterangan : n = jumlah sampel, KK = Koefisien Keragaman

Huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0.05$)

Dari hasil olah data menunjukkan ukuran panjang badan pada kambing Marica pada umur satu tahun sampai tiga tahun tidak berbeda dengan kambing kacang dan PE.

Tabel 5. Rataan (\pm Std) dan perbedaan ukuran dalam dada (cm) kambing Kacang, Marica dan PE berdasarkan kelompok umur

Umur (tahun)	Bangsa Kambing					
	Marica (n)	KK	Kacang (n)	KK	P.E (n)	KK
1	21.2 \pm 5.80 ^a (15)	27.36	21.1 \pm 1.55 ^a (2)	7.35	24.1 \pm 0.14 ^a (2)	0.58
2	25.7 \pm 5.51 ^a (3)	21.44	28.7 \pm 8.90 ^a (3)	31.01	24.7 \pm 2.90 ^a (11)	11.74
3	27.8 \pm 0.84 ^a (2)	3.02	28.6 \pm 5.18 ^a (16)	18.11	25.1 \pm 1.49 ^b (13)	5.94
4	23.7 \pm 0.14 ^a (2)	0.59	26.5 \pm 2.49 ^a (18)	9.40	26.2 \pm 2.05 ^a (11)	7.82
5	28.6 \pm 0.00 (1)	0.00	27.8 \pm 0.73 (11)	2.63	28.8 \pm 0.91 (3)	3.16

Keterangan = n = jumlah sampel, KK = Koefisien Keragaman

Huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0.05$)

Dari hasil olah data menunjukkan ukuran dalam dada pada kambing Marica pada umur satu tahun sampai tiga tahun tidak berbeda dengan kambing kacang dan PE.

Tabel 6. Rataan (\pm Std) dan perbedaan ukuran lebar pinggang (cm) kambing Kacang, Marica dan PE berdasarkan kelompok umur

Umur (tahun)	Bangsa Kambing					
	Marica (n)	KK	Kacang (n)	KK	P.E (n)	KK
1	10.0 \pm 1.41 ^a (15)	14.10	10.5 \pm 3.53 ^{ab} (2)	33.62	13.0 \pm 0.00 ^b (2)	0.00
2	13.3 \pm 1.15 ^a (3)	8.65	11.3 \pm 3.78 ^a (3)	33.45	12.8 \pm 1.25 ^a (11)	9.77
3	13.5 \pm 0.70 ^a (2)	5.19	14.4 \pm 1.40 ^a (16)	9.72	13.6 \pm 1.04 ^a (13)	7.65
4	13.0 \pm 0.00 ^a (2)	0.00	13.4 \pm 1.61 ^a (18)	12.01	13.9 \pm 1.57 ^a (11)	11.29
5	15.0 \pm 0.00 (1)	0.00	15.0 \pm 1.61 (11)	10.73	15.3 \pm 1.15 (3)	7.52

Keterangan = n = jumlah sampel, KK = Koefisien Keragaman

Huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0.05)

Dari hasil olah data menunjukkan ukuran lebar pinggang pada kambing Marica pada umur satu tahun sampai tiga tahun tidak berbeda dengan kambing kacang dan PE.

Tabel 7. Rataan (\pm Std) dan perbedaan ukuran lebar kelangkang (cm) kambing Kacang, Marica dan PE berdasarkan kelompok umur

Umur (tahun)	Bangsa Kambing					
	Marica (n)	KK	Kacang (n)	KK	P.E (n)	KK
1	14.1 \pm 1.68 ^a (15)	11.91	14.0 \pm 2.82 ^a (2)	20.14	16.0 \pm 0.00 ^a (2)	0.00
2	18.3 \pm 2.08 ^a (3)	11.37	14.7 \pm 4.16 ^b (3)	28.30	18.2 \pm 1.25 ^c (11)	6.87
3	17.5 \pm 0.70 ^a (2)	4.00	18.3 \pm 1.98 ^a (16)	10.82	18.2 \pm 1.87 ^a (13)	10.27
4	16.5 \pm 0.70 ^a (2)	4.24	16.2 \pm 2.66 ^a (18)	16.42	19.3 \pm 1.90 ^b (11)	9.84
5	19.0 \pm 0.00 (1)	0.00	18.0 \pm 2.32 (11)	12.89	21.0 \pm 1.73 (3)	8.24

Keterangan = n = jumlah sampel, KK = Koefisien Keragaman

Huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0.05)

Dari hasil olah data menunjukkan ukuran lebar kelangkang pada kambing Marica pada umur satu tahun sampai tiga tahun tidak berbeda dengan kambing kacang dan PE.

Tabel 8. Rataan (\pm Std) dan perbedaan ukuran panjang kelangkang (cm) kambing Kacang, Marica dan PE berdasarkan kelompok umur

Umur (tahun)	Bangsa Kambing					
	Marica (n)	KK	Kacang (n)	KK	P.E (n)	KK
1	10.2 \pm 0.77 ^a (15)	7.55	10.5 \pm 2.12 ^{ab} (2)	20.19	12.0 \pm 0.00 ^b (2)	0.00
2	12.3 \pm 0.57 ^a (3)	4.63	11.3 \pm 1.15 ^a (3)	10.18	13.5 \pm 1.29 ^b (11)	9.56
3	12.5 \pm 0.70 ^a (2)	5.60	14.0 \pm 1.03 ^a (16)	7.36	13.3 \pm 1.10 ^a (13)	8.27
4	12.0 \pm 0.00 ^a (2)	0.00	14.2 \pm 1.33 ^b (18)	9.37	15.2 \pm 1.25 ^c (11)	8.22
5	14.0 \pm 0.00 (1)	0.00	14.4 \pm 0.67 (11)	4.65	14.7 \pm 1.15 (3)	7.82

Keterangan = n = jumlah sampel, KK = Koefisien Keragaman

Tabel 9. Rataan (\pm Std) dan perbedaan ukuran lingkaran dada (cm) kambing Kacang, Marica dan PE berdasarkan kelompok umur

Umur (tahun)	Bangsa Kambing					
	Marica (n)	KK	Kacang (n)	KK	P.E (n)	KK
1	52.6 \pm 5.09 ^a (15)	9.68	57.5 \pm 6.36 ^{ab} (2)	11.06	61.0 \pm 1.41 ^b (2)	2.31
2	62.3 \pm 1.15 ^a (3)	1.85	59.6 \pm 8.73 ^a (3)	14.65	65.9 \pm 3.04 ^b (11)	4.61
3	72.0 \pm 2.82 ^a (2)	3.92	72.7 \pm 5.13 ^a (16)	7.06	67.0 \pm 4.77 ^b (13)	7.12
4	64.5 \pm 0.70 ^a (2)	1.09	72.2 \pm 6.35 ^a (18)	8.80	72.4 \pm 4.94 ^a (11)	6.82
5	78.0 \pm 0.00 (1)	0.00	76.3 \pm 5.06 (11)	6.63	77.7 \pm 6.80 (3)	8.75

Keterangan = n = jumlah sampel, KK = Koefisien Keragaman

Huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0.05)

Tabel 10. Rataan (\pm Std) dan perbedaan ukuran panjang puting (cm) kambing Kacang, Marica dan PE berdasarkan kelompok umur

Umur (tahun)	Bangsa Kambing					
	Marica (n)	KK	Kacang (n)	KK	P.E (n)	KK
1	1.47 \pm 0.44 ^a (15)	29.93	1.25 \pm 0.35 ^a (2)	28.00	2.5 \pm 0.70 ^b (2)	28.00
2	2.7 \pm 0.57 ^a (3)	21.11	1.83 \pm 1.25 ^a (3)	68.31	3.1 \pm 0.70 ^b (11)	22.58
3	3.0 \pm 0.00 ^a (2)	0.00	3.4 \pm 0.75 ^a (16)	22.06	3.5 \pm 0.64 ^a (13)	18.29
4	3.5 \pm 0.70 ^a (2)	20.00	3.53 \pm 1.11 ^a (18)	31.44	3.4 \pm 0.83 ^a (11)	24.41
5	3.0 \pm 0.00 (1)	0.00	3.4 \pm 0.80 (11)	23.53	5.0 \pm 2.00 (3)	40.00

Keterangan = n = jumlah sampel, KK = Koefisien Keragaman

Huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0.05)

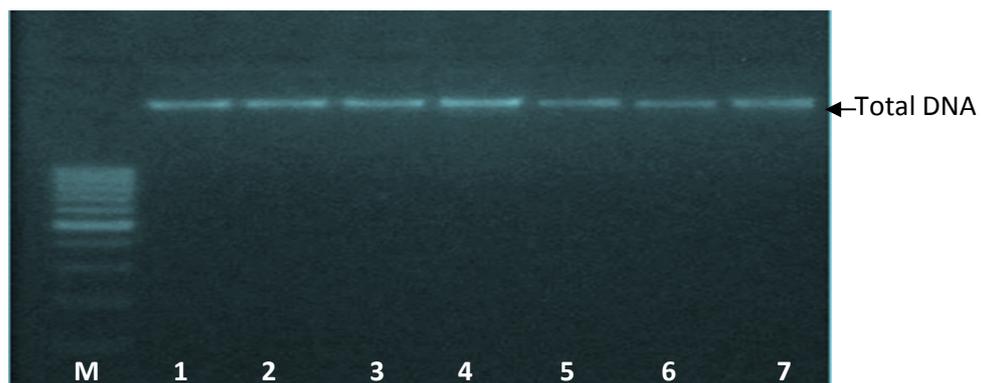
Perbedaan Morfologi Kambing Kacang dan Marica

Karakteristik morfologi kambing Marica hampir mirip dengan kambing Kacang, namun ada perbedaan yaitu penampilan tubuh yang lebih kecil di banding Kacang, telinga berdiri menghadap samping arah ke depan, serta tanduk yang relatif kecil dan pendek. Kambing Marica mempunyai potensi genetik yang mampu beradaptasi baik di daerah agro-ekosistem lahan kering, dengan curah hujan sepanjang tahun yang sangat rendah. Kambing Marica juga dapat bertahan hidup pada musim kemarau walau hanya memakan rumput-rumput kering di daerah tanah berbatu-batu. Berdasarkan karakteristik morfologi dan analisis filogeni di antara kambing lokal yang

ada di Indonesia, kambing Marica memiliki jarak genetik paling dekat dengan kambing Samosir dari Sumatera Utara (Batubara *et al.*, 2011).

Hasil Ekstraksi DNA

Hasil ekstraksi DNA dengan menggunakan kit DNA ekstraksi yang diidentifikasi pada gel agarose 1.5% disajikan pada gambar 1. Hasil visualisasi kualitas DNA kambing yang dihasilkan menunjukkan kualitas DNA yang cukup bagus. Untuk selanjutnya mengetahui kualitas dan kuantitas DNA yang dihasilkan maka DNA tersebut kemudian akan dianalisis ulang dengan menggunakan uv-vis spectrophotometer untuk menentukan berapa kuantitas total DNA yang dihasilkan dalam proses ekstraksi.



Gambar 1. Foto gel DNA hasil ekstraksi dengan Kit genomic DNA extraction. M = marker DNA ladder 100 pb. Baris 1 – 7 = Produk DNA dari sampel darah kambing.

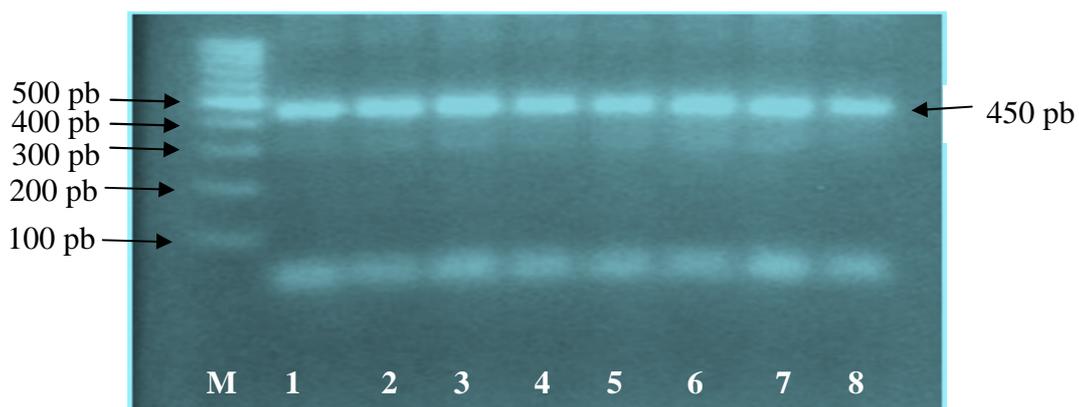
Total sampel darah kambing yang telah berhasil diekstraksi DNA totalnya sebanyak 102 sampel (91 sampel dari Kab. Jeneponto dan 11 sampel dari Kota Makassar). Total target sampel yang direncanakan dalam penelitian ini adalah 150 sampel, namun sampel tersebut direncanakan tersebar pada beberapa populasi (3 populasi yakni Kab. Jeneponto, Maros dan Enrekang). Saat ini sampel yang tersedia baru dari satu daerah yakni Kab. Jeneponto. Perencanaan sampling ke Kab. Maros dan

Enrekang akan segera dilaksanakan. Khusus di daerah Maros (Kecamatan Tanralili) yang merupakan sentra kambing Marica maka sampling akan difokuskan pada kambing Marica yang jumlah sampel koleksi masih relative minim. Sedangkan di Kab. Enrekang akan fokus pada pengambilan sampel kambing Kacang dan PE sebagai populasi kambing lokal pembanding.

Amplifikasi gen *Pituitary Transcription Factor 1 (Pit-1)*

Pasangan primer yang digunakan berdasarkan Feng *et al*, (2012) dan Lan *et al*, (2009) yang didesain untuk mengamplifikasi daerah ekson 6 dan sebagian ujung 3'UTR dari gen Pit-1 pada kambing, dengan prediksi panjang produk PCR sekitar 450 pasang basa (pb).

Dengan menggunakan sepasang primer reaksi PCR berhasil dilakukan pada sampel DNA yang berasal dari darah kambing dan mengamplifikasi gen Pit-1 ekson 6 dengan menghasilkan produk PCR sesuai yang diprediksi yaitu dengan panjang sekitar 450 pb. Hasil visualisasi produk PCR pada gel agarose 1.5% disajikan pada gambar 2.



Gambar 2. Hasil produk PCR gen Pit-1 dengan panjang produk 450 pb. M = marker DNA ladder 100 pb. Baris 1 – 8 = produk PCR sampel kambing.

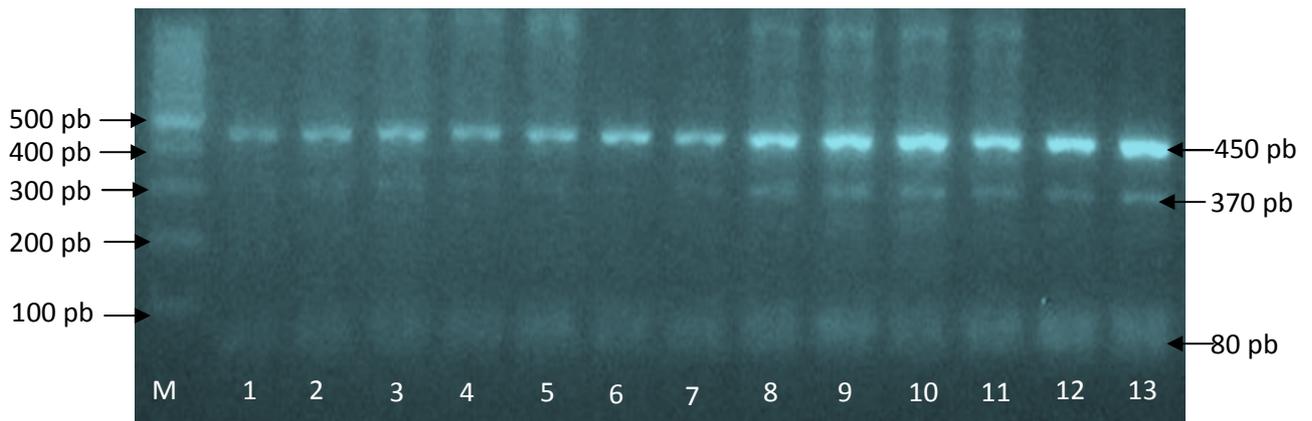
Gen *pituitary transcription factor 1* (Pit-1) merupakan salah satu kandidat gen yang diyakini memiliki peranan penting dalam proses pertumbuhan ternak. Gen Pit-1 atau disebut juga GHF-1 (*growth hormone factor 1*) terletak di kromosom 1 baik pada sapi, kambing dan domba dan terdiri atas 6 exon (Woollard *et al.*, 2000).

Ekspresi gen Pit-1 sangat penting untuk beberap proses regulasi pertumbuhan dalam tubuh ternak seperti kemampuan survival normal, differensiasi dan perkembangan tiga tipe sel adenohypophysis yakni somatotrop, laktotrop dan thyrotrop (Li *et al.*, 1990; Simmons *et al.*, 1990). Dan gen Pit-1 ini merupakan regulator positif untuk beberapa faktor pertumbuhan seperti hormone pertumbuhan (GH), prolaktin dan hormone thyroid stimulating (TSH) dan hormone pituitary sendiri (Cohen *et al.*, 1997).

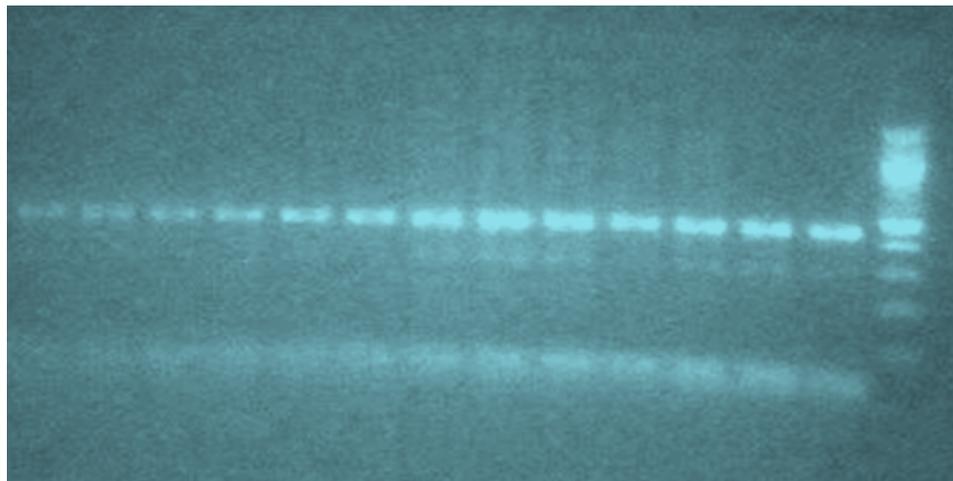
PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*)

Lokus Gen Pituitary Transcription Factor 1 (Pit-1|PstI)

Hasil pemotongan produk PCR gen Pit-1 pada daerah ekson 6 dengan menggunakan enzim restriksi *PstI* disajikan pada gambar 2. Hasil identifikasi genotype dengan menggunakan enzim restriksi *PstI* juga menunjukkan hasil yang seragam dengan pola pita produk yang tidak terpotong (tetap dengan panjang 450 pb), hal ini mengindikasikan bahwa runutan DNA pada lokus gen Pit-1 tidak terdapat situs restriksi yang dikenali oleh enzim *PstI*. Berdasarkan hasil yang dilaporkan oleh Lan *et al.*, (2009), pada daerah ekson 6 gen Pit-1 pada kambing diidentifikasi polimorfisme pada daerah ekson 6 dan 3'UTRnya dengan menghasilkan dua pola pita restriksi yaitu 370 pb dan 80 pb dan dilaporkan diidentifikasi ada dua macam genotype yakni TT (450 pb atau tidak terpotong) dan TC (450/370/80 pb).



Gambar 3. Pola pita hasil pemotongan produk PCR dengan menggunakan enzim restriksi *PstI* (Pit-1|*PstI*). M = marker DNA ladder 100 pb. Baris 1 dan 6 = genotype TT (450 bp alel T tidak terpotong). Baris 2 - 5 dan 7 - 13 = genotype TC (Alel C terpotong pada posisi 370 bp dan 80 bp)



Gambar 4. Pola pita hasil pemotongan produk PCR dengan menggunakan enzim restriksi *PstI* (Pit-1|*PstI*). M = marker DNA ladder 100 pb. Baris 1 dan 6 = genotype TT (450 bp alel T tidak terpotong). Baris 2 - 5 dan 7 - 13 = genotype TC (Alel C terpotong pada posisi 370 bp dan 80 bp)

Analisis Sekuens gen Pit-1

```

      10      20      30      40      50      60      70
Alel C  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
Alel T  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
CCATCATCTC CCTTCTTCTT TCCTGCCAAC TCCCCACCTC CCAGTATTGC TGCTAAAGAC GCCCTGGAGA

      80      90      100     110     120     130     140
Alel C  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
Alel T  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
GACACITTGG AGAACAGAAT AAGCCTTCTT CGCAGGAGAT CCTGAGGATG GCTGAAGAAC TAAACCTGGA

      150     160     170     180     190     200     210
Alel C  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
Alel T  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
GAAAGAAGTG GTGAGGGTTT GGTTTTGTAA CCGAAGACAG AGAGAAAAAC GGGTGAAAAC AAGCCTGAAT

      220     230     240     250     260     270     280
Alel C  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
Alel T  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
CAGAGTTTAT TTCCTATCTC TAAGGAGCAT CITGAATGCA GATAGGTCTC CCATTGTGTA ATAGCGAGTT

      290     300     310     320     330     340     350
Alel C  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
Alel T  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
TTTCTGCTTT TCTTCCCTT CTCTTCTCCA GCCAAAGTAG AAATCAGTTA TTTGGTTAGC TTCCAAACGT

      360     370     380     390     400     410     420
Alel C  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
Alel T  .....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
CACATCAGTA ATGTCTGCAG AAGTGTITCT CTCTACTTT AAAAAACAAT ACAATTTAAA TTATGTTGAT

      430     440     450
Alel C  .....|.....|.....|
Alel T  .....|.....|.....|
GAATTATTCT CAGAAGGCAC ATTGTACATT

```

Gambar 5. Perbedaan sekuens antara alel T dan C pada daerah ekson 6 pada gen Pit-1 lokus PstI

Keragaman gen Pit-1 pada populasi kambing lokal

Berdasarkan hasil perhitungan frekuensi gen Pit-1 pada lokus PstI yang umum ditemukan adalah genotip TT dengan frekuensi di populasi sebesar 0.53 sedangkan genotype TC hanya sebesar 0.47. Sedangkan genotype CC tidak ditemukan dalam populasi, kemungkinan tidak ditemukannya genotype CC kemungkinan disebabkan oleh genotype CC (alel C) mengalami genetic drift, langkanya genotype CC juga ditemukan pada populasi kambing di China seperti yang dilaporkan oleh Lan *et al* (2009).

Tabel 11. Frekuensi genotype dan alel gen Pit-1 lokus *PstI* pada populasi kambing lokal di Sulsel.

Jenis Kambing	n	Genotype Pit-1 <i>PstI</i>			Alel Pit-1 <i>PstI</i>	
		TT (n)	TC (n)	CC (n)	T	C
Kacang	21	0.43 (9)	0.57 (12)	0	0.71	0.29
PE	31	0.36 (11)	0.64 (20)	0	0.67	0.33
Marica	20	0.90 (18)	0.10 (2)	0	0.95	0.05
Total	72	0.53 (38)	0.47(34)	0	0.76	0.24

Keterangan = n (jumlah sampel)

Nilai heterosigositas harapan dan pengamatan gen Pit-1 pada populasi kambing Kacang dan PE cukup tinggi dengan nilai 0.571 dan 0.645 masing masing, sedangkan pada populasi kambing Marica nilai heterosigositasnya cukup rendah dengan nilai hanya 0.100, hal tersebut menunjukkan bahwa keragaman genetic pada populasi kambing Kacang dan PE cukup tinggi sedangkan pada kambing Marica keragamannya rendah.

Tabel 12. Heterosigositas harapan dan pengamatan gen Pit-1

Jenis Kambing	n	Heterozigositas			Rata-rata
		Ho	He	Nei**	
Kacang	21	0.571	0.418	0.408	0.313
PE	31	0.645	0.444	0.437	
Marica	20	0.100	0.097	0.095	
Total	72	0.472	0.363	0.360	

Keterangan = n (jumlah sampel), Nei's (1973) expected heterozygosity

KESIMPULAN

Keragaman gen Pit-1 pada kambing lokal yang diidentifikasi pada lokus enzim restriksi *PstI* rendah karena hanya ditemukan dua macam genotype yakni genotype TT dan TC (dua alel yakni alel T dan C). Namun jika jumlah sampel dan penyebaran

lokasi yang ditambah maka kemungkinan besar akan diidentifikasi jenis alel baru atau genotype baru.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai melalui kegiatan penelitian Hibah Bebas Program Studi dari dana DIPA Universitas Hasanuddin Tahun Anggaran 2012. Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Dinas Pertanian Bidang Peternakan Kabupaten Jenepono dan Dinas Pertanian dan Peternakan Kabupaten Maros yang telah memfasilitasi dan membantu dalam pengambilan sampel darah kambing.

DAFTAR PUSTAKA

- Argetsinger, L. S., and C. Carter-Su. 1996. Mechanism of signaling by growth hormone receptor. *Physiol. Rev.*76:1089–1107.
- Batubara, A., R.R. Noor, A. Farajallah, B. Tiesnamurti and M. Doloksaribu. 2011. Morphometric and phylogenetic analysis of six population Indonesian local goats. *Med. Pet.* 34 : 165 – 174.
- Cohen, L. E., F. E. Wondisford, and S. Radovick. 1997. Role of pit-1 in the gene expression of growth hormone, prolactin, and thyrotropin. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* 25:523–540
- [Ditjennak] Direktorat Jenderal Peternakan. 2010. *Buku Statistik Peternakan*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Feng T., M.X. Chu, G.L. Cao, Q.Q. Tang, R. Di, L. Fang and N. Li. 2012. Polymorphisms of caprine POU1F1 gene and their association with litter size in Jining Grey goats. *Mol. Biol. Rep* 39 : 4029 – 4038.
- Hartl, D.L. 1988. *Principle of Population Genetic*. Sunderland : Sinauer Associates, Inc. Publisher.
- Lan, X.Y., J.H. Shu, H. Chen, C.Y. Pan, C.Z. Lei, X. Wang, S.Q. Liu and Y.B. Zhang. 2009. A *Pst*I polymorphism at 3' UTR of goat POU1F1 gene and its effect on cashmere production. *Mol Biol Rep* 36 : 1371 – 1374.

- Li S., E.B. Crenshaw, E.J. Rawson, D.M. Simmons, L.W. Swanson and M.G. Rosenfeld. 1990. Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutation in the POU-domain gene Pit-1. *Nature* 347 : 528 – 533.
- Münzberg H., M. Björholm, S.H. Bates, M.G. Myers. 2005. Leptin receptor action and mechanisms of leptin resistance. *Cell Mol Life Sci.* 62 : 642-52.
- Nei, M and S. Kumar. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. New York : Oxford University Press.
- Pamungkas, F.A., A. Batubara, M. Doloksaribu dan E. Sihite. 2009. Petunjuk Teknis Potensi Beberapa Plasma Nutfah Kambing Lokal Indonesia. Puslitbangnak. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Rotwein, P., A. M. Gronowski, and M. J. Thomas. 1994. Rapid nuclear actions of growth hormone. *Horm. Res.*42:170–175.
- Oprzadek, J., K. Flisikowski, L. Zwierzchowski and E. Dymnicki. 2003. Polymorphisms at loci of leptin (LEP), Pit-1, and STAT5A and their association with growth, feed conversion and carcass quality in Black and White bulls. *Anim. Sci. Papers Rep.* 21: 135-145.
- Simmons DM., J.W. Voss and H.A. Ingraham. 1990. Pituitary cell phenotypes involve cell specific Pit-1 mRNA translation and synergistic interaction with other classes of transcription factors. *Genes Dev* 4 : 695 – 711.
- Woollard J, C.K. Tuggle, F.A. Ponce de Leon. 2000. Localization of POU1F1 to bovine, ovine and caprine 1q21-22. *J. Anim Sci* 78 : 242 – 243.

LAMPIRAN

FOTO KEGIATAN PENGAMBILAN SAMPEL DI LAPANGAN



Pengukuran Morfometrik (Dimensi Tubuh) Kambing di Jeneponto



Pengukuran Morfometrik (Dimensi Tubuh) Kambing di Jeneponto



Pengukuran Bobot Hidup dan Pengambilan Sampel Darah



Profil Ternak Kambing Kacang di Kab. Jeneponto



Profil Ternak Kambing Marica di Kab. Jeneponto



Tim Peneliti Hibah Prodi 2012 bersama dengan Masyarakat Peternak Kambing di Kab. Jeneponto

Keragaman Gen *Pituitary Transcription Factor* (Pit-1 Lokus *PstI*) pada Populasi Kambing Lokal di Provinsi Sulawesi Selatan yang Diidentifikasi dengan Teknik PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*)

M.I.A. Dagong^{1,2#}, L. Rahim^{1#}, Sri Rachma A.B^{1#}, K.I. Prahesti^{3#} dan N. Purnomo^{4#}

¹*Animal Breeding and Genetic Laboratory, Faculty of Animal Science, Hasanuddin University*

²*Integrated Biotechnology Laboratory, Faculty of Animal Science, Hasanuddin University*

³*Animal Production Department, Faculty of Animal Science, Hasanuddin University*

⁴*Animal Science and Technology Programe, Postgraduate School, Hasanuddin University*

#Jln. P. Kemerdekaan, Kampus UNHAS Tamalanrea, Makassar, 90245

ABSTRAK

Salah satu kandidat gen yang diyakini memiliki peranan penting dalam proses pertumbuhan ternak adalah gen *pituitary transcription factor 1* (Pit-1). Ekspresi gen Pit-1 sangat penting untuk beberapa proses regulasi pertumbuhan dalam tubuh ternak seperti kemampuan survival normal, differensiasi dan perkembangan tiga tipe sel adenohypophysis yakni somatotrop, laktotrop dan thyrotrop. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman gen Pit-1 pada populasi kambing lokal yang ada di Sulawesi Selatan. Total 119 sampel kambing yang terbagi atas kambing Marica, Kacang dan Peranakan Ettawa (PE) yang dikoleksi dari tiga lokasi yakni Kabupaten Jeneponto, Maros dan kota Makassar. Adapun metode yang digunakan untuk mengidentifikasi keragaman genetik gen Pit-1 dengan menggunakan teknik PCR-RFLP dengan enzim restriksi *PstI*. Frekuensi gen dan alel, heterosigositas dan kesetimbangan Hardy Weinberg pada lokus Pit-1|*PstI* dihitung dengan menggunakan software PopGen32 ver 1.3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada lokus Pit-1|*PstI* diidentifikasi dua alel dari hasil pemotongan situs enzim restriksi *PstI* yang menghasilkan dua fragmen potongan DNA dengan panjang 370 pb dan 80 pb dari panjang produk PCR awal sekitar 450 pb, alel T yang tidak terpotong (450 pb), sedangkan alel C adalah fragmen produk PCR yang terpotong oleh enzim (370 dan 80 pb). Alel T merupakan alel yang paling umum dengan frekuensi di total populasi sebesar 0.76 sedangkan alel C hanya sekitar 0.24. Sebaran alel pada populasi kambing Marica yang paling umum adalah alel T (0.95) sedangkan alel C adalah alel langka dengan frekuensi (0.05), sedangkan pada populasi Kacang dan PE frekuensi alel T masing masing adalah 0.71 dan 0.67 dan alel C masing-masing 0.29 dan 0.33. Variasi genetik yang ditemukan pada gen Pit-1 lokus *PstI* dapat digunakan dalam penelitian selanjutnya untuk mencari hubungan keragaman tersebut dengan sifat pertumbuhan dan kualitas karkas pada kambing lokal.

Kata Kunci : *Keragaman Genetik, Gen Pit-1, Lokus PstI, PCR-RFLP, Kambing Lokal*

PENDAHULUAN

Informasi keragaman genetik khususnya gen-gen yang mengontrol sifat ekonomis pada ternak kambing sangat dibutuhkan untuk perbaikan mutu genetik dan pengembangan kambing lokal. Salah satu kandidat gen yang diyakini memiliki peranan penting dalam proses pertumbuhan ternak adalah gen *pituitary transcription factor 1* (Pit-1). Gen Pit-1 atau disebut juga GHF-1 (*growth hormone factor 1*) terletak di kromosom 1 baik pada sapi, kambing dan domba dan terdiri atas 6 exon (Woollard *et al.*, 2000).

Eksresi gen Pit-1 sangat penting untuk beberap proses regulasi pertumbuhan dalam tubuh ternak seperti kemampuan survival normal, differensiasi dan perkembangan tiga tipe sel adenohypophysis yakni somatotrop, laktotrop dan thyrotrop (Li *et al.*, 1990; Simmons *et al.*, 1990). Dan gen Pit-1 ini merupakan regulator positif untuk beberapa faktor pertumbuhan seperti hormone pertumbuhan (GH), prolaktin dan hormone thyroid stimulating (TSH) dan *hormone pituitary* sendiri (Cohen *et al.*, 1997).

Beberapa kambing lokal yang ada di Sulawesi Selatan seperti Kacang dan Marica sangat potensial untuk dikembangkan dan dimanfaatkan untuk produksi daging karena kambing lokal tersebut memiliki beberapa kelebihan antara lain sifat prolifrik (kemampuan beranak kembar), resistensi tinggi terhadap parasit dan kemampuannya untuk bertahan pada lahan kering dengan kondisi pakan rumput yang minim dan kering pada musim kemarau (Pamungkas *et al.*, 2009). Namun, di samping kelebihan tersebut beberapa kelemahan yang perlu diperbaiki adalah performa produksi seperti bobot badan dan laju pertumbuhan yang relatif lebih rendah jika dibandingkan dengan kambing lokal lainnya.

Hingga saat ini program pemuliaan dalam rangka meningkatkan kualitas genetik kambing Kacang dan Marica belum menunjukkan hasil yang signifikan, minimnya formasi karakteristik genetik kambing Kacang dan Marica menyebabkan program seleksi yang selama ini dilakukan belum terarah. Salah satu kandidat gen yang diyakini memiliki hubungan dengan sifat pertumbuhan pada kambing adalah gen Pit-1, informasi keragaman pada gen Pit-1 diharapkan dapat menjadi informasi awal dalam program peningkatan mutu genetik kambing lokal.

MATERI DAN METODE

Pengambilan Sampel Darah

Sebanyak 102 ekor kambing lokal dari jenis PE, Kacang dan Marica serta persilangannya yang berasal dari tiga kecamatan di Kabupaten Jeneponto (Kecamatan Kelara, Binamu dan Tamalatea). Pengambilan sampel darah dilakukan melalui *vena jugularis* menggunakan jarum vacutainer sebanyak 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung vacum berantikoagulan (EDTA) dan kemudian disimpan pada suhu 5 °C.

Ekstraksi DNA

DNA diisolasi dan dimurnikan dengan menggunakan Kit DNA ekstraksi **Genjet Genomic DNA Extraction** (Thermo Scientific) dengan mengikuti protokol ekstraksi yang disediakan. Sebanyak 200 µl sampel darah dilisiskan dengan menambahkan 400 µl larutan *lysis buffer* dan 20 µl proteinase K (10 mg/ml), campuran kemudian diinkubasi pada suhu 56 °C selama 60 menit di dalam *waterbath shaker*. Setelah inkubasi larutan kemudian ditambahkan 200 µl Ethanol absolute 96% dan disentrifugasi 6.000 x g selama 1 menit.

Pemurnian DNA kemudian dilakukan dengan metode *spin column* dengan penambahan 500 µl larutan pencuci *wash buffer* I yang kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi pada 8.000 x g selama 1 menit. Setelah supernatannya dibuang, DNA kemudian dicuci lagi dengan 500 µl *wash buffer* II dan disentrifugasi pada 12.000 x g selama 3 menit. Setelah supernatan dibuang, DNA kemudian dilarutkan dalam 200 µl *elution buffer* dan disentrifugasi pada 8.000 x g untuk selanjutnya DNA hasil ekstraksi ditampung dan disimpan pada suhu -20 °C.

Identifikasi keragaman gen *Pit-1|PstI*

Fragmen gen *Pit-1* kambing diidentifikasi dengan menggunakan metode PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism*). Fragmen exon 6 diamplifikasi dengan runutan primer F:5'-CCATCATCTCCCTTCTT-3' dan primer R: 5'-AATGTACAATGTCCTTCTGAG-3' berdasarkan Feng *et al.* (2012) dengan prediksi panjang produk PCR sekitar 450 bp.

Sampel DNA dari masing-masing individu digunakan sebagai cetakan untuk mengamplifikasi lokus gen Pit-1 melalui reaksi PCR dengan sekuen nukleotida pengapit masing-masing (Primer Forward dan Reverse). Amplifikasi dilakukan dengan PCR dikondisikan pada volume reaksi 25 µl yang terdiri atas 50 - 100 ng DNA template, 0.25 µM primer, 150 µM dNTP (Fermentas), 2.5 mM Mg²⁺, 0.5 U *Taq DNA polymerase* (Fermentas) dan 1x buffer. Kondisi mesin PCR dimulai dengan denaturasi awal pada suhu 94°C selama 5 menit, diikuti dengan 35 siklus berikutnya masing-masing 94°C selama 30 detik (tahap denaturasi), 54°C selama 45 detik (tahap annealing), 72°C selama 45 detik (tahap ekstensi), yang diakhiri dengan satu siklus ekstensi akhir pada suhu 72°C 5 menit dengan menggunakan mesin PCR (Labcyler SensoQuest). Produk PCR kemudian dielektrophoresis pada gel agarose 1.5%, dengan buffer 1x TBE yang mengandung 200 ng/ml *ethidium bromide* dan divisualisasi pada UV transiluminator.

Produk PCR kemudian dipotong dengan menggunakan enzim restriksi *PstI* berdasarkan rekomendasi yang disediakan (Fermentas). Produk RFLP kemudian diidentifikasi genotipenya (pola pita restriksinya) dengan dielektrophoresis pada gel agarose 1.5%, dengan buffer 1x TBE yang mengandung 200 ng/ml *ethidium bromide* dan divisualisasi pada UV transiluminator.

Analisis Statistik

Analisis data molekuler lokus Pit-1|*PstI* pada populasi kambing Kabupaten lokal meliputi frekuensi alel dan genotipe, keseimbangan Hardy-Weinberg, nilai heterosigositas meliputi heterosigositas pengamatan (H_o) dan heterosigositas harapan (H_e).

Frekuensi Alel

Frekuensi alel untuk setiap lokus dihitung menurut Nei dan Kumar (2000) dengan formula sebagai berikut :

$$= \frac{(2N_{11} + N_{12})}{2}$$

Keterangan :

- x_1 = frekuensi alel ke-1
- N_{11} = jumlah genotype A_1A_1
- N_{12} = jumlah genotype A_1A_2

Keseimbangan Hardy-Weinberg

Keseimbangan Hardy-Weinberg diuji dengan chi-square (X^2) menurut Hartl (1988), sebagai berikut :

$$= \frac{(\quad - \quad)}{\quad}$$

- X^2 = nilai uji chi-square
- O = Jumlah pengamatan genotipe ke-i
- E = Jumlah harapan genotipe ke-i

Nilai Heterozigositas Pengamatan (H_o)

Nilai heterosigositas teramati (H_o) dan heterosigositas harapan (H_e) dapat digunakan untuk menduga nilai koefisien *inbreeding* pada suatu kelompok ternak. Perhitungan nilai H_o dan H_e dilakukan menurut Hartl (1988) dengan formula sebagai berikut :

$$= \frac{N}{\# \quad N}$$

Keterangan :

- H_o = heterosigositas pengamatan
- N = Jumlah individu heterosigot pada lokus ke-1
- N = jumlah individdu yang diamati

Nilai Heterozigositas Harapan (H_e)

$$= 1 -$$

Keterangan :

- = heterosigositas harapan
- P_{1i} = frekuensi alel ke-I pada lokus ke-1
- n = jumlah alel pada lokus-1