

IDENTIFIKASI MUTASI GEN *FOLLICLE STIMULATING HORMONE* (FSH) PADA ITIK PITALAH SUMATERA BARAT

*Identify Follicle Stimulating Hormone (FSH) Gene Mutation of West Sumatera
Pitalah Ducks*

Stefani Fitri Haryati^{1)*}, K. Subekti¹⁾, F. Arlina¹⁾, Rusfidra¹⁾, dan R. Amelia¹⁾

¹⁾ Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Limau Manis, Padang, Sumatera Barat

*Corresponding author: stefani.fitri.haryati@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to identify Follicle Stimulating Hormone (FSH) gene mutation of West Sumatera Pitalah ducks. This study used blood samples from 50 Pitalah ducks (5 males and 45 females). Extraction blood samples was analyzed by Kit from iNtRON Biotechnology and amplification of DNA extraction used the primer with fragmen target 318 bp. Sequencing was analyzed by 1st Base Singapore and this product was analyzed by Dnastar. Based on the result of the study is identify Follicle Stimulating Hormone (FSH) gene mutation of West Sumatera Pitalah ducks.

Keywords: FSH, Gene, Mutation, Pitalah Duck, Sequencing

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi mutasi gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada itik Pitalah Sumatera Barat. Sampel yang digunakan adalah darah dari 50 ekor itik Pitalah (5 jantan dan 45 betina). Isolasi dilakukan dengan protokol kit dari iNTRON Biotechnology dan diampifikasi dengan sepasang primer yang memiliki target 318 bp. DNA amplifikasi disekuensing menggunakan 1st Base Singapore dan dianalisis dengan Dnastar. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 11 titik mutasi pada daerah target gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada itik Pitalah Sumatera Barat.

Kata Kunci: FSH, Gen, Itik Pitalah, Mutasi, Sekuensing

PENDAHULUAN

Itik pitalah merupakan salah satu sumber daya genetik unik yang perlu dijaga kelestariannya. Itik Pitalah berasal dari Nagari Pitalah, Kabupaten Tanah Datar, Provinsi Sumatera Barat. Itik pitalah menjadi primadona dikalangan masyarakat karena memiliki keunggulan adaptasi yang baik dan tidak mengenal istilah afkir. Itik Pitalah menjadi salah satu itik lokal yang potensial untuk dikembangkan dan menjadi rumpun itik asli Sumatera Barat yang telah disahkan (Kepmentan, 2011). Keberadaan itik Pitalah saat ini sudah mulai sulit untuk dijumpai di habitat aslinya, sehingga perlu adanya upaya pelestarian dan

perlindungan untuk menjaga keaslian genetiknya. Untuk menjaga keaslian genetik itik Pitalah perlu dilakukan penelitian secara molekuler agar diketahui secara tepat susunan basa nitrogen pada DNA itik Pitalah.

Itik Pitalah memiliki peluang sebagai itik petelur yang handal, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian terkait gen yang mempengaruhi produksi telur. salah satu gen yang berpengaruh untuk produksi telur adalah *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Roimil dan Sarmanu (2008) menyatakan bahwa FSH berperan dalam mempengaruhi pertumbuhan folikel dan sekresi hormon steroid. Pertumbuhan folikel dengan kadar esterogen akan bekerja secara berbanding lurus, sehingga

akan meningkatkan zat pembentuk telur dan produksinya juga akan meningkat. FSH juga merangsang produksi sel telur di ovarium (Purwantini dkk., 2017). Pada ternak jantan FSH berperan dalam produksi sperma (Grigorova dkk., 2007).

Informasi terkait gen FSH pada itik lokal terutama itik Pitalah masih sangat minim, sehingga perlu adanya penelitian terkait gen FSH ini. Berdasarkan hal tersebut penelitian dilakukan secara khusus untuk memberikan informasi terkait mutasi gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) pada itik Pitalah Sumatera Barat.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan secara eksplorasi laboratorium, materi penelitian yang digunakan adalah sampel darah 50 ekor itik Pitalah (5 jantan dan 45 betina) yang diambil pada bagian *vena brachialis* dibagian sayap. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan terhadap sampel darah dengan prosedur dari Kit iNTRON Biotechnology yang terdiri dari *buffer CL*, *buffer WA*, *ethanol absolute*, *buffer BL*, *buffer CE*, *buffer WB*, *Proteinase K*, dan *RNase A*. Peralatan lain yang diperlukan untuk melakukan ekstraksi adalah *eppendorf sentrifuge*, *microtip*, *vortex*, *tissue steril*, *micropipet*, inkubator, dan *spin column*.

Desain Primer

Primer yang digunakan didesain berdasarkan GeneBank DQ232890.1 dengan primer *forward* 5'-CTGTGGCGACCATCCTGAAT-3' dan primer *revers* 5'-GTAGGGGAGGCCTGAAGAGA-3' yang memiliki suhu T_m sebesar 60°C dengan

panjang target 318 bp yang terletak di ekson bagian akhir.

Amplifikasi Gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH)

Bahan yang digunakan untuk melakukan amplifikasi DNA adalah produk hasil ekstraksi 2 μ , primer 2 μ , NFW 8 μ , dan *master mix* 10 μ . Sedangkan peralatan yang diperlukan meliputi seperangkat mesin PCR, *microtip*, *micropipet*, dan tabung *eppendorf*.

Elektroforesis

Elektroforesis dilakukan untuk memvalidasi produk hasil amplifikasi. Bahan yang diperlukan adalah *agarose*, *loading day*, *ethidium bromide*, *buffer TBE*, produk hasil amplifikasi, dan DNA marker 100 bp. Peralatan yang digunakan adalah *powersupply elektroforesis*, *microtip*, *micropipet*, *UV-trans iluminator*, *stirrer*, gelas ukur, sarung tangan, kacamata UV, dan botol pereaksi.

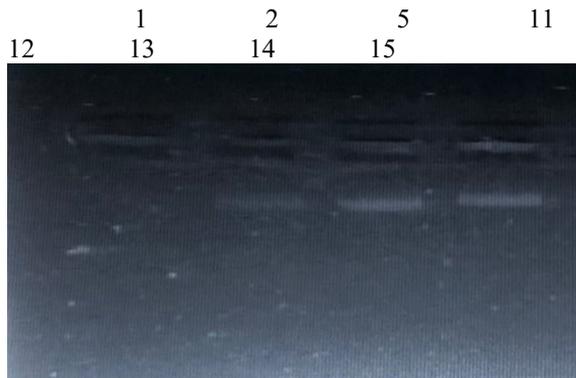
Identifikasi Mutasi Gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH)

Produk hasil amplifikasi yang telah divalidasi dengan melakukan elektroforesis kemudian disekuensing setelah itu dilakukan analisis dengan menggunakan *software Dnastar* untuk mengetahui titik mutasi yang terjadi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

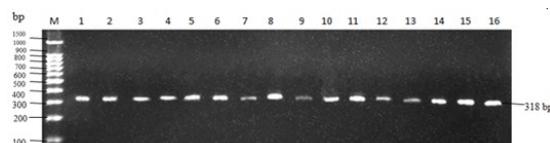
Ekstraksi DNA Itik Pitalah

Ekstraksi DNA yang dilakukan terhadap 50 sampel itik Pitalah menggunakan prosedur Kit iNTRON Biotechnology dielektroforesisi dengan agarose 1% dan divisualisasikan dengan menggunakan *UV-trans iluminator*. Hasil yang diperoleh dari isolasi DNA yang telah divisualisasikan disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil elektroforesis isolasi DNA sampel darah Itik Pitalah

Berdasarkan Gambar 1 dapat diketahui bahwa beberapa dari hasil isolasi DNA yang diperoleh menunjukkan fragmen DNA yang terlihat kurang jelas. Konsentrasi DNA yang tinggi akan menunjukkan visualisasi pita yang terang, begitu juga sebaliknya. Rendahnya konsentrasi DNA hasil isolasi akan menghasilkan pita yang berukuran kecil dan tipis. Pita DNA yang terlihat samar dan menyebar mengindikasikan bahwa terdapat ikatan antar molekul yang terputus saat isolasi terjadi, sedangkan penggumpalan atau tidak menyebarnya pita DNA menjadi salah satu petunjuk bahwa DNA tersebut memiliki konsentrasi yang tinggi dan dalam kondisi yang utuh (Irmawati, 2003). Mulyani dkk. (2011) menambahkan bahwa ikatan antar molekul DNA yang terputus dapat terjadi karena adanya gerakan berlebihan saat proses isolasi misalnya saat penghomogenan dan pemipetan, selain itu juga dapat disebabkan karena suhu kurang tepat saat inkubasi dan residu dari ethanol yang masih tersisa.



Gambar 2. Hasil amplifikasi gen FSH itik Pitalah

Amplifikasi Gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH)

DNA hasil ekstraksi diamplifikasi dengan sepasang primer *forward* 5'-CTGTGGCGACCATCCTGAAT-3' dan primer *revers* 5'-GTAGGGGAGGCCTG AAGAGA-3'. Primer berfungsi sebagai cetakan atau pembatas (Handoyo dan Rudiretna, 2001). Hasil amplifikasi dapat dilihat pada Gambar 2.

Primer yang digunakan pada proses amplifikasi ini berhasil mengamplifikasi gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) sesuai dengan target yang diharapkan sepanjang 318 bp. Gambar 4 menunjukkan bahwa gen FSH dan primer bekerja secara spesifik dengan terlihatnya satu pita DNA disetiap sumur dan sesuai dengan target yang diharapkan. Sesuai dengan Joshi dan Deshpande (2010) yang menyatakan bahwa amplifikasi DNA yang berhasil dapat divisualisasikan dengan gel *agarose*, amplifikasi dikatakan berhasil ketika dalam satu sumur terlihat satu pita DNA yang ukurannya sesuai dengan target. Kemurnian DNA hasil ekstraksi yang digunakan mempengaruhi hasil amplifikasi. Peccia dan Hernadez (2006) menyatakan bahwa kemurnian yang diperoleh dalam ekstraksi DNA merupakan tahapan penentu dan sangat penting dalam penelitian Biologi Molekuler.

Identifikasi Mutasi Gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH)

Identifikasi mutasi gen *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dilakukan dengan menganalisis data sekuensing yang telah diperoleh dari 1st Base Singapore menggunakan *software* Dnastar. Hasil identifikasi menunjukkan terdapatnya 11 titik mutasi seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Mutasi pada gen FSH itik Pitalah

Mutasi	Posisi	Jenis Mutasi
Del A	ATG + 282	Delesi
Ins G	ATG + 313	Inseri
A→G	ATG + 354	Transisi
A→C	ATG + 359	Transversi
G→A	ATG + 362	Transisi
C→T	ATG + 434	Transisi
T→G	ATG + 510	Transversi
C→A	ATG + 528	Transversi
C→T	ATG + 533	Transisi
T→C	ATG + 543	Transisi
T→G	ATG + 544	Transversi

Berdasarkan Tabel 1 diketahui 11 titik mutasi yang disebut sebagai sumber keragaman atau *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). Titik mutasi yang berhasil diidentifikasi terdiri dari 1 titik delesi (ATG + 282), 1 titik insersi (ATG + 313), 4 titik mutasi transversi (ATG + 359, ATG + 510, ATG + 528, ATG + 544), dan 5 titik mutasi transisi (ATG + 354, ATG + 362, ATG + 434, ATG + 533, ATG + 543). Mutasi tipe delesi terjadi ketika ada penghapusan basa pada sekuen, sebaliknya pada mutasi insersi terjadi penambahan yang awalnya tidak ada pada sekuen aslinya (Maulani dkk., 2016). Identifikasi mutasi tipe transversi terjadi melalui peruntukan sekuen yang menunjukkan adanya perubahan basa purin (G,A) ke pirimidin (C,T) atau sebaliknya. Sedangkan mutasi transisi terjadi ketika adanya perubahan dengan sesama basa purin (G,A) dan sesama basa pirimidin (C,T). Menurut Stansfield dkk. (2003) perubahan genetik yang termasuk ke dalam mutasi ini terjadi secara acak sehingga dapat meningkatkan kemampuan untuk bertahan hidup, tumbuh, dan memproduksi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa identifikasi mutasi gen FSH pada itik Pitalah Sumatera Barat menunjukkan terdapat 11 titik mutasi dengan jenis insersi, delesi, transisi, dan transversi. Posisi mutasi tersebut terjadi di daerah 5'-UTR dan ekson gen FSH.

DAFTAR PUSTAKA

- 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 Humans Geneticis*. 71(1): 18-28.
- Handoyo, D. dan A. Rudiretna. 2001. General principles and implementation of Polymerase Chain Reaction. *Pusat Studi Bioteknologi Universitas Surabaya*. 9(1): 17-29.
- Irmawati. 2003. Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus Generasi Pertama Pada Stock Hatchery. Thesis, IPB, Bogor.
- Joshi, M. dan J. D. Deshpande. 2010. Polymerase Chain Reaction: methods, principles, and application. *Journal of Biomedical Research*. 1:81-97.
- Keputusan Menteri Pertanian. 2011. Kepmentan No 2923/Kpts/OT.140/6/2011 tentang Penetapan Rumpun Itik Pitalah. Kementerian Pertanian, Jakarta.
- Maulani, N. L., Sutopo, dan E. Kurnianto. 2016. Keragaman Genetik Itik Magelang Berdasarkan Lebar Kalung Leher Melalui Analisis Protein Plasma Darah di Satuan Kerja Itik Unit Banyubiru Ambarawa. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, Vol. 11, No. 1: 23-30.

- Mulyani, Y., A. Purwanto, dan I. Nurruhwati. 2011. Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (KHV) Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) . Jurnal Akuatika, Vol. II, No. 1: 1-16.
- NCBI. 2006. LOCUS DQ232890 1909 bp mRNA linear, *Anas platyrhynchos* follicle-stimulating hormone beta-subunit. Diakses Tanggal 20 Agustus 2022.
- Peccia, J. dan M. Hernandez. 2006. Incorporating Polymerase Chain Reaction based identification population characterization and quantification of microorganisms into aerosol. A Review. Atmospheric Environment. 40: 3941-3961.
- 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. 16(11): 434-442.
- Roimil, L. dan Sarmanu. 2008. Manipulasi reproduksi pada itik petelur afkir dengan pregnant mare serum Gonadotropin. J. Peneliti. Med. Eksakta. 7(1): 83-91.
- 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.