

ANALISIS KERAGAMAN GEN *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) PADA ITIK PITALAH SUMATERA BARAT

¹⁾Stefani Fitri Haryati, ²⁾Kusnadidi Subekti ³⁾Firda Arlina, ⁴⁾Rusfidra, ⁵⁾Husmaini dan ¹⁾Riska Amelia

¹⁾Mahasiswa Program Pascasarjana Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Limau Manis, Padang, Sumatera Barat, Telp. (0813) 78940693, email:

stefani.fitri.haryati@gmail.com

^{2,3,4,5)}Dosen Departemen Teknologi Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Limau Manis, Padang, Sumatera Barat

Abstrak

Itik Pitalah merupakan salah satu sumber daya genetik yang telah disahkan sebagai rumpun itik lokal asli Sumatera Barat. Keunggulan yang dimiliki oleh itik Pitalah adalah daya adaptasi yang baik. *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) berperan dalam proses perkembangan folikel dan sekresi hormon steroid yang berfungsi dalam proses pembentukan kuning telur. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keragaman gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada itik Pitalah Sumatera Barat dengan menggunakan sampel darah dari 45 ekor itik Pitalah betina. DNA isolasi diamplifikasi dengan menggunakan sepasang primer *forward* dan *reverse* yang didesain berdasarkan GeneBank DQ232890.1 dengan target fragmen 318 bp. DNA hasil amplifikasi disekuensing menggunakan jasa 1st Base Singapore untuk mengetahui keragaman gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 11 titik keragaman pada daerah target gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Keragaman gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) ini bersifat polimorfik dan populasi itik Pitalah tidak berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg.

Kata kunci: FSH; Itik Pitalah; Keragaman; Mutasi; Sekuensing

Abstract

Pitalah duck is one of the genetics resources that have been legalized as the native local duck family of West Sumatera. The advantage possessed by Pitalah ducks is good adaptability. Follicle Stimulating Hormone (FSH) has an effect on the process of follicle growth and the secretion of steroid hormones which function in the process of egg yolk formation. The purpose of this study was to analyse Follicle Stimulating Hormone (FSH) gene polymorphisms of West Sumatera Pitalah duck used blood samples from 45 female Pitalah ducks. Amplification of DNA extraction used the forward and reverse primer design based on GeneBank DQ232890.1 with fragmen target 318 bp. Product of amplification was to Sequencing analyzed by 1st Base Singapore to get the Follicle Stimulating Hormone (FSH) gene polymorphisms. The research successfully to identify 11 polymorphisms in fragmen target of Follicle Stimulating Hormone (FSH) gene. Based on the result of the study is identify Follicle Stimulating Hormone (FSH) gene polymorphisms in fragmen target and the population of Pitalah duck out off Hardy-Weinberg balance.

Keywords: FSH; Mutation; Pitalah Duck, Polymorphisms; Sequencing

Haryati dkk, 2023

1. PENDAHULUAN

Ternak lokal menjadi salah satu sumber daya genetik unik yang perlu dijaga kelestariannya untuk memenuhi kebutuhan pangan nasional. Itik merupakan salah satu ternak lokal yang perlu dioptimalkan pemanfaatannya dan menjadi salah satu unggas potensial untuk dikembangkan selain ayam (Suharno dan Amri, 2010). Itik Pitalah menjadi salah satu itik lokal yang potensial untuk dikembangkan dan merupakan salah satu rumpun itik lokal asli Sumatera Barat yang telah disahkan berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian tahun 2011. Populasi dan keaslian genetik itik Pitalah sebagai salah satu plasma nutfah Sumatera Barat harus dilestarikan dan dilindungi sebagai upaya untuk menjaga kelestarian ternak lokal, karena dalam prakteknya itik Pitalah sudah susah untuk dijumpai di habitat aslinya.

Pengembangan itik Pitalah harus didukung oleh perbaikan mutu genetik yang dapat dilakukan salah satunya dengan memanfaatkan dan menerapkan teknik rekayasa genetik. Metode seleksi secara molekuler dilakukan dengan tujuan menghemat waktu dan menghasilkan ternak yang memiliki nilai ekonomis tinggi yang mampu diturunkan ke keturunan selanjutnya. *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) merupakan salah satu hormon gonadotropin yang disekresikan oleh kelenjar hipofisa anterior yang memiliki fungsi untuk mengontrol aktivitas reproduksi atau mengatur kesuburan pada ternak (Grigorova *et al.*, 2007). Menurut Malik dan Gunawan (2008) *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) juga berperan secara langsung dalam proses pembentukan telur.

Penelitian yang berkaitan dengan FSH pernah dilakukan oleh Purwantini *et al.* (2017). Penelitian tersebut melaporkan bahwa terdapat tiga pasang genotipe yang berpengaruh dalam menentukan produksi telur tinggi, sedang, atau rendah pada itik Tegal, itik Magelang, dan itik persilangan resiprokalnya yaitu genotipe CC, CA, dan AA. SNP dari *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada itik Tegal, itik Magelang, dan itik persilangan resiprokalnya memiliki sifat polimorfik serta berasosiasi dengan karakteristik produksi telur. Noor (2008) menyatakan bahwa keragaman genetik dapat menentukan tingkat adaptasi suatu populasi dan pengaruhnya saling berbanding lurus. Penelitian semacam ini belum banyak dilakukan pada itik lokal Sumatera Barat terutama pada itik Pitalah. Penelitian tentang *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) diharapkan dapat memberikan informasi yang akurat untuk proses pemuliaan ternak lokal terutama pada itik Pitalah selanjutnya.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis keragaman gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada itik Pitalah Sumatera Barat. Manfaat penelitian ini adalah agar dapat menjadi informasi dasar tentang keragaman gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada itik Pitalah Sumatera Barat dan dapat dimanfaatkan sebagai acuan dasar pelestarian dan pemanfaatan sumber daya genetik ternak lokal.

2. METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel darah dari 45 ekor itik Pitalah betina yang dipelihara di UPT Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Kecamatan Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat. Darah diambil pada bagian vena brachialis didaerah sayap. Alat dan bahan lainnya yang digunakan pada penelitian ini adalah Kit dari iNtRON Biotechnology, sepasang primer *forward* dan *reverse*, mesin PCR, dan seperangkat alat elektroforesis.

Metode

a. Rancangan Penelitian

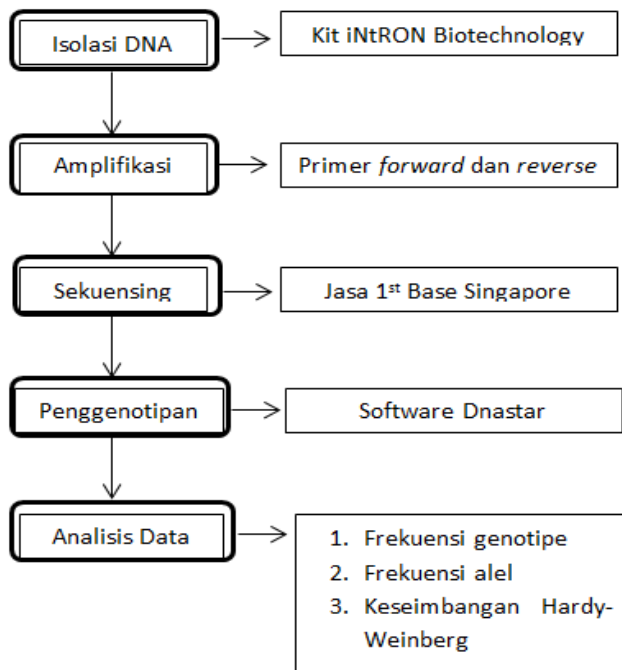
Penelitian ini dilakukan secara eksplorasi laboratorium untuk memperoleh keragaman gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada itik Pitalah yang dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Ternak Fakultas Peternakan dan Laboratorium Agrobioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas.

b. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah frekuensi genotipe, frekuensi alel, dan keseimbangan Hardy-Weinberg.

Haryati dkk, 2023

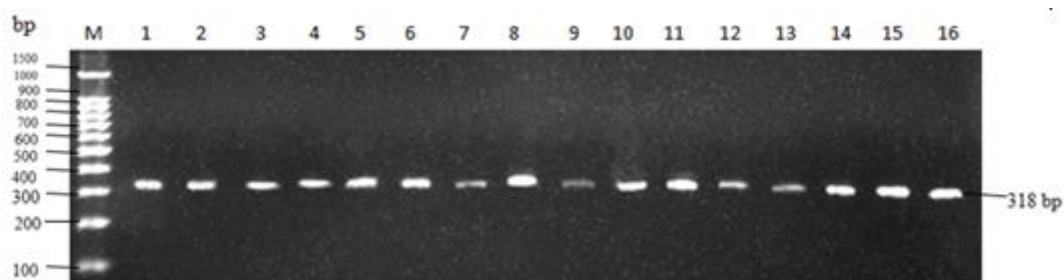
c. Prosedur Penelitian



3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Amplifikasi Gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH)

Amplifikasi dari 45 sampel darah itik Pitalah betina yang dilakukan menghasilkan produk PCR yang terlihat jelas dan terang. Primer yang digunakan pada proses PCR berhasil mengamplifikasi gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) sesuai dengan yang diharapkan yaitu sepanjang 318 bp yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil amplifikasi gen FSH itik Pitalah

Hasil amplifikasi pada Gambar 1 menunjukkan bahwa gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan primer teramplifikasi secara spesifik. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan terlihatnya satu pita DNA disetiap sumur dengan panjang target yang sesuai. Joshi dan Deshpande (2010) menyatakan bahwa amplifikasi DNA yang berhasil dapat divisualisasikan dengan menggunakan gel *agarose*, proses amplifikasi dikatakan berhasil ketika dalam satu sumur hanya terlihat satu pita DNA yang ukurannya sesuai dengan target. Pita DNA yang terlihat tidak menyebar menjadi salah satu petunjuk bahwa DNA tersebut memiliki konsentrasi yang tinggi dengan kondisi yang utuh (Irmawati, 2003). Panjang fragmen hasil amplifikasi diketahui dengan mencocokkan situs penempelan pasangan primer pada sekuen dengan kode GeneBank DQ232890.1.

Haryati dkk, 2023

b. Deteksi Keragaman Gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH)

Keragaman gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) diverifikasi dengan melakukan sekuensing menggunakan jasa 1st Base Singapore terhadap 45 sampel darah itik Pitalah betina. Hasil sekuensing diperoleh dalam bentuk data elektroferogram dengan format .ab1 dianalisis menggunakan aplikasi *software* Dnastar. Analisis data elektroferogram menunjukkan mutasi yang terjadi pada setiap individu. Mutasi merupakan perubahan yang terjadi pada materi genetik yang menjadi sumber dari keragaman genetik (Aisyah, 2006). Analisis keragaman gen FSH pada itik Pitalah dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Mutasi pada gen FSH itik Pitalah

No	Mutasi	Posisi	Jenis Mutasi
1.	Del A	ATG + 282	Delesi
2.	Ins G	ATG + 313	Insersi
3.	AG	ATG + 354	Transisi
4.	AC	ATG + 359	Transversi
5.	GA	ATG + 362	Transisi
6.	CT	ATG + 434	Transisi
7.	TG	ATG + 510	Transversi
8.	CA	ATG + 528	Transversi
9.	CT	ATG + 533	Transisi
10.	TC	ATG + 543	Transisi
11.	TG	ATG + 544	Transversi

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui adanya 11 titik mutasi (keragaman) yang terdiri dari 1 titik delesi, 1 titik insersi, 4 titik mutasi transversi, dan 5 titik mutasi transisi. Mutasi tipe delesi terjadi ketika ada penghapusan basa pada sekuen, sebaliknya pada mutasi insersi terjadi penambahan yang awalnya tidak ada pada sekuen aslinya. Mutasi tipe transversi terjadi ketika ada perubahan basa purin (G,A) ke pirimidin (C,T) atau sebaliknya. Tipe mutasi transisi terjadi perubahan dengan sesama basa purin (G,A) dan sesama basa pirimidin (C,T).

Perubahan susunan basa pada sekuen DNA akan menyebabkan terjadinya perubahan asam amino yang dikodekan oleh mRNA. Terdapat beberapa jenis mutasi yang sering dijumpai seperti *missense mutation*, *silent mutation*, dan *nonsense mutation* (Stansfield *et al.*, 2003). Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa hanya ada dua jenis mutasi yang ditemukan yaitu *missense mutation* dan *silent mutation*. Perubahan asam amino yang tergolong dalam *missense mutation* ada pada posisi ATG + 359, ATG + 362, ATG + 434, ATG + 510, ATG + 528, ATG + 533, dan ATG + 544 pada posisi tersebut perubahan susunan basa menyebabkan perubahan asam amino yang dikodekan. Perubahan asam amino yang tergolong dalam *silent mutation* ada pada posisi ATG + 354 dan ATG + 543 pada posisi tersebut terjadi perubahan pada susunan basanya namun tidak mengubah asam amino yang dikodekan.

c. Frekuensi Genotipe dan Alel Gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH)

Berdasarkan analisis yang dilakukan ditemukan keragaman gen FSH pada daerah target yang secara umum bersifat polimorfik karena frekuensi alelnya $\leq 95\%$ seperti pada Tabel 2. Sesuai dengan pernyataan Nei dan Kumar (2000) yang menyatakan bahwa suatu alel dapat dikatakan bersifat polimorfik jika frekuensi alelnya $\leq 95\%$. Menurut Warwick *et al.* (1990) terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi frekuensi gen dalam suatu populasi seperti adanya mutasi, seleksi, migrasi, dan *genetic drift*.

Haryati dkk, 2023

Tabel 2. Frekuensi genotipe dan alel SNP pada gen FSH

No	Posisi SNP	N	Frekuensi Genotipe			Frekuensi Alel	
1.	ATG + 282	42	-	-	-	-	-
2.	ATG +313	42	-	-	-	-	-
3.	ATG +354	42	AA 0,79(33)	AG 0,00(0)	GG 0,21(9)	A (0,79)	G (0,21)
4.	ATG +359	42	AA 0,71(30)	AC 0,00(0)	CC 0,29(12)	A (0,71)	C (0,29)
5.	ATG +362	42	GG 0,79(33)	GA 0,00(0)	AA 0,21(9)	G (0,79)	A (0,21)
6.	ATG +434	42	CC 0,90(38)	CT 0,00(0)	TT 0,10(4)	C (0,90)	T (0,10)
7.	ATG +510	42	TT 0,81(34)	TG 0,095(4)	GG 0,095(4)	T (0,86)	G (0,14)
8.	ATG +528	42	CC 0,24(10)	CA 0,00(0)	AA 0,76(32)	C (0,24)	A (0,76)
9.	ATG +533	42	CC 0,76(32)	CT 0,00(0)	TT 0,24(10)	C (0,76)	T (0,24)
10.	ATG +543	42	TT 0,74(31)	TC 0,00(0)	CC 0,26(11)	T (0,74)	C (0,26)
11.	ATG +544	42	TT 0,90(38)	TG 0,00(0)	GG 0,10(4)	T (0,90)	G (0,10)

d. Keseimbangan Hardy Weinberg

Keseimbangan Hardy Weinberg adalah frekuensi genotipe *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada populasi itik Pitalah yang diamati. Vasconcellos *et al.* (2003) menyatakan dalam keseimbangan Hardy-Weinberg jika penggabungan gamet terjadi secara acak maka frekuensi genotipe ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$) dan frekuensi alel (p dan q) konstan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Uji *chi-square* (X^2) pada populasi itik Pitalah disajikan pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa terdapat ketidakseimbangan Hardy Weinberg dimana nilai $X^2_h > X^2_{t(0,05)}$, artinya frekuensi genotipe berbeda nyata antara hasil pengamatan dengan yang diharapkan atau dengan kata lain frekuensi genotipe itik Pitalah yang diamati tidak berada dalam keseimbangan Hardy Weinberg. Ketidakseimbangan diduga karena populasi yang diamati mengalami *genetic drift* berupa *bottleneck effect* akibat aktivitas manusia dan mengakibatkan *inbreeding* karena nilai $X^2_h > X^2_{t(0,05)}$ dan nilai $H_o < H_e$. Hal ini sejalan dengan pendapat Vanconcellos *et al.* (2003) yang menyatakan bahwa munculnya ketidakseimbangan dapat disebabkan karena akumulasi genotipe, seleksi, *genetic drift*, mutasi, dan *inbreeding*.

Tabel 3. Uji *chi-square* keseimbangan Hardy Weinberg

No	Posisi Mutasi	X^2_{hitung}	$X^2_{tabel (0,05)}$	Keterangan
1	ATG +354	43,33	5,991	Berbeda nyata
2	ATG +359	41,30	5,991	Berbeda nyata
3	ATG +362	43,33	5,991	Berbeda nyata
4	ATG +434	38,54	5,991	Berbeda nyata
5	ATG +510	16,30	5,991	Berbeda nyata
6	ATG +528	41,53	5,991	Berbeda nyata
7	ATG +533	41,53	5,991	Berbeda nyata
8	ATG +543	43,13	5,991	Berbeda nyata
9	ATG +544	38,54	5,991	Berbeda nyata

Keterangan : $X^2_h > X^2_{t(0,05)}$ = berbeda nyata

Haryati dkk, 2023

4. KESIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa terdapat 11 titik keragaman pada daerah target gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Analisis data memberikan informasi bahwa gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) bersifat polimorfik dengan frekuensi genotipe pada populasi itik Pitalah tidak berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada semua pihak yang telah berperan dalam pengembangan penelitian ini. Penelitian ini didanai oleh Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Masyarakat Ditjen Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi dengan Nomor Kontrak: 086/E5/PG.02.00.PT/2022 tanggal 10 Mei 2022, No. T/77/UN.16.17/PT.01.03/PDKN/Pangan/2022 tanggal 10 Mei 2022, dan Riset Publikasi Terindeks No. T/159/UN.16.17/PT.01.03/PDKN/Pangan-RPT/2022 tanggal 29 September 2022.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, S. I. 2006. *Mutasi Induk Fisik dan Pengujian Stabilitas Mutan yang Diperbanyak Secara Vegetatif pada Anyelir (Dianthus caryophyllus L.)*. IPB, Bogor.
- Grigorova, M., K. Rull, dan M. Laan. 2007. Haplotype Structure of FSHB, the Beta-Subunit Gene for Fertility-Associated FSH: Possible Influence of Balancing Selection. *Annals of Human Genetics*. 71(1): 18-28.
- Irmawati. 2003. *Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus Generasi Pertama pada Stock Hatchery*. IPB, Bogor.
- Joshi, M. dan J. D. Deshpande. 2010. Polymerase Chain Reaction: Methods, Principles, and Application. *Journal of Biomedical Research* pp 81-97.
- Malik, A. dan A. Gunawan. 2008. Efek Penyuntikan Dosis Rendah Hormon Gonadotropin Terhadap Jumlah dan Besar Telur Itik Alabio. *Jurnal Ilmu Ternak*. 8(1): 91-94.
- Nei, M. dan S. Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, Oxford.
- Noor, R. R. 2008. *Genetika Ternak*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Purwantini, D., S. A. Santoso, dan Ismoyowati. 2017. Single Nucleotide Polymorphism Genotypes of The Follicle Stimulating Hormone Gene Associated with Egg Production From Tegal and Magelang Ducks With Their Resulting Reciprocal Crosses. *International Journal Of Poultry Science* pp 434-442.
- Stansfield, I., K. M. Jones, P. Herbert, A. Lewendon, W. V. Shaw, dan M. F. Tuite. 2003. Missense Translation Errors in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Molecular Biology*. 282:13-24.
- Suharno, B. dan K. Amri. 2010. *Panduan Beternak Itik Secara Intensif*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Vasconcellos, L. P. M. K., D. T. Talhar, A. P. Pereira, L. L. Coutinho, dan L. C. A. Regitano. 2003. Genetic Characterization of Aberdeen. *Genetic and Molecular Biology*. 26: 133-137.
- Warwick, E. J., J. M. Astuti, W. Hardjosoebroto. 1990. *Pemuliaan Ternak, Edisi ke Empat*. UGM Press, Yogyakarta