

**IDENTIFIKASI KERAGAMAN GEN *GROWTH HORMONE* (GH) PADA
DOMBA DORPER**

SKRIPSI

Oleh

EVI DWI SRI RAHAYU



**PROGRAM STUDI S-1 PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

IDENTIFIKASI KERAGAMAN GEN *GROWTH HORMONE* (GH) PADA
DOMBA DORPER

Oleh

EVI DWI SRI RAHAYU
NIM: 23010122130114

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Peternakan pada Program Studi S-1 Peternakan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Evi Dwi Sri Rahayu
NIM : 23010122130114
Program Studi : S-1 Peternakan

dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Skripsi yang berjudul: **Identifikasi Keragaman Gen *Growth Hormone* (GH) pada Domba Dorper** dan penelitian yang terkait merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu: **Dr. Dela Ayu Lestari, S. Pt., M. Si. dan Asep Setiaji, S.Pt., M.Si., Ph.D.**

Apabila dikemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik, maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari program studi S-1 Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Juni 2026

Penulis



Evi Dwi Sri Rahayu

Mengetahui,

Pembimbing Utama

A handwritten signature of Dr. Dela Ayu Lestari, consisting of a large circle with a vertical line through it and a horizontal stroke at the bottom.

Dr. Dela Ayu Lestari, S. Pt., M. Si.

Pembimbing Anggota

A handwritten signature of Asep Setiaji, featuring a large, flowing loop at the beginning followed by several smaller, connected strokes.

Asep Setiaji, S.Pt., M.Si., Ph.D.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : IDENTIFIKASI KERAGAMAN GEN
GROWTH HORMONE (GH) PADA DOMBA
DORPER

Nama Mahasiswa : EVI DWI SRI RAHAYU

Nomor Induk Mahasiswa : 23010122130114

Program Studi/Departemen : S-1 PETERNAKAN/PETERNAKAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

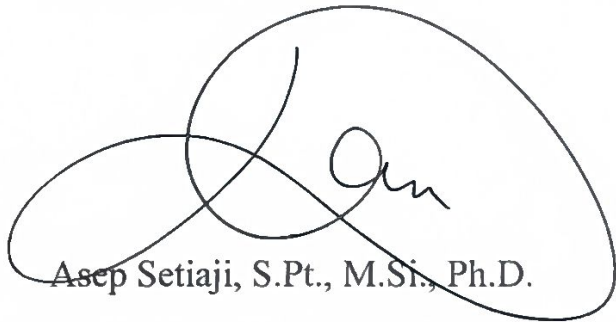
Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji dan
dinyatakan lulus pada tanggal **2..6...JUN...2026**

Pembimbing Utama



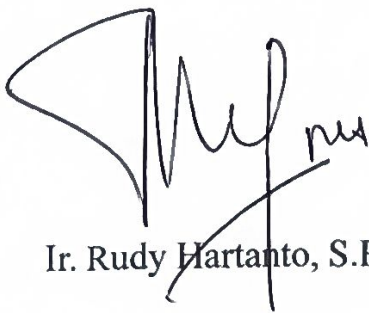
Dr. Dela Ayu Lestari, S.Pt., M. Si.

Pembimbing Anggota



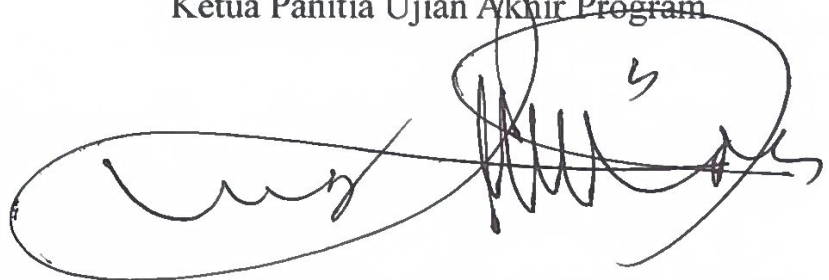
Asep Setiaji, S.Pt., M.Si., Ph.D.

Ketua Program Studi



Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



Prof. Ir. Vitus Dwi Yuniarto Budi Ismadi,
M.S., M.Sc., Ph.D., IPU.

Dekan



Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Departemen



Dr. Ir. Sri Sumarsih, S.Pt., M.P. IPM.

RINGKASAN

EVI DWI SRI RAHAYU. 23010122130114. 2026. Identifikasi Keragaman Gen *Growth Hormone* (GH) pada Domba Dorper. (Pembimbing: **DELA AYU LESTARI** dan **ASEP SETIAJI**)

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman gen *Growth Hormone* (GH) pada domba Dorper. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei - Januari 2025. Pengambilan sampel penelitian dilakukan di peternakan domba Dorper di Kabupaten Malang. Analisis gen dan data penelitian dilaksanakan di Laboratorium Genetika, Pemuliaan dan Reproduksi Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah. Analisis sekuensing dilakukan di PT. Genetika Science Indonesia.

Materi yang digunakan adalah sampel darah dari 78 domba Dorper betina dan 16 Dorper jantan dengan rentang umur 8 bulan - 4 tahun. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode observasional. Metode yang dilakukan terdiri dari koleksi darah domba Dorper, ekstraksi DNA menggunakan DNA gSYNC™ DNA Extraction Kit dari Geneaid, amplifikasi gen GH menggunakan sepasang primer yaitu primer forward F;5'CAGGACCCAGTTCACCAGAC-3' dan primer reverse R;5'CTCCATTTTCCACCCTCCCC-3', *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) menggunakan enzim restriksi ApaI (10 U/μL), sekuensing menggunakan metode Sanger, dan analisis data menggunakan software MEGA12 dan Bioedit. Parameter yang dianalisis yaitu jumlah titik keragaman dan jenis mutasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh sampel domba Dorper memiliki pola restriksi yang sama pada lokus yang diamati menggunakan enzim ApaI, sehingga tidak ditemukan keragaman genetik pada situs pengenalan enzim tersebut. Analisis sekuensing mengungkap adanya 11 titik mutasi yang berada di luar situs restriksi ApaI. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa lokus yang diamati bersifat monomorfik berdasarkan analisis PCR-RFLP menggunakan enzim ApaI karena tidak terdapat mutasi pada daerah pengenalan enzim restriksi. Meskipun demikian, pendekatan sekuensing berhasil mengidentifikasi 11 variasi nukleotida di luar situs restriksi yang tidak dapat dideteksi melalui metode PCR-RFLP. Oleh karena itu, penelitian lanjutan diperlukan untuk mengkarakterisasi mutasi-mutasi tersebut secara lebih mendalam, termasuk menentukan frekuensi alel dan genotipnya pada populasi yang lebih luas serta mengevaluasi potensi asosiasinya dengan sifat-sifat produksi dan reproduksi pada domba Dorper.

KATA PENGANTAR

Domba Dorper menjadi salah satu ras unggulan domba pedaging yang dikembangkan di Indonesia. Domba Dorper dimanfaatkan sebagai domba pedaging untuk memenuhi permintaan daging di Indonesia. Salah satu gen utama yang mempengaruhi sifat pertumbuhan adalah gen *Growth Hormone* (GH). Hal tersebut menjadikan dasar pentingnya dilakukan program pemuliaan melalui seleksi genetik, khususnya untuk sifat pertumbuhan domba Dorper. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman gen GH sebagai kandidat penanda genetik sifat pertumbuhan pada domba Dorper.

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penulisan skripsi. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak yang terkait dalam penyelesaian skripsi:

1. Dr. Dela Ayu Lestari, S.Pt., M.Si selaku pembimbing utama dan Asep Setiaji, S.Pt., M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing anggota serta Koordinator Laboratorium Genetika Pemuliaan, dan Reproduksi atas dukungan dan bimbingannya dalam melaksanakan kegiatan penelitian dan penulisan skripsi.
2. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian yang telah memfasilitasi dan mendukung secara penuh kegiatan penelitian dan penulisan skripsi.
3. Dr. Sri Sumarsih, S.Pt., M.P., IPM. selaku Ketua Departemen Peternakan yang telah memfasilitasi dan mendukung secara penuh kegiatan penelitian dan penulisan skripsi.

4. Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM. selaku Kepala Program Studi S-1 Peternakan sekaligus Dosen Wali yang telah memfasilitasi dan mendukung secara penuh kegiatan penelitian dan penulisan skripsi.
5. Seluruh dosen dan staf administrasi Program Studi S-1 Peternakan dan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah membantu penulis dalam proses belajar maupun pengurusan administrasi.
6. Dr. Achiriah Febriana S.Pt., M.Sc. selaku peneliti utama dalam penelitian postdoctoral, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjadi bagian dari penelitian tersebut serta memberikan arahan dalam pelaksanaannya.
7. Orang tua serta kakak yang telah memberikan doa dan dukungan berupa motivasi dan materil kepada penulis.
8. Yashinta, Shofi, Erma, Zahra, Atylla, Zerlinda, Iqbal, Dayinta, teman-teman asisten Lab GPR, Tim Kedu, Tim Genetika, serta Kelas D yang selalu memberikan doa, saran, dan dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa di dalam proses penyusunan penelitian ini memiliki kekurangan baik teknis penulisan maupun materi. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak baik bagi penulis, bagi universitas, maupun para pembaca umumnya.

Semarang, Juni 2026

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR ILUSTRASI.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Domba Dorper.....	4
2.2. <i>Gen Growth Hormone</i>	5
2.3. Ekstraksi Deoxyribonucleic Acid.....	5
2.4. Elektroforesis.....	6
2.5. <i>Polymerase Chain Reaction</i>	7
2.6. <i>Restriction Fragmen Length Polymorphism</i>	8
2.7. <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>	9
2.8. Sekuensing DNA.....	10
2.9. Keragaman Genetik.....	10
BAB III MATERI DAN METODE.....	12
3.1 Materi.....	12
3.2 Metode.....	13
3.3. Analisis data.....	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
4.1. Hasil Isolasi DNA Domba Dorper.....	20
4.2. Hasil Amplifikasi Gen GH Domba Dorper.....	21
4.3. Hasil Restriksi Gen GH Domba Dorper.....	23

4.4. Hasil Sekuensing.....	24
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	31
5.1 Simpulan.....	31
5.2. Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN.....	39
RIWAYAT HIDUP.....	72

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Tahapan Proses <i>Polymerase Chain Reaction</i>	16
2. Jenis dan Posisi Mutasi pada Gen GH Domba Dorper.....	26

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Simulasi penempelan primer pada analisis PCR dan pemotongan ezim restriksi ApaI.....	17
2. Hasil elektroforesis gel agarosa DNA genome domba Dorper.....	20
3. Visualisasi Hasil Amplifikasi fragmen gen <i>Growth Hormone</i> Domba Dorper.....	22
4. Hasil elektroforesis PCR-RFLP gen <i>Growth Hormone</i> setelah dipotong oleh enzim restriksi ApaI.....	23
5. Hasil sekuensing gen GH Domba Dorper pada situs restriksi enzim ApaI.....	25
6. Perbedaan kromatogram sampel tanpa insersi dan sampel dengan insersi.....	29

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Langkah Desain Primer menggunakan Pick Primer di NCBI.....	39
2. Hasil Restriksi Gen GH menggunakan enzim restriksi ApaI.....	43
3. Langkah Analisis Sekuen dengan MEGA 12.....	46
4. Hasil Kromatogram Analisis Sekuensing gen GH pada Domba Dorper.....	48
5. Hasil Alignment Gen GH Domba Dorper.....	68

BAB I

PENDAHULUAN

Domba merupakan salah satu ruminansia kecil dengan peminat tinggi karena mudah dipelihara serta memiliki prospek besar dalam pemenuhan kebutuhan daging nasional. Domba Dorper menjadi salah satu ras unggulan domba pedaging yang dikembangkan di Indonesia. Ras Dorper terdiri atas dua jenis, yaitu Dorper putih yang seluruh tubuhnya berbulu putih, dan Dorper kepala hitam dengan ciri khas kepala serta leher berwarna hitam (Milne, 2000). Domba Dorper merupakan ras domba asal Afrika Selatan hasil dari persilangan domba Blackhead Persian dan Dorset Horn pada tahun 1930-an (Wanjala *et al.*, 2023). Hasil persilangan ini menciptakan ras Dorper yang mewarisi sifat Blackhead Persian yang mampu beradaptasi pada kondisi iklim kering maupun semi-kering dan sifat Dorset Horn yang menghasilkan daging dengan kualitas yang baik (Cloete *et al.*, 2000). Berdasarkan karakteristik dan produktivitasnya, domba Dorper memiliki potensi besar dikembangkan untuk memenuhi permintaan daging di Indonesia.

Produktivitas ternak dipengaruhi oleh interaksi antara faktor genetik dan lingkungan (Kurniawati *et al.*, 2023). Salah satu upaya yang dilakukan untuk meningkatkan produktivitas tersebut adalah melalui seleksi genetik, namun di Indonesia seleksi masih banyak dilakukan secara konvensional berdasarkan fenotipe atau penampilan luar ternak. Metode ini memiliki keterbatasan yaitu membutuhkan waktu yang relatif lama karena adanya interval generasi (Pratama *et al.*, 2024). Identifikasi genotipe yang berasosiasi dengan fenotipe unggul

memungkinkan seleksi terarah untuk menghasilkan ternak dengan karakteristik yang diinginkan (Tanış dan Keskin, 2025). Oleh karena itu, seleksi molekuler melalui *Marker-Assisted Selection* (MAS) menjadi alternatif yang lebih akurat dan efisien (El-Mansy *et al.*, 2023).

Gen *Growth Hormone* (GH) memiliki peran signifikan dalam mengatur berbagai proses biologis, baik pada tingkat sel maupun dalam memengaruhi karakteristik fenotipe organisme secara keseluruhan (Kunda *et al.*, 2020). Gen GH mengkodekan hormon pertumbuhan yang berkontribusi besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan pascanatal melalui pengaturan metabolisme protein, karbohidrat, dan lemak, serta secara tidak langsung berperan dalam perkembangan tulang dan sistem rangka (Madikadike *et al.*, 2024). Gen GH terletak pada kromosom 11, dengan panjang 1958 bp (*Accession Number*: KU341778.1) yang terdiri atas 5 ekson dan 4 intron (Muniasamy *et al.*, 2023).

Sejumlah penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ditemukan mutasi berupa *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) pada exon 2 dan intron 2 gen GH yang berasosiasi dengan sifat pertumbuhan (Hua *et al.*, 2009). Wanjala *et al.* (2023) juga melaporkan pada kambing Boer dan domba Kilakarsal, ditemukan SNP pada exon 2 yang mengubah asam amino *Serine* menjadi *Glycine*. Sementara itu, Han *et al.*, (2016) menemukan tiga SNP gen GH di exon 2 dan intron 2 pada domba Chinese Tibetan, yang dua di antaranya terbukti signifikan memengaruhi bobot badan, panjang badan, tinggi badan, dan lingkar dada. Temuan tersebut menunjukkan bahwa gen GH berpotensi digunakan sebagai kandidat penanda genetik untuk sifat pertumbuhan.

Penelitian keragaman gen GH pada domba Dorper di Indonesia masih terbatas, sehingga penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi kandidat penanda genetik untuk mendukung seleksi berbasis molekuler. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman gen GH pada domba Dorper. Manfaat dari penelitian yaitu memberikan informasi yang dapat menjadi dasar pengembangan strategi seleksi berbasis molekuler dalam upaya peningkatan mutu genetik domba Dorper. Hipotesis penelitian ini yaitu terdapat keragaman gen GH pada domba Dorper.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Domba Dorper

Domba Dorper merupakan ras hasil persilangan antara Blackhead Persian dan Dorset Horn pada tahun 1930-an di Afrika (Wanjala *et al.*, 2023). Hasil persilangan ini menciptakan ras Dorper yang mewarisi sifat Blackhead Persian yang mampu beradaptasi pada kondisi iklim kering maupun semi-kering dan sifat Dorset Horn yang menghasilkan daging dengan kualitas yang baik (Cloete *et al.*, 2000). Ras Dorper terdiri atas dua jenis, yaitu Dorper putih yang seluruh tubuhnya berbulu putih, dan Dorper kepala hitam dengan ciri khas kepala serta leher berwarna hitam (Milne, 2000). Ras ini banyak dikembangkan di seluruh dunia termasuk Indonesia karena produktivitasnya yang baik. Sholikhah *et al.* (2022) melaporkan bahwa bobot lahir Domba Dorper di Indonesia yaitu 3,3 kg, dan bobot badan umur 4 bulan sebesar 21,91 kg. Jannah *et al.* (2025) juga melaporkan bahwa domba Dorper di Indonesia memiliki rata-rata bobot lahir sebesar 3,35 kg, bobot sapih 23,93 kg, dan PBBH prasapih 203,88g /hari. Keunggulan dari domba Dorper yaitu memiliki daya adaptasi yang tinggi, ketahanan terhadap penyakit, toleransi terhadap pakan kasar, serta ciri khas berupa kemampuan mengganti bulu secara alami (Yuan *et al.*, 2024).

2.2. Gen *Growth Hormone*

Growth Hormone (GH) merupakan hormon protein anabolik yang diproduksi oleh sel somatotrop kelenjar pituitari anterior dan termasuk dalam superfamili ligan serta reseptor sitokin (Bilezikian *et al.*, 2020). GH berperan dalam pengaturan metabolisme, baik secara langsung melalui katabolisme lemak maupun secara tidak langsung melalui sintesis protein yang dimediasi oleh *insulin-like growth factor-I* (IGF-I), serta berfungsi dalam modulasi sistem imun (Daniel *et al.*, 2002). Hormon ini dikodekan oleh gen GH yang berkontribusi besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan pascanatal melalui pengaturan metabolisme protein, karbohidrat, dan lemak, serta secara tidak langsung berperan dalam perkembangan tulang dan sistem rangka (Madikadike *et al.*, 2024).

Gen GH pada domba terletak pada kromosom 11, dengan panjang 1958 bp (*Accession Number*: KU341778.1) yang terdiri atas 5 ekson dan 4 intron (Muniasamy *et al.*, 2023). Mutasi gen GH pada domba dilaporkan berasosiasi dengan sifat pertumbuhan (Wanjala *et al.*, 2023). Mutasi gen GH juga dilaporkan secara signifikan memengaruhi bobot badan, panjang badan, tinggi badan, dan lingkar dada (Han *et al.*, 2016).

2.3. Ekstraksi *Deoxyribonucleic Acid*

Ekstraksi DNA adalah tahapan awal dalam penelitian molekuler yang bertujuan memisahkan DNA dari berbagai komponen sel lainnya melalui serangkaian proses tertentu (Ariyanti dan Sianturi, 2019). Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode meliputi ekstraksi organik yaitu metode fenol-

kloroform, metode non-organik yaitu melalui pengendapan garam dan perlakuan proteinase K, dan metode adsorpsi menggunakan membran silika-gel (Gupta, 2019). Meskipun ekstraksi DNA dapat dilakukan melalui berbagai metode, namun secara umum seluruh metode tersebut terdiri atas tiga tahap utama, yaitu lisis, separasi, dan presipitasi (Buchori *et al.*, 2023). Tahap pertama adalah lisis sel, yaitu proses penghancuran dinding dan membran sel untuk melepaskan asam nukleat ke dalam larutan. Tahap kedua adalah pemurnian atau separasi, yang bertujuan menghilangkan kontaminan non-asam nukleat seperti protein, lipid, dan senyawa organik maupun anorganik lainnya. Tahap terakhir adalah presipitasi, yaitu pengendapan asam nukleat untuk memperoleh sampel yang lebih murni (Lever *et al.*, 2015).

2.4. Elektroforesis

Elektroforesis gel agarosa atau poliakrilamida merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan, menganalisis, mengidentifikasi, dan memurnikan fragmen DNA (Green dan Sambrook, 2019). Teknik ini bekerja dengan prinsip pemisahan molekul bermuatan berdasarkan mobilitasnya dalam medan listrik, dimana molekul bermigrasi menuju elektroda sesuai perbedaan ukuran fragmen, bentuk, dan muatan (Rana dan Joshi, 2023). Agarosa sebagai media gel memiliki sifat pembentukan matriks penyaringan yang kuat, reversibel secara termal, serta ukuran pori yang dapat disesuaikan, sehingga sangat cocok untuk pemisahan berbagai biopolimer termasuk DNA dan RNA (Sárközy dan Guttman, 2024).

DNA yang bermuatan negatif karena memiliki tulang punggung gula–fosfat akan bergerak menuju kutub anoda melalui matriks gel, dan laju migrasinya bergantung pada ukuran fragmen, dimana fragmen yang lebih kecil bergerak lebih cepat (Arslan *et al.*, 2021). Elektroforesis gel agarosa juga digunakan untuk mengevaluasi keberhasilan reaksi PCR (Wittmeier dan Hummel, 2022). Hasil elektroforesis selanjutnya dilihat melalui visualisasi pita DNA. Visualisasi pita DNA dilakukan dengan UV *transilluminator* yang mendeteksi fluoresensi pewarna DNA yang terikat pada fragmen dalam gel (Robba *et al.*, 2024). Hasil elektroforesis ini berupa pita, yang mana pita optimal ditandai oleh band yang tebal, tunggal, dan sesuai dengan ukuran target (Setyawati dan Zubaidah, 2021).

2.5. *Polymerase Chain Reaction*

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah teknik untuk mereplikasi dan mengamplifikasi sekuens DNA tertentu secara *in vitro* dalam jumlah besar melalui reaksi berantai (Bera *et al.*, 2020). Suatu sekuens target tertentu yang hanya muncul satu kali dalam DNA yang sangat kompleks dan berukuran besar dapat diamplifikasi secara cepat dan selektif melalui reaksi berantai eksponensial yang menghasilkan jutaan salinan (Green dan Sambrook, 2019). PCR dilakukan dengan *termocycler* dan melibatkan tiga langkah utama yaitu denaturasi templat DNA pada suhu 92–95°C, *annealing* primer pada suhu 50–70°C, dan ekstensi molekul DNA pada suhu sekitar 72°C yang mana langkah-langkah ini diulang selama 30–40 siklus (Gupta, 2019). PCR memerlukan beberapa komponen utama, yaitu templat DNA atau cDNA yang mengandung fragmen target, sepasang primer untuk menentukan

batas amplifikasi, enzim Taq polimerase untuk menyalin DNA, nukleotida sebagai bahan penyusun DNA baru, serta buffer yang menyediakan lingkungan kimia optimal bagi kerja enzim (Shafeeq, 2021).

2.6. *Restriction Fragment Length Polymorphism*

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) adalah pemotongan pita DNA menggunakan enzim restriksi pada situs spesifik untuk menghasilkan fragmen dengan ukuran berbeda (Hashim dan Al-Shuhaib, 2019). Enzim restriksi adalah protein bakteri yang mengenali sekuens DNA tertentu dan memotong kedua untai DNA pada atau di dekat situs restriksi (Hazarika *et al.*, 2024). Perbedaan pada situs pemotongan DNA menghasilkan fragmen dengan panjang yang bervariasi, sehingga spesies maupun *strain* dapat dibedakan berdasarkan pola fragmen khas yang dimilikinya (Perumalsamy *et al.*, 2025).

Genom individu dalam spesies yang sama dapat menghasilkan fragmen DNA yang berbeda setelah proses restriksi karena adanya mutasi titik, insersi, delesi, translokasi, inversi, dan duplikasi (Amom dan Nongdam, 2017). Perbedaan dapat diamati ketika panjang fragmen yang dihasilkan berbeda, yang menunjukkan bahwa enzim restriksi memotong DNA pada lokasi yang tidak sama. Polimorfisme restriksi terjadi ketika mutasi menghilangkan situs restriksi yang sudah ada atau menciptakan situs restriksi yang baru (Yadav *et al.*, 2017).

2.7. *Single Nucleotide Polymorphism*

Single Nucleotide Polymorphism (SNP) merupakan mutasi genetik berupa perubahan satu basa nukleotida tunggal pada urutan DNA di lokasi tertentu dalam genom yang berpotensi memengaruhi perbedaan sifat kuantitatif pada ternak (Rozi *et al.*, 2025). SNP dapat ditemukan pada daerah pengode, non-pengode, maupun intergenik dalam genom (Desai dan Chauhan, 2016). SNP yang berada pada daerah pengode dibedakan menjadi SNP sinonim dan non-sinonim, di mana SNP sinonim mengubah basa nukleotida tanpa mengubah urutan asam amino protein karena adanya degenerasi kode genetik, namun tetap dapat memengaruhi ekspresi protein melalui perubahan modifikasi pascatranskripsi, laju translasi, dan mekanisme regulasi lainnya (Yang *et al.*, 2022). SNP non-sinonim merupakan mutasi yang mengubah satu basa nukleotida sehingga mengubah urutan asam amino yang dihasilkan. SNP non-sinonim dibedakan menjadi mutasi *missense* dan *nonsense*, di mana mutasi *missense* menyebabkan perubahan residu asam amino yang dapat memengaruhi aktivitas, struktur, dan kelarutan protein, sedangkan mutasi *nonsense* mengakibatkan terminasi translasi secara prematur sehingga menghasilkan protein yang terpotong dan umumnya tidak fungsional (Alzahrani *et al.*, 2020). SNP di daerah non-pengode atau pada daerah 5' UTR, 3' UTR, dan intron berperan penting dalam regulasi ekspresi gen, variasi genetik, serta pengendalian proses translasi protein (Akter *et al.*, 2021).

2.8. Sekuensing DNA

Sekuensing DNA merupakan suatu proses atau metode yang digunakan untuk mengidentifikasi urutan basa nukleotida DNA pada bagian tertentu dari struktur DNA (Lokapirnasari *et al.*, 2017). Sejarah perkembangan teknologi sekuensing DNA dapat digambarkan melalui tiga generasi. Generasi pertama mencakup metode Maxam–Gilbert dan Sanger, generasi kedua yang dikenal sebagai *Next-Generation Sequencing* (NGS) meliputi metode Roche 454, Illumina, SOLiD, dan Ion Torrent, sedangkan generasi ketiga mencakup metode PacBio dan ONT (Eren *et al.*, 2023). Sekuensing Sanger merupakan salah satu metode sekuensing DNA yang paling penting dan umum digunakan (Al-Shuhaib dan Hashim, 2023). Secara singkat, Metode Sanger dapat dijelaskan melalui dua tahap, yaitu tahap pertama berupa sintesis enzimatis dari serangkaian fragmen DNA yang diarahkan oleh templat yang masing-masing diakhiri oleh residu dideoksiribonukleotida spesifik sesuai dengan templat, kemudian tahap kedua berupa pemisahan elektroforetik serta deteksi sekuens (McCombie *et al.*, 2019).

2.9. Keragaman Genetik

Keragaman genetik merupakan perbedaan susunan DNA antarindividu dalam satu spesies yang menimbulkan variasi sifat (Minter *et al.*, 2021). Keragaman ini dapat muncul melalui rekombinasi antar lokus regulator yang berdekatan maupun melalui mutasi baru yang berpotensi menguntungkan dan berkontribusi terhadap variasi genetik jangka panjang (Notter, 1999). Secara umum, komponen keragaman genetik meliputi keragaman genetik aditif, dominan, dan epistasis

(Sulastri *et al.*, 2018). Keragaman genetik pada ternak menjadi aspek fundamental dalam studi pemuliaan untuk memenuhi kebutuhan produksi, mendukung adaptasi terhadap perubahan lingkungan, serta menjadi dasar penyusunan strategi konservasi pada tingkat spesies, ras, dan galur (Meydan *et al.*, 2024).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-Januari 2025. Pengambilan sampel penelitian dilakukan di peternakan domba Dorper di Kabupaten Malang. Analisis gen dan data penelitian dilaksanakan di Laboratorium Genetika, Pemuliaan dan Reproduksi Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah. Analisis sekuensing dilakukan di PT. Genetika Science Indonesia.

3.1. Materi

Materi yang digunakan adalah sampel darah dari 78 domba Dorper betina dan 16 Dorper jantan dengan rentang umur 8 bulan - 4 tahun dari Pusat Pelatihan Pertanian dan Perdesaan Swadaya (P4S) CV. Mitra Ternak Utama Kabupaten Malang, Jawa Timur. Ternak dipilih berdasarkan kesesuaiannya dengan karakteristik domba Dorper yaitu memiliki tubuh dan kaki berwarna putih, sedangkan kepala dan bagian leher atas berwarna hitam. Bahan yang digunakan meliputi DNA gSYNC™ DNA Extraction Kit dari Geneaid, etanol, larutan TBE, akuades, agarosa, FloroSafe DNA stain, DNA ladder, DNA loading dye, MyTaq HS Red Mix, ddH₂O, sepasang primer yaitu primer forward F;5'CAGGACCCAGTTCACCAGAC-3' dan primer reverse R;5'CTCCATTTTCCACCCTCCCC-3', serta enzim restriksi ApaI (10 U/μL). Alat yang digunakan meliputi sarung tangan lateks, ice box, ice gel, alat tulis, label, spuit 3 ml, tabung EDTA 3 ml, *micropipette*, oven, *gel electrophoresis system*, inkubator, *spindown*, Benchmark TC 9639 *Gradient Thermal Cycler*,

microwave, vortex, mini centrifuge, Eppendorf Centrifuge 5427R, Gel Documentation System ENDURO™ GDS Touch II, freezer, gelas beker, erlenmeyer, magnetic stirrer, timbangan analitik, microtip, gel tray, gel comb, collection tube, microtube, dan PCR tube.

3.2. Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian yaitu observasional pada materi yang diamati. Metode penelitian ini terdiri atas tahap pra penelitian, penelitian, dan analisis data.

3.2.1. Pra Penelitian

Tahap pra-penelitian berupa studi literatur dan pemilihan sampel yang akan digunakan. Studi literatur dilakukan dengan cara membaca artikel ilmiah mengenai topik polimorfisme pada gen GH serta celah penelitian pada domba Dorper di Indonesia. Pemilihan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling*. Kriteria yang digunakan dalam penelitian ini adalah domba yang memiliki fenotipe sesuai dengan karakteristik domba Dorper. Pemilihan dilakukan dengan mempertimbangkan ciri fisik ternak, seperti penampilan tubuh tipe pedaging, warna tubuh, serta karakteristik umum yang mencerminkan bangsa Dorper.

3.2.2. Tahap Penelitian

Tahap penelitian meliputi pengambilan sampel darah domba dan analisis genetik. Tahap analisis genetik terdiri atas tahap ekstraksi DNA, amplifikasi gen GH, RFLP, elektroforesis dan sekuensing.

3.2.2.1. Tahap Pengambilan Darah. Pengambilan darah domba dilakukan dengan mengambil darah pada bagian vena jugularis sebanyak 3 ml. Darah dimasukkan pada tabung vacutainer EDTA kemudian disimpan sementara pada ice box yang berisi ice gel dan selanjutnya disimpan di freezer.

3.2.2.2. Tahap Ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan gSYNC™ DNA Extraction Kit dari Geneaid. Proses ekstraksi terdiri atas tahap preparasi sampel, lisis sel, pengikatan DNA, pencucian, dan elusi. Sebanyak 200 µl darah domba dipindahkan ke dalam tabung mikrocentrifuge 1,5 ml. Sampel kemudian ditambahkan 200 µl PBS dan 20 µl Proteinase K. Campuran dihomogenkan menggunakan vortex kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 5 menit. Tahap lisis sel dilakukan dengan penambahan 200 µl GSB Buffer pada campuran kemudian dihomogenkan hingga merata. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 30 menit dan dihomogenkan ulang setiap 5 menit selama inkubasi.

Tahap pengikatan DNA dilakukan dengan penambahan 200 µl absolut etanol kemudian segera dihomogenkan. Sampel dipindahkan ke dalam GS Column pada Collection Tube 2 ml. Sampel disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 2 menit. Collection Tube yang berisi filtrat dibuang dan GS Column dipindahkan ke Collection Tube baru. Tahap pencucian dilakukan dengan

penambahan 400 μ l Buffer W1 ke dalam GS Column. Sampel disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 2 menit kemudian filtrat dibuang. GS Column dipasang kembali ke dalam Collection Tube kemudian sebanyak 600 μ l Wash Buffer ditambahkan ke dalam GS Column. Sampel selanjutnya disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit atau sampai GS Column dikeringkan sempurna.

Tahap terakhir yaitu elusi dilakukan dengan memindahkan GS Column ke tabung mikrosentrifuge 1,5 ml yang bersih. Sebanyak 75 μ l Buffer Elusi yang telah diinkubasi terlebih dahulu pada suhu 60 °C, ditambahkan ke bagian tengah GS Column. Sampel selanjutnya disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 2 menit. Proses elusi diulangi dua kali sehingga volume akhir DNA yang diperoleh sebanyak 150 μ l. DNA hasil ekstraksi dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarosa 1%. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 volt selama 25 menit. Hasil elektroforesis diamati menggunakan Gel Documentation System. DNA yang berhasil diekstraksi ditunjukkan oleh pita DNA yang jelas dan terang.

3.2.2.3. Tahap Amplifikasi Gen GH. Amplifikasi gen GH dilakukan dengan metode Polymerase Chain Reaction PCR menggunakan hasil ekstraksi DNA sebagai templat. Bahan yang digunakan dalam analisis PCR yaitu isolat 3 μ l isolat DNA, 1 μ l primer forward, 1 μ l primer reverse, 25 μ l MyTaq HS Red Mix dan 20 μ l PCR water. Semua bahan ini dimasukkan ke dalam PCR tube dan dihomogenkan kemudian dimasukkan ke dalam Thermal Cycler. Tahap PCR terdiri atas pre-denaturation, denaturation, annealing, extension dan final extention. Suhu dan lama waktu didasarkan pada manual guide MyTaq HS Red Mix serta petunjuk

dari primer yang digunakan. Lama waktu dan suhu untuk masing-masing tahapan secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Tahapan Proses *Polymerase Chain Reaction*

Tahap	Suhu	Waktu	Siklus
	---(°C)---	---(detik)---	
<i>Pre-denaturation</i>	95	60	1
<i>Denaturation</i>	95	15	
<i>Annealing</i>	61,7	15	40
<i>Extention</i>	72	40	
<i>Final Extension</i>	72	300	1

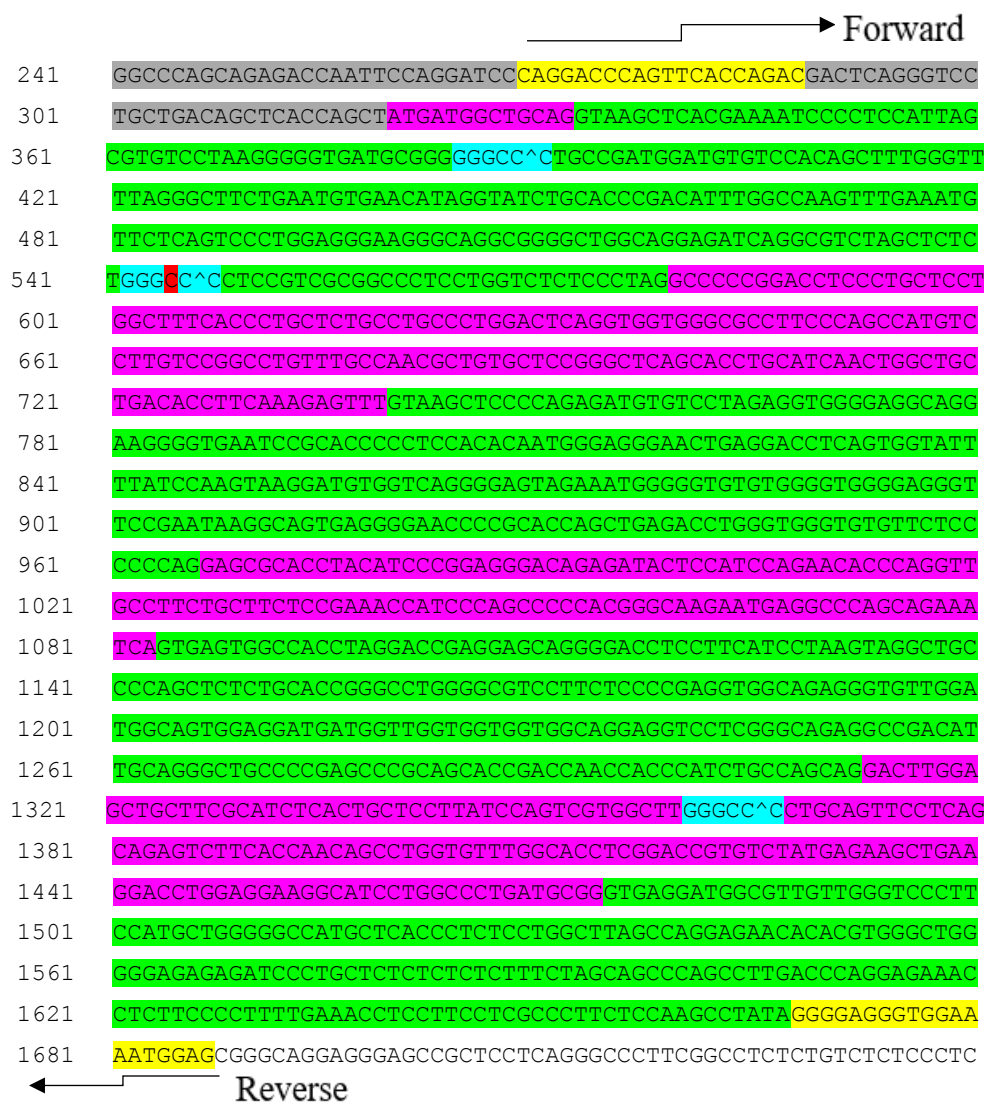
Hasil PCR selanjutnya dielektroforesis dengan gel agarosa 1% dengan tegangan 100 volt selama 27 menit. Hasil simulasi penempelan primer menunjukkan produk PCR sepanjang 1419 bp. Primer forward menempel pada promotor region dan primer reverse menempel pada parsial intron 4.

3.2.2.4. Tahap Restriksi. Tahap Restriction Fragmen Length Polimorfism (RFLP) gen GH dilakukan menggunakan enzim restriksi *ApaI*. Enzim restriksi *ApaI* dihasilkan oleh *Acetobacter pasteurianus* sub. *pasteurianus*. Enzim *ApaI* termasuk enzim restriksi tipe II yaitu memotong pada posisi konstan di dalam atau dekat situs pengenalannya. Enzim restriksi *ApaI* merekognisi sekuens GGGCCC dan memotong pada bagian GGGCC[^]C. Hasil pemotongan enzim *ApaI* berupa urutan basa nitrogen dengan ujung sticky end. Terdapat 3 titik potong berdasarkan produk PCR yang dihasilkan sehingga dihasilkan 4 fragmen.

Bahan yang digunakan pada tahap restriksi yaitu 5 µl produk PCR, 0,5 µl *ApaI*, 1 µl buffer B dan 9 µl PCR *water*. Semua bahan tersebut dicampur kedalam microtube kemudian dihomogenkan dengan vortex. Campuran ini selanjutnya diinkubasi selama 5 jam pada suhu 37°C. Produk hasil restriksi selanjutnya

dielektroforesis dengan agarose gel 3% dengan tegangan 50 volt selama 50 menit.

Simulasi penempelan primer dan pemotongan enzim dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Simulasi penempelan primer dan situs restriksi enzim restriksi ApaI.

Keterangan; Highlight kuning menunjukkan lokasi penempelan primer, merah menunjukkan target SNP (rs593006678), biru menunjukkan situs restriksi enzim ApaI (GGGCC[^]C), abu-abu menunjukkan daerah promotor, ungu menunjukkan daerah ekson, dan hijau menunjukkan daerah intron. Pemotongan enzim restriksi menghasilkan fragmen berukuran 121 bp, 157 bp, 819 bp, dan 322 bp.

3.2.2.5. Tahap Visualisasi Dengan Elektroforesis. Tahap visualisasi dengan elektroforesis dilakukan setelah proses ekstraksi DNA, PCR, dan restriksi. Isolat DNA sebanyak 3 μ l dicampur dengan 1 μ l loading dye. Campuran ini selanjutnya dimasukkan ke dalam sumur agarose 1% dan dielektroforesis selama 20 menit dengan tegangan 100 volt. Visualisasi hasil PCR dilakukan dengan memasukkan produk PCR ke dalam sumur agarose 1% dan dielektroforesis selama 37 menit dengan tegangan 100 volt. Visualisasi hasil restriksi dilakukan dengan memasukkan 4 μ l produk hasil restriksi ke dalam sumur agarosa 3% dan dielektroforesis selama 50 menit dengan tegangan 50 volt. Proses visualisasi produk PCR dan restriksi diberi tambahan DNA ladder yang dimasukkan ke sumur paling ujung sebagai penunjuk panjang fragmen.

3.2.2.4. Tahap Sekuensing. Tahap sekuensing merupakan tahap pembacaan urutan basa nukleotida pada suatu fragmen DNA. Berdasarkan hasil RFLP diketahui sampel memiliki satu genotipe, dari genotype tersebut dipilih 5 sampel perwakilan untuk disekuensing. Sampel yang dikirim harus memenuhi kriteria yaitu hasil elektroforesis harus menunjukkan pita DNA yang tegas dan terang pada tahap ekstraksi, amplifikasi maupun restriksi. Proses sekuensing dilakukan di PT. Genetika Science Indonesia dengan metode Sanger. Metode Sanger digunakan untuk menentukan urutan nukleotida berdasarkan sintesis DNA baru yang dihentikan pada basa tertentu (Abdullah *et al.*, 2011).