

IDENTIFIKASI KERAGAMAN GEN MYOSTATIN (MSTN|BsrI) PADA AYAM KAMPUNG DENGAN METODE PCR-RFLP

Identification of the Myostatin (MSTN|BsrI) Gene Polymorphism in Kampung Chicken Using PCR-RFLP Method

Fajrin Shidiq^{1*)}, Yulianto¹⁾, Asep Gunawan²⁾, Cece Sumantri²⁾

¹⁾ Pusat Riset Zoologi Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong. 16911. Indonesia

²⁾ Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor. 16690. Indonesia

*Corresponding author: fajrinshidiqbgr@gmail.com

Submitted 14 November 2022, Accepted 29 Juni 2023

ABSTRAK

Myostatin (MSTN) atau Growth and Differentiation Factor 8 (GDF8) adalah anggota dari superfamili Transforming Growth Factor (TGF)- β yang bertindak sebagai pengatur negatif pertumbuhan otot rangka. Mutasi pada ekson 2, di mana basa timin pada gen myostatin berubah menjadi basa guanin, mengubah asam amino leusin menjadi arginin, yang mempengaruhi berat badan ayam. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman gen myostatin pada 132 ekor ayam kampung yang terdiri dari ayam kampung Ciawi dan kampung Sukabumi. Sebagai perbandingan keragaman pada populasi besar digunakan ayam broiler, nunukan dan petelur. Keragaman gen diidentifikasi menggunakan metode Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) menggunakan enzim restriksi BsrI. Produk amplifikasi sepanjang 247 pb, genotipe yang ditemukan pada keragaman gen MSTN|BsrI adalah GG, GT dan TT. Hasil analisis menunjukkan bahwa frekuensi genotipe GT dan TT lebih tinggi dibandingkan dengan genotipe GG. Pada semua populasi frekuensi alel T lebih besar dari frekuensi alel G yaitu 0.72 dan 0.28. Gen MSTN|BsrI pada populasi ayam kampung Ciawi dan ayam broiler berada dalam kesetimbangan Hardy-Weinberg. Populasi ayam kampung Ciawi dan Sukabumi menunjukkan skor heterozigositas (H_o) lebih tinggi dari skor heterozigositas yang diharapkan (H_e), sedangkan ayam pedaging menunjukkan skor heterozigositas (H_o) sama dengan skor heterozigositas yang diharapkan (H_e). Gen MSTN|BsrI pada populasi Kampung Ciawi, Kampung Sukabumi dan ayam broiler bersifat polimorfik.

Kata kunci: Ayam kampung, keragaman, myostatin, PCR-RFLP

How to cite : Shidiq, F., Yulianto., Gunawan, A., & Sumantri, C. (2023). Identifikasi Keragaman Gen Myostatin (MSTN|BsrI) Pada Ayam Kampung Dengan Metode PCR-RFLP. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production* Vol 24, No 1 (59-68)

ABSTRACT

Myostatin (MSTN) or Growth and Differentiation Factor 8 (GDF8) is a member of the Transforming Growth Factor (TGF)- β superfamily which acts as a negative regulator of skeletal muscle growth. Mutations in exon 2, where the thymine base in the myostatin gene changes to a guanine base, convert the amino acid leucine to arginine, affecting the chickens' weight. This study aims to identify the diversity of the myostatin gene in 132 native chickens consisting of Ciawi and Sukabumi kampung chickens. To compare diversity in large populations, broiler, nunukan and layer chickens were used. Gene diversity was identified using the Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) method using the BsrI restriction enzyme. The amplification products were 247 bp, and the genotypes found in the MSTN/BsrI gene diversity were GG, GT and TT. The analysis showed that the frequency of the GT and TT genotypes was higher than that of the GG genotype. In all populations, the frequency of the T allele was greater than the G allele frequency, 0.72 and 0.28 respectively. The MSTN/BsrI gene in Ciawi kampung and broiler chickens is in Hardy-Weinberg equilibrium. Ciawi and Sukabumi kampung chicken populations showed a higher heterozygosity score (H_o) than the expected heterozygosity score (H_e), while broilers showed the same heterozygosity score (H_o) as the expected heterozygosity score (H_e). The MSTN/BsrI gene in the population of Ciawi kampung, Sukabumi kampung and broiler chickens is polymorphic.

Keywords: kampung chicken, polymorphism, myostatin, PCR-RFLP

PENDAHULUAN

Unggas memiliki peranan yang penting dalam pembangunan peternakan di Indonesia. Data(BPS, 2021) menunjukkan bahwa rata-rata produksi unggas untuk daging ayam ras pedaging pada tahun 2019 sampai 2021 mencapai 3,380,083.18 ton/tahun, sedangkan produksi daging ayam buras (kampung) adalah 272,001 ton/tahun, atau sekitar 8% dari total produksi daging ayam. Usaha peternakan ayam lokal, termasuk ayam kampung, belum berkembang dengan baik karena belum tersedianya bibit unggul dan cara budidaya yang masih tradisional (kurang efisien). Namun demikian, ayam kampung memiliki kelebihan yang cukup potensial bila dikembangkan, antara lain pemeliharaannya yang mudah, daya adaptasinya tinggi, tahan terhadap penyakit dan memiliki rasa daging khas yang lebih disukai dibandingkan dengan ayam ras pedaging (Zein & Sulandari, 2012).

Salah satu upaya untuk meningkatkan produksinya adalah peningkatan mutu genetik ternak ayam kampung melalui program seleksi. Kemajuan bioteknologi di

bidang genetika molekuler dapat dijadikan alternatif yang efektif, akurat dan efisien melalui penciri genetik berdasarkan gen-gen fungsional pengontrol pertumbuhan dan produksi daging. Salah satu gen yang merupakan gen utama dan penentu dalam pengontrol sifat pertumbuhan dan produksi daging adalah gen *Myostatin* (MSTN). Gen MSTN atau *Growth Differentiations Factor 8* (GDF8) merupakan anggota dari superfamili *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) yang berfungsi sebagai regulator negatif dari pertumbuhan otot skeletal (Dushyanth *et al.*, 2016). Gen *Myostatin* pada ayam terletak pada kromosom 7 yang terdiri dari 3 ekson dan 2 intron. Myostatin bereksresi pada otot skeletal dan otot *cardiac* (Ma *et al.*, 2014; Naji *et al.*, 2014). Mutasi non-sinonim basa Timin menjadi Guanin pada ekson 2 gen MSTN menyebabkan perubahan asam amino leusin menjadi arginin yang berasosiasi dengan bobot badan ayam, dan ditemukan juga pada fast dan slow growing chicken (Khaerunnisa *et al.*, 2023; Ye *et al.*, 2007), Pada Ayam lokal, mutasi pada ekson 2 mempengaruhi karakteristik karkas (Khaerunnisa *et al.*,

2016; Tanjung *et al.*, 2019). Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi keragaman gen *Myostatin* pada ayam asli/lokal Indonesia melalui metode *Polymorphism Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP).

MATERI DAN METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler Ternak, Bagian Pemuliaan dan Genetika, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

Pengambilan Sampel

Sebanyak 132 sampel darah ayam kampung diperoleh dengan mengambil darah menggunakan *spoit* atau pipa kapiler *haematokrit* pada *vena axillaris* bagian sayap, sampel ayam kampung terdiri atas 76 ekor ayam kampung Ciawi yang dipelihara di Laboratorium Lapang Pemuliaan dan Genetika Ternak sejak tahun 2012, 56 ekor ayam kampung Sukabumi yang dipelihara secara ekstensif di peternakan Surade Kecamatan Jampang Tengah, sebagai pembanding digunakan 21 ekor ayam broiler strain cobb, 6 ekor ayam nunukan, dan 17 ekor ayam petelur strain *isa brown*. Sebanyak 1 mL darah ayam diambil kemudian dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1.5 mL yang sebelumnya diisi serbuk EDTA guna membantu proses penghancuran. Sampel darah disimpan dalam refrigerator (suhu sekitar 4 °C) untuk menjaga kualitas sampel.

Ekstaksi DNA

Ekstraksi DNA mengacu pada (Sambrook *et al.*, 1989) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 20 µL darah diambil lalu ditambahkan 1,000 µL NaCl 0.2% dalam tabung eppendorf 1.5 mL, kemudian dicampur dan didiamkan selama 5 menit. Sampel selanjutnya disentrifugasi pada

kecepatan 8,000 rpm selama 5 menit dan supernatant 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 *nutating mixer*. Degradasi bahan organik dilakukan dengan menambahkan 400 µL *phenol solution*, 400 µL CIAA, dan 40 µL NaCl 5M, kemudian digoyang selama satu jam pada suhu ruang. Molekul DNA dipisahkan dari fenol dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 12,000 rpm selama lima menit sehingga terbentuk fase DNA (bening). Fase DNA dipindahkan ke tabung baru untuk ditambahkan 800 µL EtOH *absolute* 96% dan 40 µL NaCl 5M, kemudian sampel di *freezing* (overnight). Molekul DNA disentrifugasi pada kecepatan 12 000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan EtOH *absolute*. Supernatant yang mengendap dibuang. Endapan didiamkan hingga kering untuk disuspensikan dalam 100 µL TE 80%. Sampel DNA disimpan dalam *freezer*.

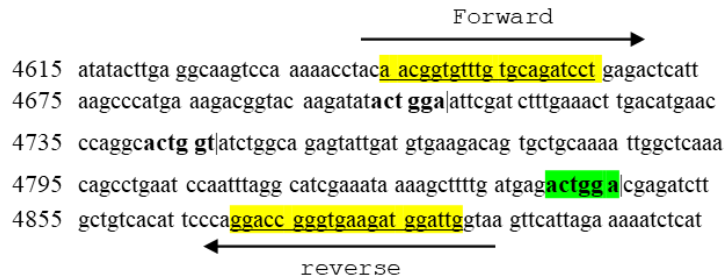
Amplifikasi DNA

Sampel DNA hasil ekstraksi sebanyak 0.5 µL dimasukkan ke dalam tabung eppendorf, ditambahkan sebanyak 14 µL larutan premix. Premix tersusun atas 0.3 µL primer, 6.2 µL DW, dan 7.5 µL *Promega Green Master Mix*. Desain primer disajikan pada (Tabel 1). Campuran ini diinkubasi dalam *thermocycler* untuk proses amplifikasi. Proses amplifikasi diawali tahap denaturasi pada suhu 95° C selama lima menit. Tahap kedua terdiri dari 30 siklus, masing- masing siklus terdiri dari proses denaturasi pada suhu 95 °C selama 10 detik, annealing primer pada suhu 60 °C selama 20 detik dan ekstensi DNA pada suhu 72 °C selama 30 detik. Tahapan terakhir adalah pemanjangan primer pada suhu 72 °C selama sepuluh menit. Penempelan primer dan enzim *Bsrf* disajikan pada Gambar 1.

Tabel 1. Primer gen MSTN

Gen	Posisi target	Sekuens primer	Panjang sekuens target (pb)
Myostatin	Exon 2	F: 5'- AAC GGT GTT TGT GCA GAT CC -3' R: 5'- CAA TCC ATC TTC ACC CGG TCC -3'	247

F = Forward, R = Reverse



Alel T: 5'-----atgag**ACTGGN**cgaga----3'

Alel G: 5'-----atgag**ACGGGN**cgaga ---3'

Keterangan : Alel T mempunyai basa T pada posisi basa ke 4842 Alel G mempunyai basa G pada posisi basa ke 4842

Gambar 1. Posisi penempelan primer (cetak tebal) pada sekuen MSTN terjadi mutasi pada situs pemotongan *BsrI* (actggnl)

Elektroforesis

Hasil amplifikasi DNA divisualisasi melalui elektroforesis. Amplikon dielektroforesis dengan *agarose gel* 1.5% untuk proses pemisahan. Gel terbuat dari 0.45 g *agarose gel* dan 30 ml 0.5×TBE yang dipanaskan dalam *microwave* pada suhu *medium-high* selama 3 menit. Homogenisasi dilakukan dengan *magnetic stirer*, lalu ditambahkan 2.5 µL EtBr 10%. Gel dicetak pada *tray* pencetak dan dibiarkan hingga mengeras. Sebanyak 5 µL amplikon diambil lalu dielektroforesis pada tegangan 100 V selama 35-45 menit yaitu sampai fragmen DNA selesai bermigrasi di dalam gel. Hasil DNA yang dielektroforesis dilihat dengan bantuan sinar *uv*.

Genotyping

Genotyping dilakukan dengan teknik RFLP. Sebanyak 5 µL amplikon ditambahkan 0.9 µL DW, 0.7 µL buffer, dan 0.4 µL enzim restriksi. Enzim *BsrI* pada pemotongan gen MSTN ekson 2 diinkubasi pada suhu 65 °C selama 1.5–2 jam. Sebanyak 5 µL DNA hasil pemotongan kemudian dielektroforesis kembali pada tegangan 100 V selama 35-45 menit pada *agarose gel* 2%. Sampel DNA hasil elektroforesis kemudian diangkat dan diamati di bawah sinar UV. Fragmen DNA yang muncul dari hasil elektroforesis dibandingkan dengan *marker* untuk diketahui panjang fragmennya dan ditentukan genotipenya.

Tabel 2. Genotipe dan panjang produk hasil PCR-RFLP

Lokus	Genotipe	Panjang Produk (pb)
	GG	144, 64, dan 39
	TT	99, 64, 45, dan 39
	GT	144, 99, 64, 45, dan 39

Hasil dari elektroforesis migrasi DNA yang terbentuk diidentifikasi sebagai alel untuk penentuan genotype berdasarkan

panjang produk (pb) pada setiap sampel (Tabel 2).

Analisis Data

Frekuensi alel dihitung menggunakan rumus menurut (Nei & Kumar, 2000) sebagai berikut:

$$x_i = \frac{(2n_{ii} + \sum_{i \neq j} n_{ij})}{2N}$$

Frekuensi genotipe dihitung dengan rumus sebagai berikut (Nei & Kumar, 2000):

$$x_{ii} = \frac{n_{ii}}{N}$$

Keterangan:

- x_i = frekuensi alel ke- i
- x_{ii} = frekuensi genotipe ke- i
- n_{ii} = jumlah individu bergenotipe i
- n_{ij} = jumlah individu bergenotipe j
- N = jumlah total sampel

Perhitungan chi-kuadrat (χ^2) menurut (Nei & Kumar, 2000) yaitu dengan rumus berikut:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Keterangan:

- χ^2 = *chi*-kuadrat
- O = nilai pengamatan
- E = nilai harapan

Keragaman genetik dilakukan melalui perhitungan nilai heterozigositas pengamatan (H_0) menurut (Weir, 1996):

$$H_0 = \sum_{i \neq j} \frac{N_{1ij}}{N}$$

Keterangan:

- H_0 = heterozigositas pengamatan

N_{1ij} = jumlah individu heterozigot pada lokus ke-1

N = jumlah individu yang dianalisis

Heterozigositas harapan dihitung menggunakan rumus berdasarkan (Nei & Kumar, 2000) yaitu:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^q x_i^2$$

Keterangan:

H_e = heterozigositas harapan

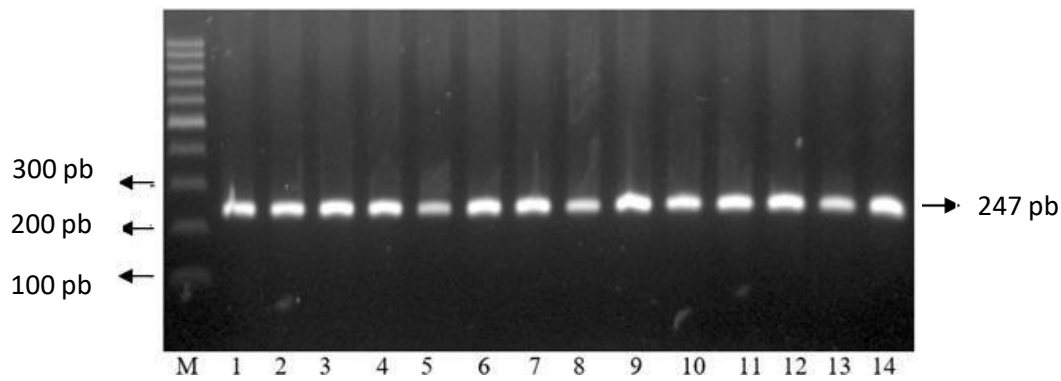
x_i = frekuensi harapan

q = jumlah alel

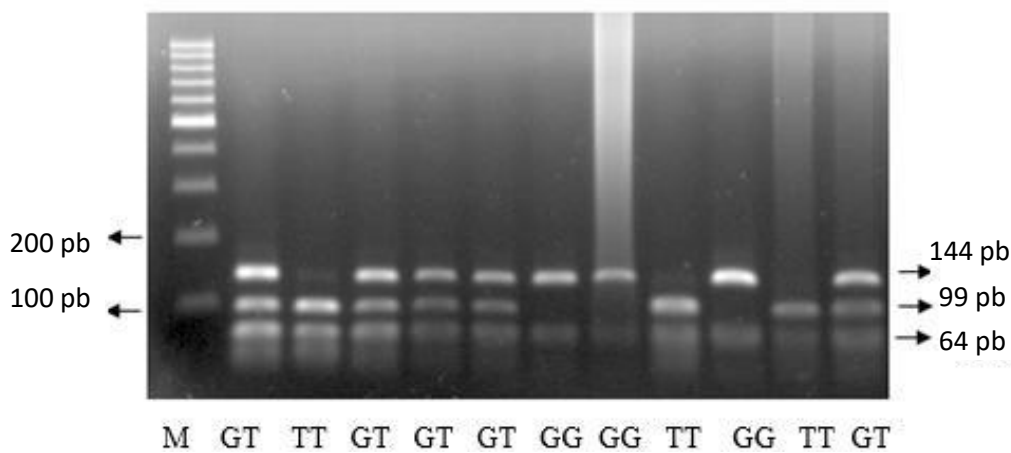
HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi Gen *Myostatin* (MSTN|*BsrI*)

Hasil amplifikasi gen MSTN|*BsrI* pada 5 populasi ayam (kampung ciawi, kampung sukabumi, broiler, nunukan, dan petelur) pada posisi basa ke-4842 pb menggunakan mesin *Thermal Cycler*, diperoleh produk PCR dengan panjang 247 pasang basa (pb). Pasangan primer yang digunakan didesain dengan menggunakan *Primer Designing Tool* (Primer3), berdasarkan informasi urutan DNA gen MSTN *Gen Bank* (nomor akses: AF346599). Keberhasilan amplifikasi dalam penelitian ini adalah 100% karena hasil dari penglihatan menggunakan sinar uv, pita (band) sepanjang 247 pb yang disesuaikan dengan marker 100 pb. Hasil amplifikasi gen MSTN|*BsrI* pada gel agarose 1.5% disajikan pada Gambar 2. Proses amplifikasi dilakukan sesuai dengan prinsip PCR yang melibatkan beberapa tahap yaitu: (1) pra-denaturasi DNA templat; (2) denaturasi DNA templat; (3) penempelan primer pada templat (annealing); (4) pemanjangan primer (extension) dan (5) pemantapan (postextension). Amplifikasi fragmen gen MSTN dinyatakan berhasil apabila penempelan primer DNA sesuai dengan target gen.



Gambar 2. Hasil amplifikasi gen MSTN|*BsrI* menggunakan teknik PCR pada gel agarose 1.5%. M (marker) dan 1-14 (sampel)



Gambar 3. Visualisasi hasil PCR-RFLP pada gen MSTN|*BsrI* pada gel agarose 2%

Hasil pemotongan fragmen MSTN oleh enzim *BsrI* menghasilkan 3 genotipe yaitu GG (144 pb, 64 pb, 39 pb), TT (99 pb, 64 pb, 45 pb, 39 pb), dan GT (144 pb, 99 pb, 64 pb, 45 pb, 39 pb). Hasil pemotongan fragmen MSTN oleh *BsrI* pada gel agarose 2% disajikan pada Gambar 3.

PCR-RFLP merupakan salah satu metode analisis lanjutan dari produk PCR guna melakukan pendekatan untuk mengetahui keragaman dalam suatu populasi, metode ini dilakukan dengan cara pemotongan fragmen gen MSTN pada exon 2 menggunakan enzim restriksi *BsrI* dengan buffer B. Suhu inkubasi enzim ini adalah 65 °C selama 1.5-2 jam. Enzim *BsrI* memotong situs spesifik actggn| pada produk PCR yang berada pada basa ke-4842. Enzim *BsrI* tidak akan mengenali situs pemotongan apabila terjadi mutasi pada sekuen gen yaitu perubahan pasang basa. Mutasi *non*

synonimus basa Timin menjadi Guanin pada ekson 2 gen MSTN pada 3 jenis ayam broiler komersial yang menyebabkan perubahan asam amino leusin menjadi arginin. Mutasi ini menyebabkan enzim *BsrI* tidak bisa mengenali situs potongnya actggn| karena berubah menjadi accggn hal ini menyebabkan produk amplifikasi tidak akan terpotong. Mutasi pada gen MSTN ini telah diasosiasikan dengan pertumbuhan bobot badan dan tingkat mortalitas ayam broiler (Ye et al., 2007).

Frekuensi Genotipe, Frekuensi Alel, dan Keseimbangan Hardy-Weinberg Gen MSTN|*BsrI*

Hasil analisis menunjukkan bahwa semua populasi ayam memiliki tiga genotipe yaitu GG, GT, dan TT. Hasil analisis nilai frekuensi genotipe dan alel gen MSTN|*BsrI* pada ayam kampung dan lainnya di setiap populasi disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Frekuensi genotipe, frekuensi alel, dan analisis keseimbangan Hardy- Weinberg gen MSTN pada setiap populasi

Populasi Ayam	n	Frekuensi Genotipe			Frekuensi Alel		χ^2 Hit
		GG	GT	TT	G	T	
Kampung Ciawi	76	0.07 (5)	0.50 (38)	0.43 (33)	0.32	0.68	1.875
Kampung Sukabumi	56	0.05 (3)	0.57 (32)	0.38 (21)	0.34	0.66	4.221*
Broiler	21	0.10 (2)	0.43 (9)	0.48 (10)	0.31	0.69	0.211
Nunukan	6	0.00 (0)	0.00 (0)	1.00 (6)	0.00	1.00	-
Petelur	17	0.00 (0)	0.00 (0)	1.00 (17)	0.00	1.00	-
Total	176				0.28	0.72	

Keterangan : (n) = jumlah sampel, * = nyata ($P \leq 0.05$, $\chi^2(0.05,1) = 3.84$), - = tidak dianalisis ($db \leq 1$)

Frekuensi genotipe merupakan rasio dari jumlah genotipe yang muncul pada suatu populasi. Frekuensi genotipe dan alel merupakan parameter dasar untuk mempelajari proses terjadinya evolusi karena perubahan genetik pada sebuah populasi biasanya digambarkan dengan adanya perubahan pada frekuensi alel (Nei & Kumar, 2000).

Secara umum hasil analisis pada populasi ayam bersifat polimorfik kecuali pada ayam nunukan dan petelur hanya bergenotipe TT, hal ini menunjukkan bahwa kedua tetua pada ayam nunukan dan petelur mewariskan alel yang sama yaitu kedua tetua mewariskan alel T pada individu yang bergenotip TT, demikian halnya untuk individu yang bergenotip GG. Ayam dengan genotipe heterozigot GT dapat terjadi karena individu tersebut memperoleh alel yang berbeda yaitu alel G dan alel T dari kedua tetuanya (Noor, 2010).

Frekuensi genotipe TT dan GT pada beberapa populasi cenderung seimbang dan genotipe GG memiliki frekuensi genotipe yang paling rendah pada semua populasi (Tabel 3). Ayam broiler, ayam nunukan dan petelur memiliki nilai frekuensi genotipe tertinggi untuk genotipe TT yaitu sebesar 0.48, 1.00, dan 1.00. ayam kampung Ciawi dan kampung Sukabumi memiliki genotipe terbesar yaitu genotipe GT sebesar 0.50 dan 0.57. pada penelitian (Pramujo, 2015) pada ayam kampung terseleksi genotipe terbesar adalah GT sebesar 0.44.

Frekuensi alel adalah frekuensi relatif dari suatu alel dalam populasi atau jumlah suatu alel terhadap jumlah total alel yang

terdapat dalam suatu populasi (Nei & Kumar, 2000). Nilai frekuensi alel total untuk semua populasi memperlihatkan bahwa frekuensi alel tertinggi adalah alel T yaitu sebesar 1.00 dan terendah sebesar 0.00 untuk alel G.

Frekuensi alel pada semua populasi menunjukkan persamaan untuk nilai frekuensi alel tertinggi yaitu alel T dengan nilai berkisar antara 0.66-1.00, seperti pada penelitian (Pramujo, 2015) frekuensi alel tertinggi yaitu alel T sebesar 0.56-1.00. Penelitian yang dilakukan oleh (Ye *et al.*, 2007) pada ayam broiler juga menunjukkan bahwa frekuensi alel T lebih besar dibandingkan alel G dengan nilai sebesar 0.54 dan 0.46. Alel G memiliki pengaruh negatif terhadap pertumbuhan dan mortalitas pada ayam broiler (Ye *et al.*, 2007). Suatu alel dikatakan polimorfik jika memiliki frekuensi alel sama atau kurang dari 0.99. Menurut (Allendorf & Luikart, 2006), suatu populasi sudah dapat dinilai beragam apabila memiliki lebih dari satu alel dalam satu lokus. Berdasarkan hasil analisis frekuensi alel dapat dikatakan bahwa gen MSTN|BsrI bersifat polimorfik pada ayam kampung Ciawi, kampung Sukabumi, dan broiler.

Hasil ini potensial untuk digunakan sebagai pengidentifikasi keragaman ayam lokal seperti ayam kampung, kecuali pada ayam nunukan dan petelur yang bersifat monomorfik karena jumlah populasi yang kecil sehingga nilai frekuensi alelnya bisa mencapai 1.00. Hasil pengujian keseimbangan Hardy-Weinberg gen MSTN dengan Chi- Kuadrat (χ^2) menunjukkan

bahwa populasi ayam kampung Ciawi, dan broiler berada pada keadaan keseimbangan Hardy-Weinberg (χ^2 hitung $< \chi^2$ 0.05) (Tabel 3). Hukum Hardy-Weinberg menggambarkan frekuensi alel dan genotipe dalam populasi yang telah mengalami kawin acak akan tetap dari generasi ke generasi dan tidak ada faktor yang hadir untuk menyebabkan perubahan genetik (Allendorf & Luikart, 2006).

Nilai Chi-Kuadrat (χ^2) hitung pada populasi ayam kampung Sukabumi lebih besar dari nilai Chi-Kuadrat (χ^2) tabel yang berarti populasi tersebut tidak seimbang, ketidakseimbangan pada populasi tersebut dapat diakibatkan karena terjadinya seleksi yang secara tidak langsung berhubungan dengan gen MSTN (Sulandari et al., 2007), selain itu ketidakseimbangan tersebut bisa dikarenakan adanya seleksi, migrasi, mutasi ataupun *genetic drift* pada suatu populasi (Noor, 2010). Pada ayam kampung Sukabumi walaupun ayam dipelihara secara ekstensif ayam itu didapatkan dengan cara

mengambil secara acak pada beberapa peternak sehingga dimungkinkan ayam kawin tidak secara acak dikarenakan terbatas pada suatu lingkungan peternak saja tidak secara keseluruhan dalam satu kecamatan.

Populasi ayam nunukan dan petelur tidak dapat dianalisis dengan menggunakan uji Chi-Kuadrat (χ^2) karena populasi tersebut tidak memenuhi syarat untuk pengujian. Populasi tersebut hanya memiliki satu macam genotipe dan satu macam alel sehingga derajat bebasnya bernilai nol.

Pendugaan Nilai Heterozigositas Gen MSTN|BsrI

Hasil analisis heterozigositas menunjukkan bahwa populasi ayam kampung Ciawi, dan kampung Sukabumi memiliki nilai heterozigositas pengamatan (H_o) yang lebih tinggi dari nilai heterozigositas harapan (H_e). Hasil analisis heterozigositas gen MSTN|BsrI pada ayam kampung dan yang lainnya disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai heterozigositas pengamatan (H_o) dan nilai heterozigositas harapan (H_e) gen MSTN

Populasi Ayam	Jumlah Ayam (ekor)	H_e	H_o
Kampung Ciawi	76	0.43	0.50
Kampung Sukabumi	56	0.45	0.57
Broiler	21	0.43	0.43
Nunukan	6	-	-
Petelur	17	-	-

Keterangan : H_o = heterozigositas pengamatan, H_e =heterozigositas harapan

Nilai heterozigositas penting diketahui untuk mendapatkan gambaran keragaman genetik suatu populasi. Nilai heterozigositas pengamatan dan nilai heterozigositas harapan dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk menduga nilai koefisien biak dalam (inbreeding) pada suatu kelompok ternak (Hartl & Clark, 1997). (Machado et al., 2003) menyatakan bahwa apabila nilai heterozigositas pengamatan (H_o) lebih besar dari heterozigositas harapan (H_e) dapat mengindikasikan belum adanya derajat endogami atau perkawinan dalam kelompok, belum adanya proses seleksi yang intensif. Nilai heterozigositas pengamatan (H_o) dan Harapan (H_e) pada

ayam broiler sebesar 0.43 yang artinya populasi ayam tersebut dalam kondisi yang seragam, yang menyebabkan hasil ini berbeda dari penelitian Pramujo (2015) ayam kampung terseleksi bobot badan memiliki nilai H_e 0.46 dan H_o 0.44 hal ini menandakan populasi tersebut mengalami seleksi intensif (bobot badan) atau telah terjadi perkawinan didalam kelompok. Nilai heterozigositas dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jumlah sampel, jumlah alel dan frekuensi alel. Nilai heterozigositas pengamatan pada semua populasi berkisar antara 0.43-0.57. Apabila nilai heterozigositas di bawah 0.5 mengindikasikan rendahnya variasi suatu gen dalam populasi (Allendorf dan Luikart

2006). Hal ini menunjukkan bahwa pada semua populasi ayam yang diteliti memiliki variasi gen yang rendah kecuali pada ayam kampung Sukabumi.

KESIMPULAN

Gen MSTN|BsrI pada ayam kampung Ciawi, kampung Sukabumi, dan broiler bersifat polimorfik sehingga dapat dijadikan data awal sebagai dasar melakukan seleksi. Frekuensi genotipe TT dan GT lebih tinggi dari frekuensi genotipe GG pada semua populasi. Frekuensi alel T lebih tinggi dari frekuensi alel G pada semua populasi. Populasi ayam kampung Ciawi, dan broiler berada pada keadaan keseimbangan Hardy-Weinberg.

DAFTAR PUSTAKA

- Allendorf, F., & Luikart, G. (2006). *Conservation and the Genetics of Populations*. Blackwell Publishing Ltd.
- BPS. (2021). *Produksi Daging Ayam Ras Pedaging menurut Provinsi (Ton), 2019-2021*. <https://www.bps.go.id/indicator/24/488/1/produksi-daging-ayam-ras-pedaging->
- Dushyanth, K., Bhattacharya, T. K., Shukla, R., Chatterjee, R. N., Sitaramamma, T., Paswan, C., & Guru Vishnu, P. (2016). Gene Expression and Polymorphism of Myostatin Gene and its Association with Growth Traits in Chicken. *Animal Biotechnology*, 27(4), 269–277. <https://doi.org/10.1080/10495398.2016.1182541>
- Hartl, D., & Clark, A. (1997). *Principle of Population Genetic*. Sinauer Associates.
- Khaerunnisa, I., Furqon, A., Anwar, S., Jakaria, J., Budiman, C., Arief, I. I., Sumantri, C., & Kim, Y. S. (2023). Determination of Complete Sequence Mutation of Myostatin Gene in Fast-and Slow-Growing Chicken. *HAYATI Journal of Biosciences*, 30(1), Article 1. <https://doi.org/10.4308/hjb.30.1.148-158>
- Khaerunnisa, I., Pramujo, M., Arief, I. I., Budiman, C., Gunawan, A., Jakaria, J., & Sumantri, C. (2016). Polymorphism of the T4842G Myostatin Gene is Associated with Carcass Characteristics in Indonesian Chickens. *International Journal of Poultry Science*, 15(8), 316–324. <https://doi.org/10.3923/ijps.2016.316.324>
- Ma, G., Wang, H., Gu, X., Li, W., Zhang, X., Cui, L., Li, Y., Zhang, Y., Zhao, B., & Li, K. (2014). CARP, a myostatin-downregulated gene in CFM cells, is a novel essential positive regulator of myogenesis. *International Journal of Biological Sciences*, 10(3), 309–320. <https://doi.org/10.7150/ijbs.7475>
- Machado, M. A., Schuster, I., Martinez, M. L., & Campos, A. L. (2003). Genetic diversity of four cattle breeds using microsatellite markers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(1), 93–98. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982003000100012>
- Naji, T. A. A., Amadou, I., Zhao, R. Y., Tang, X., Shi, Y. H., & Le, G. W. (2014). Effects of phytosterol in feed on growth and related gene expression in muscles of broiler chickens. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 9–16. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i1.2>
- Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press.
- Noor, R. R. (2010). *Genetika Ternak*. Penebar Swadaya.
- Pramujo, M. (2015). *Identifikasi keragaman gen myostatin (MSTN|BsrI) pada ayam lokal dan persilangannya*. [Undergraduate's Thesis], Bogor, ID: Institut Pertanian Bogor.
- Sambrook, J., Fritsch, E. R., & Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sulandari, S., Zein, M., Paryanti, S., & Sartika, T. (2007). Taksonomi dan

- asal-usul ayam domestikasi. In *Keanekaragaman Sumber Daya Hayati Ayam Lokal Indonesia: Manfaat dan Potensi* (pp. 5–25). Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Tanjung, A., Saragih, H. T. S. S. G., Trijoko, Soenarwan, H. P., Widiyanto, S., Mahardhika, I. W. S., & Daryono, B. S. (2019). Short Communication: Polymorphism of myostatin gene and its association with body weight traits in a hybrid of GAMA chicken (*Gallus gallus domesticus* Linn. 1758). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(11), Article 11. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d201113>
- Weir, B. (1996). *Genetic Data Analysis II: Method for Discrete Population Genetic Data* (2nd ed.). Sinauer.
- Ye, X., Brown, S. R., Nones, K., Coutinho, L. L., Dekkers, J. C. M., & Lamont, S. J. (2007). Associations of myostatin gene polymorphisms with performance and mortality traits in broiler chickens. *Genetics Selection Evolution*, 39(1), 73–89. <https://doi.org/10.1051/gse:2006029>
- Zein, M. S. A., & Sulandari, S. (2012). Keragaman Genetik dan Distribusi Haplogrup Ayam Kampung dengan Menggunakan Hipervariabel-I Daerah Kontrol DNA Mitokondria. *Jitv*, 17(2), 120–131.