

# Keragaman Gen IGF-1 Exon 4 pada Kambing Gembrong, Samosir dan Kosta di Loka Penelitian Kambing Potong Sumatra Utara

## (Polymorphisme of IGF-1 Gene Exon 4 on Gembrong, Samosir and Kosta Goat in Indonesian Goat Research Station in North Sumatra)

Mahmilia F, Alwiyah, Destomo A

*Loka Penelitian Kambing Potong Sei Putih  
Galang Po Box 1 Sei Putih, Sumatra Utara  
nawal\_alwiyah@yahoo.co.id*

### ABSTRACT

Preservation and utilization of genetic resources is important in order to increase the potential of local livestock in Indonesia, especially goats. One of the efforts to increase its potential is by directing it to a breeding program, namely the selection of genetic markers that affect its growth, one of which is the IGF-1 exon 4 gene. The materials used are Samosir (5), Kosta (14) and Gembrong (8) goats. Forward primers used in this study are 5'-CACAGCGTATTATCCCAC-3' and reverse primers 5'-GACACTATGAGCCAGAAG-3'. Only one SNP was found, namely c.267G>C. The SNP is polymorphic in Gembrong, Samosir and Kosta goats. The CC genotype had a higher frequency in all three goats. The heterozygosity of the Gembrong and Kosta goats was in a genotype balance while the Samosir goat was not in a balance and had an insignificant HW value.

**Key words:** Gembrong, Samosir and Kosta, IGF-1 gene Exon 4, polymorphism

### ABSTRAK

Pelestarian dan pemanfaatan sumber daya genetik merupakan hal penting dalam rangka meningkatkan potensi ternak lokal di Indonesia khususnya kambing. Salah satu upaya peningkatan potensi adalah dengan mengarahkannya ke program pemuliaan, yaitu seleksi terhadap marka genetik yang berpengaruh terhadap pertumbuhannya salah satunya adalah gen IGF-1 exon 4. Materi yang digunakan adalah kambing Samosir (5 ekor), Kosta (14 ekor), dan Gembrong (8 ekor). Primer *forward* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5'-CACAGCGTATTATCCCAC-3' dan primer *reverse* 5'-GACACTATGAGCCAGAAG-3'. Ditemukan satu SNP saja yaitu c.267G>C. SNP tersebut bersifat polimorfik pada kambing Gembrong, Samosir, dan Kosta. Genotipe CC memiliki frekuensi yang lebih tinggi pada ketiga kambing. Heterozigositas kambing Gembrong dan Kosta berada dalam keseimbangan genotipe sedangkan kambing Samosir tidak berada dalam keseimbangan dan memiliki nilai HW yang tidak nyata.

**Kata kunci:** Kambing Samosir, Kosta, Gembrong, Gene IGF-1 exon 4, keragaman

## PENDAHULUAN

Kambing memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan yang ekstrim, fertilitas yang baik serta mampu memanfaatkan berbagai macam hijauan dengan efisien (Heriyadi 2004). Kambing memiliki potensi yang cukup baik untuk dikembangkan sebagai penghasil susu dan juga daging. Pelestarian dan pemanfaatan sumber daya genetik merupakan hal penting dalam rangka meningkatkan potensi ternak lokal di Indonesia. Terdapat berbagai jenis kambing yang saat ini berkembang di Indonesia. Dominasi kambing yang berkembang di Indonesia adalah kambing Kacang dan Peranakan Etawah (PE), namun di sisi lain masih banyak rumpun kambing yang lain seperti Marica (Sulawesi Selatan), Samosir (Provinsi Sumatra Utara), Muara (Tapanuli Utara, Sumatra Utara), Kosta (DKI Jakarta dan Banten), Gembrong (Provinsi Bali), Benggala (Nusa Tenggara Timur) dan lain sebagainya yang masih belum teridentifikasi. Beberapa plasma nutfah kambing yang sangat menarik untuk digali potensinya adalah kambing Gembrong, Samosir, dan Kosta. Kambing Gembrong merupakan kambing yang berasal dari Kabupaten Karangasem Provinsi Bali. Kambing ini memiliki ciri khas berupa memiliki bulu yang panjang. Mahmilia et al. (2007) menyatakan bahwa kambing Gembrong masuk dalam kategori *endangered* (terancam). Kambing Samosir merupakan kambing yang berasal dari Provinsi Sumatra Utara yang memiliki ciri spesifik berwarna putih dan belang hitam. Kambing Kosta diduga merupakan hasil persilangan antara Kambing Kacang dengan Kambing Kashmir (kambing impor), mempunyai bentuk tubuh sedang, hidung rata dan kadang-kadang ada yang melengkung, tanduk pendek, bulu pendek (Dinas Pertanian dan Peternakan Provinsi Banten 2011).

Salah satu upaya peningkatan potensi adalah dengan mengarahkannya ke program pemuliaan. Program pemuliaan yang dapat dilakukan dalam rangka meningkatkan perkembangan plasma nutfah salah satunya adalah dengan perbaikan mutu genetik melalui seleksi. Seleksi dapat dilakukan dengan pendekatan berdasarkan parameter genetik dan pendekatan berdasarkan molekuler menggunakan marker molekuler. Sebelum mendapatkan marker molekuler maka langkah awal yang harus dilakukan adalah menemukan polimorfisme. Salah satu sifat yang umumnya sedang menjadi tren dalam kegiatan penelitian molekuler adalah sifat pertumbuhan.

Sifat pertumbuhan dikontrol oleh beberapa gen, salah satu gen yang mengontrol sifat produksi dan pertumbuhan pada ternak adalah gen Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1). Gen IGF-1 merupakan salah satu gen pertumbuhan yang mengontrol pertumbuhan postnatal (Sellier 2000). IGF-1 sangat penting dalam fungsi biologis yaitu sebagai kunci regulasi molekul yang berefek pada proliferasi, mitosis, myogenesis, meiosis, diferensiasi dan reproduksi (Thomas et al. 2016). Siadkowska et al. (2006) melaporkan terdapat korelasi antara IGF-1 dengan bobot sapih dan produksi susu pada sapi Frisian-Holstein Polandia. Deng et al. (2010)

menghubungkan gen IGF-1 dengan produksi susu dan ukuran tubuh kambing perah Cina. Beberapa peneliti telah melaporkan korelasi antara konsentrasi IGF-I dengan berbagai sifat kuantitatif, di antaranya adalah berat sapih, berat pasca-sapih (Davis & Simmen 1997). Zhang et al. (2008) melaporkan SNP di intron 4 IGF-1 berasosiasi pada bobot lahir, bobot 6 bulan dan dua belas bulan. Penelitian sebelumnya menyatakan adanya keragaman di daerah promotor gen IGF-1 yang berpengaruh nyata pada sifat pertumbuhan, konformasi tubuh pada 277 kambing di India.

Berdasarkan uraian di atas, sifat pertumbuhan dari kambing Samosir, Gembrong, dan Kacang perlu diketahui dengan mengidentifikasi keragaman gen IGF-1 dengan teknik PCR-*Sequencing* serta mengetahui hubungannya dengan sifat pertumbuhan (bobot lahir, bobot enam bulan, dan dua belas bulan sebagai upaya melengkapi informasi kambing dalam program pemuliaan di masa yang akan datang.

## MATERI DAN METODE

### Isolasi DNA

Persiapan sampel untuk penelitian keragaman gen IGF-1 exon 4 pada kambing Samosir, Kosta dan Gembrong (27 sampel) diawali dengan koleksi sampel darah sebanyak 5 mL dari vena jugulari. Isolasi DNA dilakukan dengan metode Sambrook et al. (1989). Darah diambil sebanyak 200 µl, lalu ditambahkan 1.000 µL DW dalam tabung eppendorf 1,5 ml, kemudian di-*vortex* dan didiamkan selama 5 menit. Sampel selanjutnya disentrifus pada kecepatan 8.000 rpm selama 5 menit dan supernatan yang terbentuk dibuang. Endapan ditambahkan 40 µl SDS 10%, 10 µl proteinase-K (5 mg/ml-1) dan 1×STE sampai 400 µl, kemudian diinkubasi pada suhu 55°C selama 2 jam sambil digoyang secara perlahan menggunakan *tilter*. Degradasi bahan organik dilakukan dengan menambahkan 400 µl *phenol solution*, 400 µl CIAA, dan 40 µl NaCl 5M, kemudian digoyang selama 1 jam pada suhu ruang. Molekul DNA dipisahkan dari fenol dengan cara disentrifus pada kecepatan 12 000 rpm selama 5 menit, sehingga terbentuk fase DNA (bening). Fase DNA sebanyak 400 µl dipindahkan ke tabung baru untuk ditambahkan 800 µl EtOH *absolute* 70% dan 40 µl NaCl 5M, kemudian *freezing (overnight)*. Molekul DNA disentrifus pada kecepatan 12 000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan EtOH *absolute*. Supernatan yang mengendap dibuang. Endapan didiamkan hingga kering untuk disuspensikan dalam 100 µl TE 80%, 300 µl dalam tabung.

### Amplifikasi gen IGF1 Exon 4

Primer *forward* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5'-CACAGCGTATTATCCCAC-3' dan primer *reverse* 5'-GACACTATGAGCCAGAAG-3' (Liu et al. 2010). Sampel DNA hasil ekstraksi

sebanyak 1 µl dimasukkan ke dalam tabung PCR, lalu ditambahkan 49 µl larutan *premix*. *Premix* tersusun atas 0,3 µl primer, 23,4 µl DW, 25 µl *Green Master Mix*. Produk PCR diidentifikasi menggunakan elektroforesis dengan 1,5% gel agarose. Produk PCR berupa *forwards* dan *reverse* disekuensing oleh 1<sup>st</sup> Base, Selangor Malaysia.

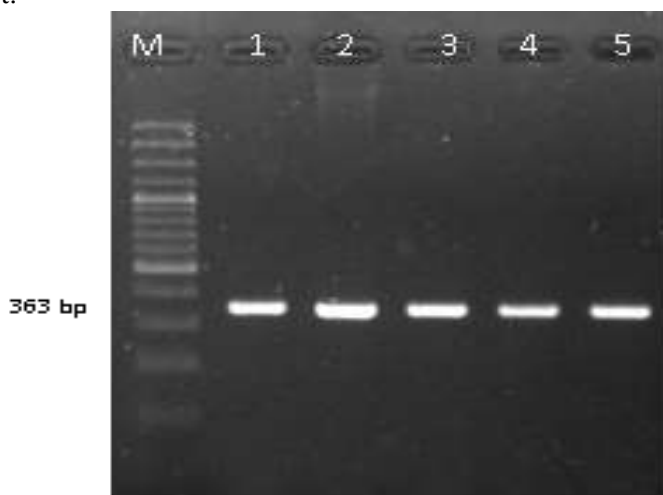
#### **Analisis Data Gen IGF-1 Exon 4**

Data hasil sekuensing dianalisis dengan menggunakan BioEdit program (Hall 1999), dan determinasi *Single Nucleotide Polymorphisme* (SNP) diidentifikasi menggunakan *Molecular Evolutionary Genetics Analysis 6* (MEGA6) (Tamura et al. 2011). Frekuensi alel, genotype dan Keseimbangan Hardy-Weinberg dihitung menggunakan GENEPOP (V3.2) (Raymond & Rousset 2001).

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **Keragaman Gen IGF-1 Exon 4**

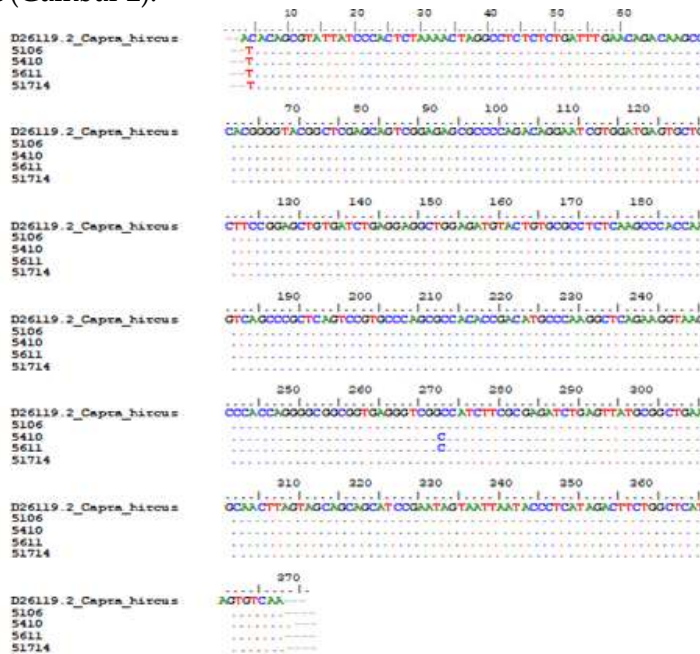
Gen IGF-1 exon 4 berhasil diamplifikasi pada suhu 60°C selama 20 detik dengan panjang produk PCR adalah 363 bp (Gambar 1). Berbeda dengan penelitian Sharma et al. (2013) yang memiliki suhu *annealing* 57°C. Adanya perbedaan tersebut disebabkan oleh kondisi mesin PCR dan campuran pereaksi PCR. Suhu penempelan primer (*annealing*) berkisar antara 36-72°C, namun suhu yang biasa digunakan adalah 50-60°C (Muladno 2002). Menurut Pelt-Verkuil et al. (2008) waktu *annealing* yang dibutuhkan supaya primer dapat berkomplemen dan menempel dengan targetnya bergantung pada kapasitas pemanasan mesin *thermocycler* yang digunakan, volume campuran PCR serta konsentrasi primer dan gen target.



**Gambar 1.** Hasil amplifikasi gen IGF1 Exon 4 pada kambing; M = marker DNA 100 bp

### Deteksi mutasi gen IGF-1 Exon 4

Setelah proses amplifikasi selesai, sampel dikirimkan ke 1<sup>st</sup> Base Selangor Malaysia untuk dilakukan sekuensing. Setelah mendapatkan hasil sekuensing data diverifikasi melalui perunut dan penyetaraan hasil sekuensing dengan *Capra hircus* dengan nomer akses HQ731040. Berdasarkan hasil perunut ditemukan satu SNP di exon 4 yaitu SNP c.267G>C. SNP tersebut bersifat polimorfik (Gambar 2).



**Gambar 2.** Perunutn sekuen gen IGF-1 Exon 4 pada kambing Samosir, Gembrong dan Kosta

### Keragaman Gen IGF-1 Exon 4

Frekuensi *genotype* gen IGF-1 *flanking region* pada sampel kambing Gembrong, Samosir, dan Kosta yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Frekuensi genotipe dan frekuensi Alel gen IGF1 Exon 4 pada kambing Gembrong, Samosir, dan Kosta

Bangsa kambing	Frekuensi genotipe			Frekuensi alel		Ho	He	HW test
	GG	GC	CC	G	C			
Gembrong	0.00	0.25	0.75	0.13	0.88	0.25	0.225	*
Samosir	0.00	0.20	0.80	0.18	0.82	0.675	0.51	tn
Kosta	0.00	0.36	0.64	0.13	0.87	0.26	0.23	*

Hasil analisis menunjukkan bahwa pada exon 4 ditemukan satu titik mutasi yaitu titik c.267G>C. Polimorfik atau keragaman dapat ditunjukkan dengan adanya dua alel dalam satu populasi. Hasil penelitian ini tidak berbeda dengan hasil penelitian lain pada kambing lain (Lan et al. 2007; Wu-Jun et al. 2010), sebab dalam populasi kambing tersebut kemungkinan terjadi tiga mekanisme yang dikemukakan Suryanto (2003) sebagai penyebab terjadinya keragaman, tiga mekanisme tersebut adalah mutasi, rekombinasi (perpasangan alel secara bebas), dan migrasi gen dari satu tempat ke tempat lain.

Pada kambing Gembrong, Samosir, dan Kosta tersebut hanya ditemukan dua genotipe saja, yaitu genotipe GC dan CC. Frekuensi genotipe CC lebih tinggi (0,75, 0,80, dan 0,64) di ketiga kambing tersebut dibandingkan dengan genotipe GC (0,25, 0,20, 0,36). Hal tersebut tidak berbeda dengan penelitian Liu et al. (2010) pada kambing Xinjiang frekuensi genotipe yang tertinggi adalah genotipe CC (0,486) kemudian genotipe GG (0,277) dan genotipe GC (0,237), sedangkan pada kambing Nanjiang Chasmere frekuensi genotipe GG adalah 0,487, CC adalah 0,274, dan GC adalah 0,238. Nei (2000) menyatakan bahwa suatu alel dikatakan polimorfik atau beragam jika memiliki frekuensi alel sama dengan atau kurang dari 0,99. He et al. (2012) pada domba Han ekor tipis bahwa genotip CC cenderung mempunyai litter size lebih tinggi genotip GG dan GC.

Marson et al. (2005) menyatakan bahwa keragaman genetik suatu populasi dapat diukur menggunakan nilai heterozigositas yang bertujuan untuk membantu program seleksi. Dari tabel tersebut dapat diketahui bahwa nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) tidak terlalu berbeda jauh dengan heterozigositas harapan ( $H_e$ ), kecuali untuk kambing Samosir yang jauh berbeda. Menurut Tambasco et al. (2003) perbedaan antara nilai heterozigositas pengamatan ( $H_o$ ) dan nilai heterozigositas harapan ( $H_e$ ) dapat dijadikan sebagai indikator adanya ketidakseimbangan genotipe pada populasi yang diamati yang diindikasikan bahwa sudah ada kegiatan seleksi yang dilakukan dan tidak adanya perkawinan acak. Menurut Nei (1989) dalam Mulliadi & Arifin (2010) bahwa nilai heterozigositas berkisar antara 0 (nol) sampai dengan 1 (satu). Apabila nilai heterozigositas mendekati 0 (nol) maka nilai heterozigositas rendah, apabila nilai heterozigositas mendekati 1 (satu), maka nilai heterozigositas tinggi. Apabila nilai heterozigositas sama dengan 0 (nol), maka diantara populasi yang diukur memiliki hubungan genetik yang sangat dekat dan apabila nilai heterozigositas sama dengan 1 (satu) maka di antara populasi yang diukur tidak terdapat hubungan genetik sama sekali. Keseimbangan populasi dapat dilihat melalui keseimbangan Hardy-Weinberg yang disajikan pada Tabel 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen IGF exon 4 SNP c.267G>C pada kambing Gembrong dan Kosta berada dalam keseimbangan. Sedangkan pada kambing Samosir tidak berada dalam keseimbangan. Adapun Faktor-faktor yang mempengaruhi keseimbangan dalam suatu populasi adalah *non-random mating*, seleksi, migrasi, mutasi dan *genetic drift* (Noor 2004).

Siadkowska et al. (2006) melaporkan terdapat korelasi antara IGF-1 dengan bobot sapih dan produksi susu pada sapi Frisian-Holstein Polandia. Deng et al. (2010) menghubungkan gen IGF-1 dengan produksi susu dan ukuran tubuh kambing perah Cina. Beberapa peneliti telah melaporkan korelasi antara konsentrasi IGF-I dengan berbagai sifat kuantitatif, diantaranya adalah berat sapih, berat pasca-sapih (Davis & Simmen 1997). Zhang et al. (2008) melaporkan SNP di intron 4 IGF-1 berasosiasi pada bobot lahir, bobot 6 bulan dan dua belas bulan. Penelitian sebelumnya menyatakan adanya keragaman di daerah promotor gen IGF-1 yang berpengaruh nyata pada sifat pertumbuhan, konformasi tubuh pada 277 kambing di India.

## KESIMPULAN

Gen IGF-1 exon 4 hanya ditemukan satu SNP saja, yaitu c.267G>C. SNP tersebut bersifat polimorfik pada kambing Gembrong, Samosir, dan Kosta. Genotipe CC memiliki frekuensi yang lebih tinggi pada ketiga kambing. Heterozigositas kambing Gembrong dan Kosta berada dalam keseimbangan genotipe sedangkan kambing Samosir tidak berada dalam keseimbangan dan memiliki nilai *Hardy Weinberg* yang tidak nyata.

## DAFTAR PUSTAKA

- Davis M.E and Simmen RCM. 1997. Genetic parameter estimates for serum insulin-like growth factor I concentration and performance traits in Angus beef cattle. *J Anim Sci.* 75:317-324.
- Deng C, Ma R., Yue X, Lan X, Chen H, Lei C. 2010. Association of IGF-1 gene polymorphisms with milk yield and body size in Chinese dairy goats. *Genetics molecular biol.* 33:266-270.
- Haryadi D. 2004. Standarisasi Mutu Bibit Kambing Peranakan Ettawa. Kerjasama Penelitian antara Dinas Peternakan Provinsi Jawa Barat dengan Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. Bandung.
- He JN, Zhang BY, Chu MX, Wang PQ, Feng T, Cao GL, Di R, Fang L, Huang DW, Tang QQ, Li N. (2012). Polymorphism of insulin-like growth factor 1 gene and its association with litter size in Small Tail Han sheep. *Mol Biol Rep.* 39:9801-9807.
- Lan XY, Pan CY, Chen H, Lei CZ, Hua LS, Yang XB, Qiu GY, Zhang RF, Lun YZ. 2007. Ddel polymorphism in coding region of goat POU1F1 gene and its association with production traits. *Asian-Aust J Anim Sci.* 20:1342-1348.
- Liu WJ, Xin FG, Yi F, Chuan T, Xi-Xia H, Hong C. 2010. The polymorphism of a mutation of IGF-1 gene on two goat breeds in China. *J Anim Vet.* 9:790-794.
- Wu-jun L, Guang-Xin F, Yi F, Ke-Chuan T, Xi-Xia H, Hong C. 2010. The Polymorphism of a mutation of IGF-1 gene on two goat breeds in China. *J Anim Vet.* 9:790-794.

- Mahmilia F, Pamungkas FA, Doloksaribu M. 2007. Laju Pertumbuhan Prasapih Dan Sapih Kambing Boer, Kacang Dan Boerka-1. Dalam: Darmono, Wina E, Nurhayati, Sani Y, Prasetyo LH, Triwulanningsih E, Sendow I, Natalia L, Priyanto D, Indraningsih, Herawati T, penyunting. Akselerasi agribisnis peternakan nasional melalui pengembangan dan penerapan IPTEK. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 21-22 Agustus 2007. Bogor (Indonesia): Puslitbang Peternakan. hlm. 441-446.
- Marson EP, Ferraz JBS, Meirelles FV, Balieiro JCC, Eler JP, Figuerido LGG, Mourao GB. 2005. Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. *J Genet Mol Res.* 4:496-505.
- Maylinda S. 2011. Genetic polymorphism of growth hormone locus and its association with body weight in Grati dairy cows. *Int J Biotechnol Mol Biol Res.* 2:117-120.
- Muladno. 2010. *Teknologi Rekayasa Genetika*. Ed Ke-2. Bogor (ID): IPB Pr.
- Nei M, Kumar S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York (US): Oxford University Pr.
- Noor RR. 2004. *Genetika Ternak*. Edisi 4. Jakarta (ID): Penebar Swadaya.
- Sellier P. 2000. Genetically caused retarded growth in animals Domest. *Anim Endocrinol.* 19:105-119.
- Van Pelt-Verkuil, E, van Belkum A, Hays JP. 2008. *Principles and Technical Aspects of PCR Amplification*. Netherlands: Springer.
- Raymond M, Rousset F. 2001. Genepop (3.2). Population Genetics Software for Exact Test and Ecumenicism (EB/ OL)(<http://www.wbiomed.curtin.edu.au/genepop>)
- Raymond,M, Rousset F. 2001. Genepop (3.3). Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism (EB/OL) (<http://www.wbiomed.curtin.edu.au/genepop>).
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. (1989). "Molecular cloning: A laboratory manual". USA: Cold Spring Harbor Lab ress.
- Siadkowska E, Zwierzchowski L, Oprzadek J, Strzalkowska N, Bagnieka E, Krzyzewski J. 2006. Effect of polymorphism in IGF-1 gene on production traits in Polish Holstein-Friesian cattle. *Anim Sci Pap Rep.* 24:225-237.
- Tambasco DD, Paz CCP, Tambasco-Studart M, Pereira AP, Alencar MM, Freitas AR, Coutinho LL, Packer IU, Regitano CA. 2003. Candidate genes for growth traits in beef cattle crosses *Bos taurus* x *Bos indicus*. *J Anim Breed Genet.* 120:51-56.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony methods. *Mol Biol Evol.* 28:2731-2739.
- Thomas N, Venkatachalapathy RT, Aravindakshan TV, Raghavan KC. 2016. Molecular cloning, SNP detection and association analysis of 5' flanking region of the goat IGF1 gene with prolificacy. *Anim Reprod Sci.* 167:8-15.



- Wu-Jun L, Guang-Xin F, Yi F, Ke-Chuan T, Xi-Xia H, Xin-Kui Y, Mou W, Hui Y, et al. (2010). The polymorphism of a mutation of IGF-1 gene on two goat breeds in China. *J Anim Vet Adv.* 9:790-794.
- Zhang C, Zhang W, Luo H, Yue W, Gao M, Jia Z. 2008. A New Single Nucleotide Polymorphism in the IGF-I Gene and Its Association with Growth Traits in the Nanjiang Huang Goat. *Asian-Aust J Anim Sci.* 21:1073-1079.