

PENENTUAN GENOTIP INDUK KAMBING PERANAKAN ETAWAH DENGAN METODE SEKUENSING DAN PCR-RFLP PADA GDF9

Nanik Prasetya Ningrum
19/439389/PT/08024

INTISARI

Kambing Peranakan Etawah atau PE adalah kambing hasil persilangan antara kambing Kacang dengan kambing Jamnapari (Etawah) dari India. Gen *Growth Differentiation Factor 9* (GDF9) adalah molekul polipeptida *family* dari TGF-BETA *Growth Factor* yang berperan dalam pendewasaan dan pematangan oosit. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) berdasarkan hasil sekuensing sebagai penanda genotip induk kambing PE, mengetahui peta enzim restriksi dan ukuran pemotongannya berdasarkan pengenalan SNP, mengetahui genotip ternak dengan metode *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) berdasarkan enzim restriksi yang teridentifikasi, serta mengetahui sebaran frekuensi alel, genotip, dan keseimbangan Hardy-Weinberg induk kambing PE. Materi yang digunakan berupa 26 induk kambing PE. Metode yang dilakukan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi target sekuen GDF9 dengan primer *forward* 5'-CTC CTC TTG AGC CTC TGG TG-3' dan *reverse* 5'-TCC AGT TGT CCC ACT TCA GC-3', sekuensing dengan primer *forward*, identifikasi SNP dan genotip dengan pembacaan elektroforegram, identifikasi enzim restriksi pada lokasi SNP, serta PCR-RFLP. Analisis yang dilakukan yaitu menghitung frekuensi alel dan genotip serta keseimbangan Hardy-Weinberg. Hasil penelitian menunjukkan SNP g.3855A>C dengan genotip AA dan AC. Berdasarkan SNP tersebut terdapat sekuen C'CG_G yang dikenali enzim restriksi *MspI* dan *HpaII*, sehingga dapat digunakan untuk *genotyping* dengan metode PCR-RFLP. Genotip homozigot AA (CAGG) menghasilkan pita 456 bp sedangkan genotip heterozigot AC (CMGG) menghasilkan pita 149 bp, 307 bp, dan 456 bp. Frekuensi genotip AA pada kambing PE sebesar 96% dan genotip AC sebesar 4% dengan frekuensi alel A sebesar 0,98 dan alel C sebesar 0,02. Hasil analisis *Chi-Square* berdasarkan perhitungan genotip dan alel pada populasi kambing PE berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg. Bagian ekson 2 gen GDF9 pada kambing PE dapat digunakan sebagai marker gen, dengan meningkatkan genotip AC dan CC melalui perkawinan kambing PE yang bergenotip AC.

Kata Kunci: Kambing Peranakan Etawah, GDF9, *Single Nucleotide Polymorphism*, enzim restriksi, PCR-RFLP

DETERMINATION OF THE GENOTYPE OF ETAWAH CROSSBREED GOATS USING SEQUENCE AND PCR-RFLP METHOD ON GDF9

Nanik Prasetya Ningrum
19/439389/PT/08024

ABSTRACT

Etawah Crossbreed or PE is a goat from the grading up of Kacang goats with Jamnapari (Etawah) goats from India. Growth Differentiation Factor 9 (GDF9) is a polypeptide family molecule of the TGF-BETA growth factor that plays a role in oocyte maturation. The study aims to identify Single Nucleotide Polymorphism (SNPs) as a marker of the PE goats genotype, to know the restriction enzyme map and the size of its cutting based on SNP, to know genotype with Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) method based on restriction enzymes, and to know the distribution of the allele and genotype frequencies and Hardy-Weinberg balance in PE goats. For this purpose, a total of 26 samples of PE goats were used in this study. This study had 5 stages, the first extraction DNA, amplification DNA with primary forward 5'-CTC CTC TTG AGC CTC TGG TG-3' and reverse 5'-TCC AGT TGT CCC ACT TCA GC-3' of the GDF9 gene, sequencing using primer forward, identification SNP and genotype with electrophorogram, identification enzyme restriction based on SNP, and PCR-RFLP. The analysis carried out was to calculate allele and genotype frequency and Hardy-Weinberg balance. The results of SNP analysis can be known SNP g.3855A>C with genotype AA and AC. At the location of SNPs there is C'CG_G sequence that identified restriction enzyme *MspI* and *HpaII*, so it can be used to identify genotype with PCR-RFLP method. Genotype AA (CAGG) have band 456 bp while genotype AC (CMGG) have bands 149 bp, 307 bp, and 456 bp. Frequency genotype AA is 96% and AC is 4% with allele frequency A of 0.98 and allele C of 0.02. The Chi-Square analysis based on genotype and allele calculation in the PE goats population in Hardy-Weinberg equilibrium. The exon 2 region of the GDF9 gene in PE goats can be used as a genetic marker by increasing the AC and CC genotypes thought mating of the PE goats with the AC genotype.

Keyword : Etawah crossbreed, GDF9, Single Nucleotide Polymorphism, restriction enzyme, PCR-RFLP