

POLIMORFISME PROTEIN DARAH AYAM KEDU [*Blood Protein Polymorphism of Kedu Chicken*]

S. Johari, Sutopo, E. Kurnianto dan E. Hasviara

Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro

Kampus drh. Soejono Koesoemowardojo-Tembalang, Semarang

Received October 20, 2008; Accepted November 21, 2008

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keragaman genetik ayam Kedu melalui analisis protein darah dengan menggunakan metode elektroforesis. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 60 ekor ayam kedu yang terdiri dari 20 ekor ayam kedu bulu hitam daging hitam (HH), 20 ekor ayam kedu hitam daging putih (HP) dan 20 ekor ayam kedu putih daging putih (PP). Metode elektroforesis *Polyacrylamid Gel Electrophoresis –Thin Layer Elecrophoresis* (PAGE-TLE) secara vertikal digunakan dalam penelitian ini. Parameter yang diamati adalah protein Albumin (Alb), transferin (Tf) dan hemoglobin (Hb). Frekuensi gen, heterozigositas dan jarak genetik dianalisis dengan menggunakan paket program DISPAN. Hasil analisis menunjukkan bahwa Hb, Alb dan Tf memperlihatkan karakter polimorfik pada warna bulu ayam. Frekuensi gen Hb^A (0,9) lebih tinggi dibandingkan Hb^B (0,1) pada ayam kedu HH, sementara itu tidak ditemukan alel Hb^B pada ayam kedu HP maupun PP. Frekuensi gen Alb^B relatif lebih tinggi pada HH (0,625) dibandingkan pada HP maupun PP (0,475), sebaliknya frekuensi gen Alb^C lebih rendah pada HH (0,375) dibandingkan pada HP maupun PP (0,525). Frekuensi gen Tf^B dan Tf^C sama besar pada HH dan HP sama besar (0,5). Pada PP, frekuensi gen Tf^B (0,6) lebih tinggi dibandingkan Tf^C (0,4). Ayam kedu HH memiliki nilai heterozigositas relatif lebih tinggi (0,407) dibandingkan dengan HP (0,350) maupun PP (0,343). Ayam kedu HP menunjukkan hubungan perkerabatan yang lebih dekat PP dibandingkan dengan HH.

Kata Kunci : Ayam Kedu, Protein Darah, Elektroforesis, Frekuensi gen, Heterozigositas

ABSTRACT

The aim of this research was to know genetic variance of kedu chicken through blood protein polymorphism analysis by using method of electrophoresis. The research used 60 birds of kedu chicken which consisted of 20 birds and black fur and black flesh (HH), 20 birds of black fur of white meat (HP) and 20 birds of white fur and white meat (PP). Elektroforesis Polyacrylamid Gel of Electrophoresis-Thin Layer Elecrophoresis (PAGE-TLE) vertically was used in this experiment. Parameter observed was proteins of albumin (Alb), transferin (Tf) and hemoglobin (Hb). Gene frequency, heterozygosity and genetic distance was analyzed by using DISPAN program. Hb, Alb and Tf showed polymorphic character. Gene frequency of Hb^A (0.9) was higher compared to Hb^B (0.1) in HH. In fact there was no Hb^B in both HP and PP. Gene frequency of Alb^B was relatively higher in HH (0,625) compared to HP and PP (0,475). In contrast, gene frequency of Alb^C was smaller at HH (0,375) compared to both HP and PP (0,525). Gene frequency of Tf^B and Tf^C in HH was similar to HP (0.5). In PP, gene frequency of Tf^B (0,6) was higher than those of Tf^C. Heterozygosity of HH (0.407) was higher than those of HP (0.350) and PP (0.343). The genetic relationship of HP was closer to PP compared to HH.

Keywords: Kedu chicken, Blood protein, Elektroforesis, Gene frequency and Heterozygosity.

PENDAHULUAN

Ayam kedu merupakan ayam lokal unggul yang berasal dari Jawa Tengah, khususnya Kabupaten

Temanggung. Saat ini dikenal 3 jenis ayam kedu, yaitu ayam kedu putih, berwarna dan hitam (Dinas Peternakan Propinsi Jawa Tengah dan Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Tengah, 2005).

Produktivitas ayam kedu cukup tinggi, antara lain bobot badan pada jantan dan betina dewasa umur 2 tahun masing-masing sekitar 3,6 kg dan 3 kg, produksi telur ayam kedu hitam pada pemeliharaan intensif sebesar 58,8%, sedangkan ayam kedu putih 50,4%.

Menurut Riis (1983), plasma darah mengandung tiga protein utama yaitu albumin, globulin dan fibrinogen. Menurut Warwick *et al.* (1990), sejumlah besar perbedaan-perbedaan yang diatur secara genetik telah diketemukan dalam Globulin, Albumin, dan enzim-enzim darah serta hemoglobin. Perbedaan-perbedaan tersebut dapat diketahui dengan menggunakan prosedur biokemis, terutama elektroforesis. Polimorfisme darah diatur secara genetik oleh pasangan alel.

Dinyatakan oleh Warwick *et al.* (1990), bahwa polimorfisme protein adalah perbedaan-perbedaan sifat biokimia (*biochemical variants*) yang diatur secara genetik dan banyak diketemukan dalam cairan tubuh dan sel-sel ternak. Polimorfisme merupakan ekspresi dari gen dan dapat dideteksi dengan teknik elektroforesis. Dinyatakan oleh Harper *et al.* (1980), bahwa polimorfisme dapat digunakan untuk menganalisis keadaan genetik suatu populasi.

Menurut Sartika *et al.* (1997), pada lokus Post-transferin-1 ayam kampung terdapat tiga macam fenotipe yaitu AA, AB, CC yang dikontrol oleh alel kodominan yaitu Ptf-A dan Ptf-B, sedangkan hasil penelitian Maeda *et al.* (1987), yang dilakukan di Bangladesh, pada hemoglobin ayam terdapat tiga macam genotipe. Tiga genotipe tersebut yaitu Hb^{AA}, Hb^{AB}, Hb^{BB}. Dapat disimpulkan bahwa hemoglobin tersusun dari dua alel yaitu alel A dan Alel B.

Dinyatakan oleh Sartika *et al.* (1997), heterozigositas adalah nilai keragaman genetik dari populasi ternak. Nilai ini menunjukkan hubungan antar populasi ternak tersebut. Keragaman genetik dalam populasi ditentukan oleh lokus-lokus yang mempunyai nilai heterozigositas yang tinggi. Semakin tinggi nilai heterozigositas maka semakin tinggi pula keragaman genetik yang terjadi. Demikian pula sebaliknya semakin rendah nilai heterozigositas, maka semakin rendah keragaman genetiknya.

Gel poliakrilamid adalah gel yang terbentuk dari polimer vinyil antara monomer Akrilamid (CH₂=CH-CO-NH₂) dengan penghubung N,N'-Methylene-bis Acrylamide (CH₂=CH-CO-NH₂-NH-CO-CH=CH₂). Konsentrasi dari Akrilamid menentukan

panjang rantai polimer, sedangkan konsentrasibis akrilamid menentukan intensitas formasi penghubung. Kedua hal tersebut sangat penting untuk menentukan kondisi fisik dari gel, seperti kepadatan, elastisitas dan kekuatan mekanik serta pori-pori (Andrew, 1993). Elektroforesis dengan gel poliakrilamid vertical merupakan metode yang terbaik untuk dapat menentukan fraksi protein post transferin, transferin, post albumin dan hemoglobin yang ada pada plasma darah dan sel darah merah ayam (Mulyono dan Salundik, 1994).

Elektrophoresis gel poliakrilamid pada prinsipnya berfungsi sebagai saringan molekul, di mana mobilitas relatif dari SDS-polipeptida-Kompleks sangat proposional dengan logaritma berat molekul. Metode ini lebih dikenal dengan *SDS-Polyacrilamide-Gel Elektrophoresis* (SDS-PAGE) dan prinsipnya adalah bahwa dengan adanya SDS maka akan memungkinkan pemisahan polipeptida hanya berdasarkan atas berat molekulnya. Penambahan muatan dari deterjen anionic akan dapat menutup secara efektif perbedaan muatan individu dari masing-masing polipeptida dan perbedaan struktur molekul dapat diselaraskan (Melvin, 1987).

Keragaman genetik adalah penyimpangan sifat atau karakter dari individu yang terjadi karena perkawinan alami yang tidak terkontrol. Keragaman genetik dapat dilihat dari karakter alel dari lokus tertentu yang merupakan ekspresi dari gen tertentu. Melalui gen tersebut dapat dihitung nilai frekuensi gen, heterozigositas dan karakteristik spesifik gen antar dua spesies. Melalui analisis protein darah dapat dihitung berapa besar penyimpangan sifat atau keragaman genetik yang terjadi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui polimorfisme genetik pada ayam Kedu melalui analisis protein darah dengan menggunakan metode elektroforesis. Berdasarkan keragaman genetik dapat diketahui sebaran genotip ayam kedu. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk mengetahui pola protein darah ayam kedu sehingga dapat digunakan sebagai dasar penentuan seleksi pada program pemuliaan.

MATERI DAN METODE

Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah

sampel darah dari tiga macam jenis ayam Kedu yaitu ayam kedu bulu hitam daging hitam (HH), ayam kedu bulu hitam daging putih (HP) dan ayam kedu bulu putih daging putih (PP), masing-masing sebanyak 20 ekor.

Pengambilan sampel darah ayam ($\pm 3cc$) dilakukan menggunakan spuit pada vena bagian dalam sayap ayam. Darah yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi dengan 3 tetes ($\pm 0,15$ ml) heparin sebagai anti koagulan dan disimpan pada termos es. Setelah pengambilan darah dilakukan, plasma darah dipisahkan dari sel darah merah dengan cara disentrifusa selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm pada suhu kamar. Plasma darah yang telah terpisah dari sel darah merah diambil dengan menggunakan pipet, dimasukkan kedalam botol sampel dan disimpan dalam pembeku (freezer) pada suhu $-20^{\circ}C$ hingga dianalisis.

Pencucian sel darah merah dilakukan dengan cara menambahkan larutan NaCl 0,9% sebanyak 2cc ke dalam sel darah merah yang telah dipisahkan dari plasma, dikocok sedemikian rupa hingga tercampur rata. Selanjutnya dilakukan proses sentrifusa dengan kecepatan 3500 rpm selama 5 menit. Proses pencucian dilakukan tiga kali berturut-turut. Setelah proses pencucian sel darah merah dimasukkan dalam pembeku (freezer) pada suhu $-20^{\circ}C$ hingga dianalisis (Sutopo *et al.*, 2001).

Plasma darah dan sel darah merah kemudian dianalisis menggunakan PAGE-TLE (*Polyacrilamide Gel Electrophoresis-Thin Layer Electrophoresis*) yang dipasang secara vertical menurut metode Ogita dan Markert (1968). Pita-pita hasil elektroforesis yang diamati adalah albumin (Al), hemoglobin (Hb) dan transferin (Tf).

Analisis Data

Frekuensi gen dianalisis berdasar formulasi Warwick *et al.* (1990).

$$F_{an} = \frac{\sum \text{Lokus}_{an}}{\sum \text{Lokus}_{A_1} + \sum \text{Lokus}_{A_2} + \sum \text{Lokus}_{A_n}} \dots\dots\dots (1)$$

dimana F_{an} = Frekuensi gen A pada lokus ke-n
 Keragaman genetik ditentukan menggunakan rumus heterozigositas (h) dan rataaan heterozigositas (H)

menurut Nei (1987). Rataan heterozigositas (H) adalah rata-rata nilai h terhadap seluruh jumlah lokus.

$$h = 1 - \sum_{i=1}^m X_i^2 \dots\dots\dots (2)$$

dimana : h = heterozigositas
 m = jumlah lokus
 X_i = frekuensi gen ke-i

$$H = \frac{1 - \sum_{i=1}^m X_i^2}{r} = \frac{h}{r} \dots\dots\dots (3)$$

dimana : r = jumlah lokus yang diamati

HASIL DAN PEMBAHASAN

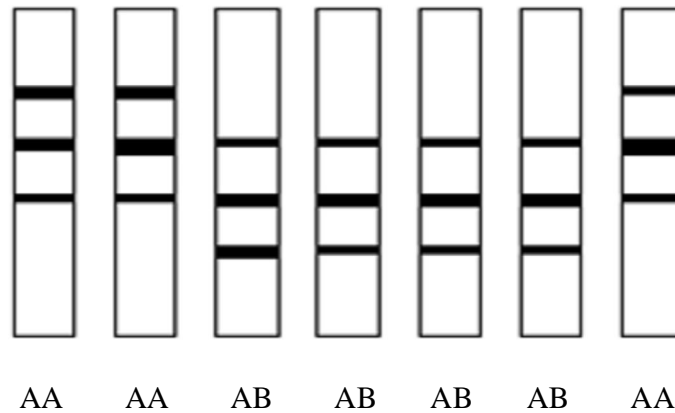
Frekuensi gen dan nilai heterozigositas dari masing-masing lokus dapat dihitung dengan cara melihat pita-pita protein yang muncul atau sering dinamakan *band*. Dari *band* yang muncul dapat dilakukan interpretasi atau penentuan alel dari masing-masing lokus.

Keragaman lokus hemoglobin (Hb)

Hemoglobin adalah protein darah yang terdapat pada sel darah merah. Hemoglobin terletak pada kisaran berat molekul ~ 66.000 dalton. Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa hemoglobin ditandai oleh tiga pita yang tampak jelas setelah dilakukan pencucian. Alel A bergerak lebih cepat ke arah kutub positif dibandingkan alel B. Pita yang bergerak lebih cepat ke arah anoda dinamakan alel A, sedangkan pita yang memiliki gerak lebih lambat dinamakan alel B. Ke dua alel tersebut dapat membentuk karakter heterozigot AB. Pada Ilustrasi 1 disajikan contoh skater diagram lokus albumin (Alb) ayam kedu bulu hitam daging hitam HH.

Pada Tabel 1 disajikan frekuensi gen hemoglobin (Hb) darah dari 3 jensi ayam kedu, yaitu bulu hitam daging hitam (HH), bulu hitam daging putih (HP) dan bulu putih daging putih (PP).

Hasil pengamatan pita protein menunjukkan bahwa lokus hemoglobin dikontrol oleh 2 alel, yaitu Hb^A dan Hb^B . Frekuensi gen pada alel Hb^A ayam kedu HH adalah 0,9; sedangkan HP dan PP masing-masing 1,0. Frekuensi gen pada alel Hb^B ayam kedu HH sebesar



Ilustrasi 1. Contoh Skater Diagram Lokus Hemoglobin (Hb) Ayam Kedu Betina Bulu Hitam Daging Hitam

Tabel 1. Frekuensi Gen Hemoglobin (Hb) Darah pada 3 Jenis Ayam Kedu

Jenis Ayam	Jumlah	Genotip			Frekuensi Gen	
		AA	AB	BB	A	B
HH	20	16	4	0	0.9	0.1
HP	20	20	0	0	1	0
PP	20	20	0	0	1	0
Jumlah	60	56	4	0	0.967*	0.033*

*= Hasil perhitungan total frekuensi gen

0,1; sementara itu HP dan PP sebesar 0 atau tidak memiliki alele Hb^B. Hasil perhitungan total frekuensi gen alel Hb^A adalah 0,967, sedangkan alel Hb^B sebesar 0,033. Hasil penelitian Utomo (1999) menunjukkan bahwa alel A mempunyai frekuensi tertinggi pada lokus hHemoglobin darah ayam kampung, yaitu sebesar 0,812.

dibandingkan dengan pita-pita yang lain. Pada penelitian ini diperoleh 2 alel yaitu B dan C. Hasil perhitungan frekuensi gen pada lokus albumin dapat dilihat pada Tabel 2. Frekuensi gen pada alel Alb^B ayam kedu HH lebih tinggi (0,6) dibandingkan ayam kedu HP dan PP (0,475). Sementara itu frekuensi gen pada alel Alb^C pada ayam kedu HH (0,375) lebih

Tabel 2. Frekuensi Gen Albumin (Alb) Darah pada Tiga Jenis Ayam Kedu

Jenis Ayam	Jumlah	Genotip			Frekuensi Gen	
		BB	BC	CC	B	C
HH	20	6	13	1	0.625	0.375
HP	20	1	17	2	0.475	0.525
PP	20	2	15	3	0.475	0.525
Jumlah	60	9	45	6	0.525*	0.475*

*= Hasil perhitungan total frekuensi gen

Keragaman lokus albumin (Alb)

Albumin memiliki berat molekul sebesar ~69.000 dalton. Pita albumin dapat terlihat jelas karena albumin memiliki bentuk pita yang sangat tebal jika

kecil dibandingkan ayam Kedu HP dan PP (0,525). Hasil perhitungan total frekuensi gen alel Alb^B adalah 0,525, sedangkan alel Alb^C sebesar 0,475.

Penelitian Utomo (1999) menyatakan bahwa Frekuensi tertinggi pada lokus Albumin terletak pada

alel A untuk ayam kampung, yaitu sebesar 0,781.

Keragaman lokus transferin (Tf)

Transferin memiliki kisaran berat molekul sebesar ~85.000 dalton. Pita yang bergerak lebih cepat ke arah kutub positif dinamakan alel B, sedangkan pita yang bergerak lebih lambat dinamakan alel C. Kedua alel tersebut dapat membentuk karakter heterozigot BC.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lokus transferin (Tf) dikontrol oleh dua alel, yaitu Tf^B dan Tf^C. Perhitungan frekuensi gen pada lokus transferin dapat dilihat pada Tabel 3. Frekuensi gen pada alel Tf^B ayam kedu HH dan HP sebesar 0,5, sedangkan ayam kedu PP sebesar 0,6. Frekuensi gen pada alel Tf^C ayam kedu HH dan HP sebesar 0,5, sedangkan ayam kedu PP sebesar 0,4. Hasil perhitungan total frekuensi gen alel Tf^B adalah 0,533, sedangkan alel C sebesar 0,467. Penelitian Utomo (1999) pada ayam kampung menunjukkan bahwa frekuensi gen pada lokus Transferin (Tf) tertinggi terletak pada alel A, yaitu sebesar 0,406.

0.407 (Tabel 4) dibandingkan HP (0,350) dan PP (0.343). Nilai heterozigositas yang berbeda-beda tergantung dari kondisi frekuensi gen pada masing-masing lokus yang beragam. Menurut Sartika *et al.* (1997), keragaman genetik dalam populasi ditentukan oleh lokus-lokus yang mempunyai nilai heterozigositas yang tinggi.

Hubungan Perkerabatan

Hasil perhitungan jarak genetik antara 3 jenis ayam kedu disajikan pada Tabel 5 dan dendrogram yang menggambarkan hubungan kekerabatan disajikan pada Ilustrasi 2. Jarak genetik terdekat ditunjukkan antara ayam kedu HP dengan PP (0.0021). Jarak genetik antara ayam Kedu HH dengan HP sejauh 0.0197, sama halnya antara HH dengan PP.

Tabel 3. Frekuensi Gen Transferin (Tf) Darah pada Tiga Jenis Ayam Kedu

Jenis Ayam	Jumlah	Genotip			Frekuensi Gen	
		BB	BC	CC	B	C
HH	20	1	18	1	0.5	0.5
HP	20	0	20	0	0.5	0.5
PP	20	4	16	0	0.6	0.4
Jumlah	60	5	54	1	0.533*	0.467*

*= Hasil perhitungan total frekuensi gen

Heterozigositas Ayam Kedu

Heterozigositas diperoleh dari hasil perhitungan frekuensi gen pada masing-masing lokus. Analisis data menunjukkan bahwa heterozigositas ayam kedu HH lebih tinggi dibandingkan dengan ayam kedu HP maupun PP. Pada Tabel 4 tampak bahwa rata-rata heterozigositas pada ayam kedu HH paling tinggi, yaitu

KESIMPULAN

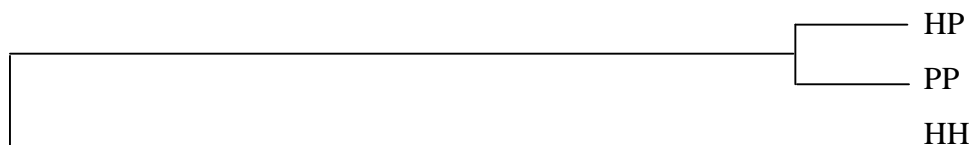
Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hemoglobin, albumin dan transferin menunjukkan karakter polimorfik pada warna bulu ayam yang berbeda. Ayam kedu bulu hitam daging putih (HP) menunjukkan hubungan kekerabatan yang lebih dekat dengan ayam kedu bulu putih daging putih (PP)

Tabel 4. Nilai Rataan Heterozigositas dari Tiga Lokus pada Tiga Jenis Ayam Kedu

Jenis ayam	Rataan Heterozigositas
HH	0.407
HP	0.350
PP	0.343

Tabel 5. Matriks Jarak Genetik Berbagai Warna bulu Ayam Kedu

Jenis ayam	HH	HP	PP
HH	0		
HP	0.0197	0	
PP	0.0197	0.0021	0



Ilustrasi 2. Dendrogram Hasil Analisis Perkerabatan dari Tiga Jenis Ayam Kedu

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dirjen Dikti Departemen Pendidikan Nasional RI yang telah mendanai penelitian ini melalui Program HB No. 014/SP2H/PP/DP2M/III/2007.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, A.T. 1993. *Electrophoresis: Theory, Techniques, Biochemical and Clinical Application*. 2nd Ed. Oxford University Inc., New York.
- Dinas Peternakan Propinsi Jawa Tengah dan Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Tengah. 2005. *Inventarisasi Sumberdaya Hayati Ternak Lokal Jawa Tengah*
- Harper, H., A.W. Rodwel dan P.A. Mayes. 1980. *Biokimia*. Edisi ke-17. Lange EGC.
- Maeda, Y., I. Okada., M.A. Hasnath., M.O. Faruque., M.A. Majid and M. N. Islam. 1987. Blood Protein Polymorphism on Native Fowl and Red Jungle Fowl In Bangladesh. In: *Genetic Studies on Breed Differentiation of The Native Domestic Animals In Bangladesh* 2:11-26. Faculty of Applied Biological Sci. Hiroshima University, Japan.
- Melvin, M. 1987. *Electrophoresis Analytical Chemistry*, Open Learning. John Wiley and Sons, London.
- Mulyono, R.H. dan Saundik. 1994. *Pengembangan Teknik Elektroforesis untuk Identifikasi Genetika Ternak*. Laporan Penelitian Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Ogita, Z.I. and C.L. Markert. 1968. A Miniaturized system for electrophoresis on polyacrilamide gels. *Anal. Biochem.* Vol. 99 : 233-241.
- Riis, P.M. 1983. *The Polls of Tissue Constituents and Products: Protein*. Dynamic Biochemistry of Animal Production. The Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark.
- Sartika, T., R.H. Mulyono., S.S. Mansyoer., T. Purwadaria., B. Gunawan., A.G. Nataamidjaya dan K. Dwiyanto. 1997. Penentuan jarak genetik pada ayam lokal melalui polimorfisme protein darah. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner 1997*. Balai Penelitian Ternak-Ciawi, Bogor. Hal. 479-485.
- Sutopo., K. Nomura, Y. Sugimoto and T. Amano. 2001. Genetic relationships among Indonesian native cattle. *J. Animal Genetics*. 28 (2): 3-11.0
- Utomo, M.P. 1999. *Studi tentang Polimorfisme Protein Darah Ayam pada Ayam Kampung dari Jawa Tengah*. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang.
- Warwick, E.J., J.M. Astuti dan W. Hardjosoebroto. 1990. *Pemuliaan Ternak*. Edisi ke-4. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.