

Polimorfisme DNA pada Lokus-2 Gen Hormon Pertumbuhan Sapi Madura

DNA polymorphism at locus-2 of growth hormone gene of Madura cattle

AGUS PURWOKO, SUTARNO, NITA ETIKAWATI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta 57126

Diterima: 1 Desember 2002. Disetujui: 15 Januari 2003

ABSTRACT

The objectives of the research were to detect DNA polymorphism at locus 2 of bovine growth hormone gene of Madura cattle and to know its genetic diversity. DNA polymorphisms and their effect on phenotypic traits have been studied widely in dairy cattle but not for beef cattle, especially for Indonesian local cattle. Polymorphism was detected using PCR-RFLP using primer GH-5 and GH-6 for amplifying locus 2 of growth hormone gene. Genetic diversity was analyzed based on the formula of Nei (1973, 1975). DNA polymorphism was found on locus 2 of growth hormone gene using *MspI* restriction enzyme. This polymorphism may be caused the lost of restriction *MspI* site. The genetic diversity was 0.4422.

© 2003 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: bovine growth hormon gene, PCR-RFLP, polymorphism, *MspI* restriction enzyme, Madura Cattle.

PENDAHULUAN

Seluruh spesies hewan yang didomestikasikan menjadi ternak menunjukkan adanya variasi sifat-sifat produktivitas yang berhubungan dengan morfologi maupun fisiologi. Variasi tersebut disebabkan oleh faktor lingkungan dan genetik. Sifat-sifat produksi yang memiliki nilai ekonomi penting dalam ternak dikodekan oleh banyak gen (poligenik) sehingga tidak mudah untuk memanipulasinya. (Soller dan Beckmann, 1982). Variasi pada genom dapat mempengaruhi fungsi gen dan merubah produk gen sehingga menimbulkan variasi fenotip (Choi *et al.*, 1996).

Penemuan fragmen-fragmen restriksi sebagai penanda genetik pada lokus-lokus yang berhubungan dengan sifat produksi, dapat digunakan sebagai dasar untuk memilih dan memperoleh bibit unggul melalui seleksi buatan (Kennedy *et al.*, 1990; Choi *et al.*, 1996). Hal ini dapat diaplikasikan dalam usaha peningkatan produksi ternak melalui variasi penanda genetik (Soller dan Beckman, 1982).

Kemajuan di bidang biologi molekuler memberikan kesempatan baru dalam usaha mendeteksi terjadinya variasi genetik (polimorfisme) sebagai dasar peningkatan mutu genetik dalam peternakan. Teknik molekuler yang potensial digunakan untuk mendeteksi variasi tersebut antara lain: *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Random Amplified Polymorphism DNA* (RAPD), *Double Strand Conformation Polymorphism* (DSCP), dan *Marker-Assisted Selection* (MAS) (Kennedy *et al.*, 1990).

Dengan adanya teknologi yang efektif dan akurat melalui pemanfaatan diagnosa berdasarkan deoxy-

ribo nucleic acid (DNA), akan sangat membantu program persilangan ternak (Rafalski dan Tingey, 1993). Penyediaan peta genetik melalui metode DNA rekombinan, dapat membantu program persilangan ternak melalui data-data molekuler yang didapat, yang mengatur sifat-sifat produksi (Hetzl, 1989).

Pemetaan genetik sangat penting dalam proses seleksi dan persilangan ternak berdasarkan teknik molekuler. Dengan adanya pemetaan gen, dapat dilakukan pengujian maupun modifikasi gen-gen yang telah dipetakan dengan menggunakan teknologi rekayasa genetik (Hetzl, 1989). Pemetaan gen yang mengatur sifat produktivitas penting pada ternak memiliki keuntungan yang sangat besar dalam menemukan variasi genetik pada tingkatan molekuler (Fries, 1993). Dengan ditemukannya teknik amplifikasi melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR), maka penanda genetik dapat dideteksi secara lebih cepat dan akurat dengan menggabungkan teknik amplifikasi PCR dengan RFLP yang dikenal dengan PCR-RFLP.

Produk gen yang berupa hormon (bioregulator) akan mempengaruhi proses pengaturan metabolisme dan penampakan morfologi ternak. Variasi genetik (polimorfisme) pada lokus-lokus gen khususnya yang mengkodekan hormon merupakan hal yang sangat penting, karena variasi tersebut menentukan karakter genetik dari suatu populasi yang dapat membantu dalam peningkatan mutu genetik dari populasi tersebut (Mitra *et al.*, 1995).

Hormon pertumbuhan sebagai salah satu produk gen berpengaruh besar dalam pertumbuhan, laktasi dan perkembangan kelenjar susu pada sapi (Hoj *et al.*, 1993a,b). Polimorfisme pada gen yang

mengkodekan dan mengatur hormon pertumbuhan sangat potensial sebagai penanda genetik untuk sifat-sifat fenotip dengan produktivitas yang bernilai ekonomi tinggi. Penelitian mengenai variasi genetik ini telah banyak dilakukan pada sapi Eropa, namun penelitian pada sapi lokal Indonesia khususnya sapi Madura belum banyak dilakukan.

BAHAN DAN METODE

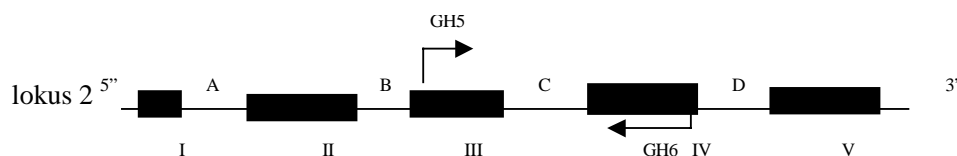
Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2000 s.d. Februari 2002 di Laboratorium Biokimia Laboratorium Pusat MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Bahan yang digunakan adalah sampel darah sapi Madura sebanyak 49 individu, *Wizard Genomic DNA Purification Kit* dari Promega (*cell lysis solution*, *nuclei lysis solution*, *protein precipitation solution*, *RNAase*, *DNA rehydration solution*), isopropanol, etanol 70%, *PCR Core System I* dari Promega ($MgCl_2$, 10 X *buffer reaction Taq DNA polymerase*, *PCR nucleotida mix*, *Taq DNA polymerase*), enzim restriksi *MspI* dari Promega, agarose dari Promega, 1X *tris acetic acid* EDTA (TAE), *ethidium bromida*, aquades steril, *blue loading dye*, kertas serap, parafilm, kristal es, primer GH-L2 yang terdiri dari primer GH-5: 5'-AGAATCAGGCCAGCAGAAATC-3' dan primer GH-6: 5'-GTCGTCACTGCGCATGTTTG-3', *ultra pure water* dari Biotech, dan 50-2000 *basepair* (bp) *marker* dari Bio Rad.

Alat yang digunakan adalah sentrifus (Hettich), satu set mikropipet (ukuran 20 μ L, 200 μ L, 1000 μ L), *tips* 20 μ L, 200 μ L, 1000 μ L, tabung mikro 1,5 mL (Axygen), tabung PCR 0,6 mL, satu set alat elektroforesis horizontal dan *power supply* (Consort), *microwave*, inkubator, *GeneAmp PCR system 2400 Thermo Cycler* (Perkin Elmer), *Gel Doc 2000* (Bio Rad), *autoclave* (Ogawa Saiki Co), gelas ukur, erlenmeyer, tabung *venoject*, *vortex mixer* (Gemmy Industrial Corp), sarung tangan, penangas air (Haake), lemari pendingin suhu 4°C, *freezer* suhu -20°C, alat pembuat kristal es (Cornelius), timbangan elektrik (Denver Instrument).

Sampel darah diambil secara *venepuncture* menggunakan *venoject* dengan ukuran 10 milliliter (ml) yang berisi heparin. Darah disimpan pada suhu -20°C untuk referensi di kemudian hari dan digunakan langsung dalam penelitian ini.

DNA diekstrak dari total darah dengan menggunakan teknik *Wizard Genomic Purification System* (Promega, Madison USA). DNA diekstrak langsung dari total darah. Sejumlah 300 mikroliter (μ L) total darah dimasukkan ke dalam 1,5 μ L tabung mikrosentrifus yang steril dan berisi 450 μ L larutan pelisis sel, dicampur dan diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit untuk melisis sel darah merah yang mungkin masih tercampur. Sel darah putih kemudian di sentrifugasi pada kecepatan 14.000 rotasi per menit (rpm) selama 20 detik pada suhu kamar untuk memperoleh endapan sel darah putih. Supernatan yang terbentuk diambil dan di buang, kemudian tabung mikrosentrifus yang berisi endapan sel darah putih diberi getaran \pm 3-5 menit menggunakan vortex agar sel-sel darah putih memisah secara sempurna. Sejumlah 150 μ L *nuclei lysis solution* ditambahkan ke dalam tabung berisi suspensi tersebut, kemudian dicampur dengan menggunakan pipet sebanyak 5-6 kali untuk melisis sel-sel darah putih. Kemudian ditambahkan 1 μ L *RNAase* ke dalam lisat nukleus, dicampur dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah itu sampel didinginkan pada suhu kamar selama 5 menit, dilanjutkan dengan penambahan 60 μ L *protein precipitation solution* untuk membentuk presipitat protein ke dalam lisat, lalu dihomogenkan dengan vortex selama 10-20 detik dan disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 3 menit untuk membentuk endapan protein. Supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus steril yang sebelumnya telah diisi 150 μ L isopropanol. Campuran yang diperoleh dicampur dengan membalik-balik tabung sampai terbentuknya materi seperti benang berwarna putih. DNA kemudian disentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit pada suhu kamar. Supernatan dibuang kemudian ditambah 300 μ L etanol 70% pada suhu kamar. Tabung berisi larutan DNA dan etanol ini di balik-balik untuk mencuci endapan DNA. DNA kemudian diendapkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 14.000 rpm pada suhu kamar, etanol diambil dengan sangat hati-hati, kemudian tabung mikrosentrifus dibalik di atas kertas penyerap, dan dibiarkan terbuka selama 20 menit untuk mengeringkan DNA. Setelah kering, 100 μ L larutan hidrasi DNA ditambahkan ke dalam tabung dan DNA direhidrasi dengan cara diinkubasi pada inkubator suhu 65°C selama 1 jam. DNA yang diperoleh kemudian disimpan pada suhu 2-8°C sampai



Gambar 1. Diagram secara skematis menunjukkan posisi fragmen gen hormon pertumbuhan lokus 2 (GHL-2) fragmen terdiri dari 329 bp yang memanjang dari exon III dan exon IV di amplifikasi dengan PCR dengan primer GH5 dan GH6 (Sutarno, 2000).

penggunaan berikutnya (Promega, 1996).

DNA yang diperoleh langsung digunakan untuk reaksi PCR yang dilakukan dalam mesin PCR (*thermocycler*). Semua reaksi amplifikasi dilakukan dalam volume 25 μ L campuran reaksi yang terdiri dari: 200 nanogram (ng) *DNA template*, 0,15 mikromol (μ M) dari masing-masing *oligonukleotida* primer, 200 μ M dari masing-masing dNTPs, 2 μ M $MgCl_2$, 10x *buffer Taq DNA polymerase* dan 1,5 unit *Taq DNA polymerase* dalam 0,6 mL tabung *eppendorf*.

Primer GH5/GH6 digunakan untuk mengamplifikasi fragmen gen hormon pertumbuhan antara *intron* III dan *intron* IV. Primer-primer tersebut lokasinya secara garis besar ditunjukkan pada Gambar 1. Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi fragmen ini adalah:

GH5: 5'-AGAATCAGGCCCAGCAGAAATC-3'

GH6: 5'-GTCGTCAGTGCATGTTTG-3'

Kondisi reaksi amplifikasi PCR untuk gen hormon pertumbuhan adalah sebagai berikut: satu tahap reaksi denaturasi awal pada suhu 94°C selama 5 menit, diikuti dengan 30 siklus amplifikasi yang masing-masing terdiri dari: (i) *denaturation* pada suhu 94°C selama 45 detik, (ii) *annealing* pada suhu 60°C selama 45 detik, dan (iii) *extension* pada suhu 72°C selama 1 menit; diikuti dengan satu tahap polimerasi final pada suhu 72°C selama 5 menit.

Hasil dari amplifikasi dengan menggunakan reaksi PCR langsung digunakan dalam reaksi digesti dengan menggunakan enzim restriksi. Fragmen dari gen hormon pertumbuhan lokus-2 gen hormon pertumbuhan hasil amplifikasi didigesti dengan menggunakan enzim *MspI* untuk mengidentifikasi situs polimorfisme *MspI*.

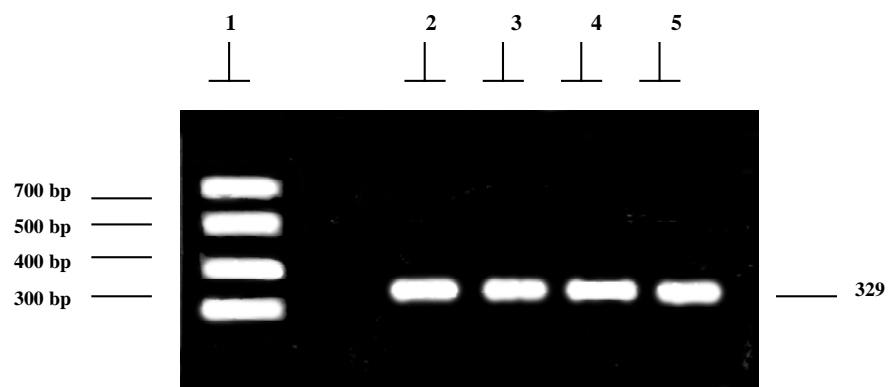
Larutan yang terdiri dari 8 μ L DNA (volume tergantung konsentrasi hasil amplifikasi masing-masing sampel) dimasukkan ke dalam tabung *eppendorf* yang steril. *Master mix* yang terdiri dari campuran antara 1 unit enzim *MspI*, 3 μ L 10X *REact 2 buffer MspI* dan sisanya *ultra pure water* ditambahkan ke dalam tabung yang berisi sampel DNA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 6 jam. Hasil digesti kemudian dielektroforesis pada bak elektroforesis horizontal dengan menggunakan gel yang terbuat dari 1% agarose dalam *buffer TAE* (*Tris/Acetic Acid/EDTA*). Gel agarose dibuat dengan melarutkan agarose dalam *buffer 1X TAE* dan dipanaskan dalam *microwave*

selama 20 detik sampai tercampur homogen. Setelah itu larutan agarose ditunggu sampai suhunya 60°C dan kemudian ke dalam larutan agarose ditambahkan *ethidium bromida* dengan konsentrasi 0,12 μ g/mL agar DNA dapat divisualisasi dibawah sinar ultraviolet. Elektroforesis ini dilakukan dengan menggunakan gel horizontal selama 50 menit pada 65 volt (voltase). Lama waktu ini sangat tergantung pada konsentrasi gel dan voltase. Setelah selesai elektroforesis, DNA divisualisasi di bawah sinar ultra violet dalam ruang gelap, dan diambil gambarnya dengan *Gel Doc 2000*.

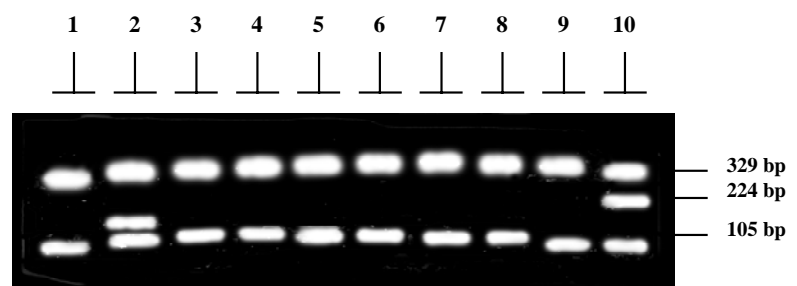
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil amplifikasi dengan PCR pada fragmen lokus-2 gen hormon pertumbuhan yang terdiri dari 329 bp meliputi *exon* III dan IV yang diamplifikasi menggunakan primer GH-5/GH-6 diperlihatkan pada Gambar 2. Ketepatan kondisi reaksi PCR serta primer yang didesain (GH-5/GH-6) dengan program primer *designer* memberikan produk PCR yang sangat spesifik dengan terbentuknya satu pita DNA sesuai dengan yang diharapkan, seperti pada Gambar 2.

Analisis pola pemotongan oleh enzim restriksi *MspI* dari hasil amplifikasi dengan PCR terhadap lokus-2 gen hormon pertumbuhan, dilakukan terha-



Gambar 2. Fotograf dari gel agarose dengan menunjukkan posisi lokus-2 gen hormon pertumbuhan menggunakan *DNA ladder* 20 - 5000 bp. Baris 1 (*marker DNA*), baris 2 (M21), baris 3 (M22), baris 4 (M23), baris 5 (M24).



Gambar 3. Fotograf gel agarose memperlihatkan adanya polimorfisme pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan yang dideteksi dengan digesti menggunakan enzim *MspI*. Baris 1, 6, 7, 8, 9 (*MspI* -/-), baris 2, 3, 10 (*MspI* +/-), baris 4, 5 (*MspI* +/+).

dap 49 sampel individu sapi Madura. Pada beberapa individu sapi Madura ditemukan adanya polimorfisme DNA pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan yang ditandai dengan hilangnya situs restriksi *MspI* (Tabel 1). Polimorfisme dideteksi dengan melakukan digesti menggunakan enzim restriksi *MspI* terhadap fragmen 329 bp lokus-2 gen hormon pertumbuhan yang diperlihatkan pada Gambar 3.

Tabel 1. Situs restriksi yang dihasilkan dari reaksi digesti dengan menggunakan enzim restriksi *MspI* terhadap fragmen 329 bp lokus-2 gen hormon pertumbuhan.

Enzim	Alel	Jumlah situs restriksi	Ukuran fragmen
<i>MspI</i>	<i>MspI</i> +	1	224 bp, 105 bp
	<i>MspI</i> -	0	329 bp

Besarnya frekuensi gen masing-masing alel *MspI* pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Frekuensi gen alel *MspI* lokus-2 gen hormon pertumbuhan sapi Madura.

Alel	Sampel individu	Frekuensi gen
<i>MspI</i> (-/-)	27 individu	0,55
<i>MspI</i> (-/+)	11 individu	0,22
<i>MspI</i> (+/+)	11 individu	0,22

Identifikasi polimorfisme DNA lokus-2 gen hormon pertumbuhan pada sapi Madura dilakukan melalui tiga tahapan, yaitu: (i) ekstraksi DNA dari total darah dengan menggunakan *Wizard Genomic DNA Purification Kit*, (ii) reaksi PCR untuk mendapatkan dan mengamplifikasi lokus-2 gen hormon pertumbuhan, dan (iii) analisis RFLP menggunakan enzim *MspI*.

Dalam tahapan ekstraksi DNA, beberapa kali diperoleh hasil yang kurang baik yaitu dengan kuantitas sangat sedikit atau DNA mengalami degradasi. Hal ini dapat disebabkan oleh sedikitnya kuantitas sel darah putih yang terekstraksi, tidak memisahkannya endapan sel darah putih yang terbentuk, atau endapan DNA yang terisolasi hilang. Permasalahan ini dapat diatasi dengan menyediakan sampel darah dengan kandungan sel darah putih yang banyak, pemisahan endapan sel darah putih yang terbentuk dengan alat getaran (vortex), ketelitian pada waktu pemisahan DNA dari larutan supernatan dan penyimpanan isolat DNA pada suhu 4°C. Dari penelitian ini, DNA yang diekstraksi menunjukkan sensitivitas yang tinggi terhadap sinar ultraviolet dengan berpendarnya *ethidium bromida* yang terikat pada DNA. Sebagai acuan, kuantitas DNA yang dihasilkan dengan *Wizard Genomic Purification Kit* berkisar antara 5-15 mikrogram (μg) DNA per 300 μL total darah segar dengan ukuran lebih dari 50 kilobasepair (kb) (Promega, 1996).

Tahapan kedua dalam mengidentifikasi polimorfisme dilakukan melalui reaksi PCR. Reaksi ini merupakan suatu metode *in vitro* yang berfungsi mengamplifikasi urutan DNA dari suatu kompleks DNA melalui suatu reaksi enzimatik sederhana. Urutan DNA yang diamplifikasi dengan teknik PCR adalah urutan DNA yang terletak di antara 2 bagian yang telah diketahui urutannya yang disebut sebagai *primer*. Adapun prinsip kerja dari PCR adalah melakukan denaturasi dari DNA *template* dengan memanaskan pada suhu tertentu sehingga terjadi DNA rantai tunggal, kemudian dilakukan pendinginan sampai mencapai suhu yang memungkinkan *primer* menempel pada tempat yang sesuai pada cetakan DNA. Selanjutnya dengan adanya enzim DNA polimerase, *primer* akan memanjangkan rantainya sehingga akan terbentuk DNA rantai ganda kembali. Siklus denaturasi, *annealing* dan *extension* rantai ini diulang beberapa kali sampai akhirnya tercapai sejumlah besar DNA yang diinginkan.

Dalam penelitian ini, reaksi PCR dilakukan untuk mendapatkan dan mengamplifikasi lokus-2 gen hormon pertumbuhan sapi Madura dengan ukuran 329 bp yang terletak antara 1057 bp dan 1385 bp dari sekuen gen hormon pertumbuhan sapi. Jika produk PCR terlihat *smile* atau bahkan tidak memberikan hasil, kemungkinan hal ini disebabkan oleh komponen dalam campuran reaksi PCR baik berupa *template DNA*, *primers*, *Deoxynucleoside Triphosphates* (dNTP), *buffer PCR*, ion Magnesium dan *Taq DNA Polymerase* tidak berjalan sesuai dengan kondisi reaksi. Pada reaksi PCR yang dilakukan dalam penelitian ini, kondisi PCR yang sama dapat memberikan hasil yang berbeda dengan adanya hasil atau tidak adanya hasil. Pertimbangan faktor lainnya, bahwa efisiensi reaksi amplifikasi dengan teknik PCR tidak akan meningkat dengan meningkatnya jumlah siklus amplifikasi, karena tingginya siklus amplifikasi dapat menyebabkan terjadinya inaktivasi dari enzim DNA polimerase, degradasi dari dNTP maupun akumulasi dari hasil PCR yang nonspesifik.

Selanjutnya, analisis RFLP dilakukan melalui digesti enzim restriksi *MspI* terhadap lokus-2 gen hormon pertumbuhan untuk mengetahui polimorfisme yang terjadi. Situs restriksi *MspI* terletak pada urutan 1161 bp yang akan memotong lokus-2 gen hormon pertumbuhan menjadi 2 fragmen restriksi dengan panjang masing-masing fragmen adalah 105 bp dan 224 bp. Pola fragmen restriksi *MspI* pada ukuran tersebut adalah normal dan tidak memunculkan polimorfisme. Polimorfisme muncul dikarenakan hilangnya situs restriksi *MspI* pada 1161 bp sehingga terjadi satu pola fragmen restriksi atau munculnya situs restriksi baru yang dapat memberikan beberapa pola fragmen restriksi. Dalam penelitian ini munculnya situs restriksi *MspI* yang baru tidak ada.

Dari penelitian yang dilakukan terhadap 49 ekor sapi Madura, alel *MspI* (-/-) sejumlah 27 ekor dengan frekuensi alel sebesar 0,55, alel *MspI* (+/-) sejumlah 11 ekor dengan frekuensi alel sebesar 0,22, alel *MspI*

(+/-) sejumlah 11 ekor dengan frekuensi alel sebesar 0,22, yang menggambarkan besarnya kehadiran alel-alel tersebut pada populasi sapi Madura yang diteliti. Diversitas genetik yang terukur dari polimorfisme DNA lokus-2 gen hormon pertumbuhan sapi Madura adalah 0,4422 dengan menggunakan perhitungan dari Nei (1973, 1975 *cit* Baker dan Manwell, 1991).

RFLPs dari produk PCR dapat membedakan ukuran fragmen restriksi yang diperoleh dengan menggunakan *marker* DNA. Metoda standar yang digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi fragmen DNA adalah dengan menggunakan elektroforesis pada gel agarose. Ukuran molekul DNA bergantung pada panjang rantai molekul DNA yang ditentukan dari sejumlah pasangan-pasangan basa. Kecepatan pergerakan molekul-molekul dengan panjang yang khusus dalam gel bergantung pada konsentrasi dari agarose. Konsentrasi antara 0,5 sampai 2% biasa digunakan untuk ukuran DNA dari 200 sampai 50.000 pasang basa. Lokasi DNA di dalam gel dapat ditentukan secara langsung dengan memasukkan *ethidium bromida* dengan konsentrasi 0,12 µg/mL. Kuantitas sebesar 1 ng dari DNA dapat dideteksi dengan pengujian secara langsung dari gel dalam sinar ultraviolet.

Polimorfisme atau variasi genetik pada jenis yang sama sangat penting, karena mempunyai banyak aplikasi dalam persilangan dan genetika. Polimorfisme pada situs restriksi oleh enzim *MspI* pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan sapi disebabkan oleh adanya transisi C menjadi T pada posisi +837 (Hoj *et al.*, 1993a,b). Penelitian untuk mengungkap variasi situs restriksi menggunakan enzim restriksi *MspI* pada sapi Sahiwal Zebu (Mitra *et al.*, 1995 dalam Sutarno, 2000) diketemukan frekuensi alel *MspI* (+) sangat rendah (0,14), dan sapi Bali sebesar (0,80) (Sutarno, 2000), sedangkan pada penelitian ini diperoleh frekuensi alel *MspI* (+) sebesar (0,44). Hasil penelitian ini, memperlihatkan adanya polimorfisme DNA pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan dari jenis sapi Madura. Penerapan dari diversitas genetik telah banyak dilakukan pada peternakan sapi perah dengan penggunaan rekombinan DNA yang didasarkan pada polimorfisme gen hormon pertumbuhan yang telah diterapkan di Amerika Serikat yang terbukti dapat meningkatkan produksi susu.

Kemajuan dalam bidang bioteknologi memberikan kontribusi yang sangat besar dalam usaha meningkatkan kuantitas dan kualitas ternak yang tersedia melalui seleksi dan kawin silang. Kondisi ini secara tidak langsung akan memberikan kontribusi yang besar dalam pembangunan di Indonesia. Informasi yang diperoleh dari penelitian ini dapat pula digunakan sebagai langkah awal dalam usaha pemuliaan hewan produksi khususnya sapi, maupun dalam menentukan donor dalam fertilisasi *in vitro*, atau bahkan dapat digunakan sebagai informasi dasar dalam usaha

pembuatan hewan transgenik setelah melalui beberapa tahap analisis lanjut.

KESIMPULAN

Dari data, analisis data dan pembahasan pada penelitian ini maka dapat diberikan kesimpulan yaitu: (i) polimorfisme DNA diketemukan pada lokus-2 gen hormon pertumbuhan jenis sapi Madura melalui teknik PCR-RFLP menggunakan enzim *MspI*; (ii) diversitas genetik sapi Madura sebesar 0,4422 yang menggambarkan besarnya heterozigositas pada populasi tersebut.

Penelitian yang telah dilakukan terhadap lokus-2 gen hormon pertumbuhan sapi Madura menggunakan teknik PCR-RFLP dengan digesti enzim *MspI*. Oleh karena itu, masih diperlukan penelitian secara lengkap tentang *sequencing* untuk mengetahui sebab dari polimorfisme yang telah ditemukan guna menyempurnakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Baker, C. M. A. and C. Manwell. 1991. Populations genetics, molecular markers and gene conservation of bovine breeds. *In* Hickman C.G. (ed.) *Cattle Genetic Resources*. Amsterdam: Elsevier Science Publisher B.V.
- Choi, Y.J., D.S. Yim, B.D. Cho, J.S. Cho, K.J. Na, and M.G. Baik. 1996. Analysis of RFLP in the bovine growth hormone gene related to growth performance and carcass quality of Korean native cattle. *Meat Science* 45(3): 405-410.
- Fries, R. 1993. Mapping the bovine genome: methodological aspect and strategy. *Animal Genetics* 24: 111-116.
- Hetzl, D.J.S. 1989. Construction of a bovine gene map. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 49: 53-56.
- Hoj, S., M. Fredholm, and V.H. Nielsen. 1993a. Growth hormone gene polymorphism associated with selection for milk fat production in lines of cattle. *Animal Genetics* 24: 91-96.
- Hoj, S., P. Lovendahl, and K. Sejrsen. 1993b. Possible association of growth hormone gene polymorphisms with growth hormone releasin calves from lines selected for high and low milk fat yield. *Acta Agriculture of Scandinavia, section Animal Science* 43: 12-135.
- Kennedy, B.W., A.M. Verrinder-Gibbins, J.P. Gibson, and C. Smith. 1990. Coalescence of molecular and quantitative genetics for livestock improvement. *Journal of Dairy Science* 73: 2619-2627.
- Mitra, A., P. Schlee, C.R. Balakrishnan, and F. Pirchner. 1995. Polymorphisme at growth hormone and prolactine loci in Indian cattle and buffalo. *Journal of Animal Breeding Genetics* 112: 71-74.
- Promega. 1996. *Certificate of Analysis; Wizard™ Genomic DNA Purification System*. USA: Promega Corporation.
- Rafalski, J.A., and S.V. Tingey. 1993. Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites and machines. *Trends in Genetics* 9 (8): 275-280.
- Soller, M. and J.S. Beckman. 1982. Restriction Fragment Length Polymorphisms and genetic improvement. *Proceedings of the Second World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* 6: 396-404.
- Sutarno. 2000. *Variasi Genetik pada Sapi Pedaging berdasarkan Polimorfisme pada Gen Hormon Pertumbuhan*. [Laporan penelitian]. Surakarta: FMIPA UNS.