



MILIK UPT PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JEMBER

**VARIASI GENETIK ITIK MANILA (*Cairina moschata*)
BERDASARKAN POLIMORFISME PROTEIN
PLASMA DARAH**

SKRIPSI

Asal :	Hadiah	Klass
	Pembelian	98.2
Terima Tgl :	09 MAR 2007	NUR
Induk :		u
Pengkatalog :		

Oleh :

Ika Nurdiniyah
NIM 001810401089

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2007**



**VARIASI GENETIK ITIK MANILA (*Cairina moschata*)
BERDASARKAN POLIMORFISME PROTEIN
PLASMA DARAH**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

Ika Nurdiniyah
NIM 001810401089

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2007**

MOTTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari satu urusan) kerjakanlah dengan sungguh–sungguh urusan yang lain.

(Terjemahan Q.S. Al Insyirah 6-7)*)

Bisa jadi Allah mencegah kamu mendapatkan sesuatu adalah **Anugerah**, tidak terlaksananya keinginan kamu adalah **bentuk kasih sayang-Nya**, tertundanya pencapaian harapan kamu adalah **Inayah-Nya**, karena Dia lebih memahami & lebih mengetahui dirimu daripada kamu sendiri.

(Aidh bin Abdullah Al Qarni)**)

Yakin segala sesuatu telah diatur Allah, lewati segala hal dengan selalu berpikir positif kepada-Nya, dan selalu hiasi hari mu dengan senyum (Ika nurdiniyah)

*)Departemen Agama Republik Indonesia. 2003. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Semarang: CV. Toha Putra.

***)Al Qarni, A. B. A. 2002. *Jangan Bersedih 4*. Jakarta: Penerbit Gema Insani.

PERSEMBAHAN



Dengan segala kerendahan hati dan khilaf yang tak pernah lepas dari kodratku, kupersembahkan skripsi ini kepada:

- ❖ Allah SWT
Syukur yang tiada pernah putusnya aku haturkan kehadiran-Mu pelindungku, pelipurharaku, tempatku mengadu, penenang jiwaku, penasehatku. KepadaMu hamba berserah.....
- ❖ Ayah dan Ibuku
Sampai saat ini, tiada yang mampu kuberikan untuk membalas semua pengorbananmu. Maka harapanku semoga karya kecil ini menjadi sebuah awal perjuanganku untuk membahagiakan kalian.
- ❖ Adikku Subhan
Terima kasih atas semuanya, canda tawa, kritik, dan motivasi yang secara tidak langsung kudapat darimu. Janjiku pada diriku: aku akan terus berjuang untuk bisa membahagiakanmu, pendengar setiaku. Berjanjilah menjadi yang terbaik untuk kedua orang tua kita.
- ❖ Orang-orang yang pernah hadir dihari-hariku
Bahagia, derita, tawa dan air mata mengiringi setiap kebersamaan. Bersama, kita belajar arti kehidupan dan disitu aku dapatkan arti keberadaanku: sebagai teman, kekasih, kakak, adik, dan teman seperjuangan. Itulah aku dengan segala kekurangan dan kelebihan dari-Nya, terima kasih buat semua.
- ❖ Almamater yang kubanggakan.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

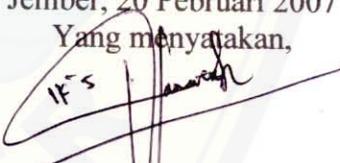
nama : Ika Nurdiniyah

NIM : 001810401089

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul: *Variasi Genetik Itik Manila (Cairina moschata) Berdasarkan Polimorfisme Protein Plasma Darah* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Pebruari 2007
Yang menyatakan,



Ika Nurdiniyah
NIM 001810401089

SKRIPSI

**VARIASI GENETIK ITIK MANILA (*Cairina moschata*)
BERDASARKAN POLIMORFISME PROTEIN
PLASMA DARAH**

Oleh

Ika Nurdiniyah
NIM 001810401089

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dra. Rike Oktarianti M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : DR. Hidayat Teguh Wiyono M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Variasi Genetik Itik Manila (Cairina moschata) Berdasarkan Polimorfisme Protein Plasma Darah* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam pada:

hari : KAMIS

tanggal : 08 MAR 2007

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Tim Penguji

Ketua

Dra. Rike Oktarianti, M.Si
NIP 131877583

Sekretaris

DR. Hidayat T. Wiyono, M.Pd
NIP 131759845

Anggota I

Sri Mumpuni W.W., S.Pd., M.Si
NIP 132236060

Anggota II

Eva Tyas Utami, S.Si., M.Si
NIP 132259219

Mengesahkan
Dekan,




Ir. Sumadi, M.S
NIP 13036878

RINGKASAN

Variasi Genetik Itik Manila (*Cairina moschata*) Berdasarkan Polimorfisme Protein Plasma DarahB; Ika Nurdiniyah, 001810401089; 2007: 36 Halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Itik Manila adalah itik pedaging yang memiliki produktivitas telur tinggi. Karena kemampuan mengeramnya yang baik, sehingga seringkali potensi sebagai penghasil telur terabaikan. Oleh karena itu, ada kecenderungan itik Manila tidak menjadi pilihan utama para peternak unggas khususnya bangsa itik. Untuk produksi daging unggas, budidaya Itik Manila mulai berkembang secara komersial dengan teknik inseminasi buatan dengan mengawinkan itik Manila jantan dengan itik petelur lokal. Dengan semakin berkembangnya berbagai usaha budidaya itu, maka diperlukan upaya pelestarian plasma nutfah untuk mengetahui terjadinya perubahan genetik yang dapat merugikan. Salah satu cara untuk mengetahui karakteristik genetik organisme adalah melalui penelaahan polimorfisme protein plasma darah. Protein di dalam darah yang mudah ditemukan karena memiliki konsentrasi tinggi antara lain Albumin, Transferin dan Pre-albumin. Polimorfisme protein plasma darah dapat diketahui melalui teknik tertentu salah satunya dengan teknik elektroforesis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui polimorfisme protein plasma darah pada itik Manila (*Cairina moschata*) lokus Transferin (Tf), Albumin (Alb), dan Pre-albumin (Pa).

Penelitian tentang polimorfisme protein pada plasma darah itik Manila ini dilakukan mulai bulan Agustus sampai September 2006, di Laboratorium Mikrobiologi dan Biologi Molekuler Universitas Jember. Sampel yang digunakan adalah 20 ekor itik Manila dewasa jantan dan betina yang diambil dari peternakan di Kecamatan Ambulu Jember. Deteksi dan visualisasi plasma darah dilakukan dengan menggunakan teknik elektroforesis gel poliakrilamid.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada plasma darah itik Manila terjadi polimorfisme protein pada lokus pre-albumin, dan albumin. Sedangkan pada lokus Transferin hanya ditemukan satu genotip sehingga termasuk lokus yang nonpolimorfik atau monomorfik. Pada lokus pre-albumin genotip yang ditemukan adalah Pa-AA, dan Pa-BB. Pada lokus albumin ditemukan 3 genotip yaitu Alb-AA, Alb-AB, Alb-AC. Sedangkan pada lokus transferin hanya ditemukan satu genotip yaitu Tf-AA.

Kesimpulan penelitian ini adalah polimorfisme terjadi pada lokus pre-albumin dan albumin, sedangkan transferin termasuk nonpolimorfik (monomorfik). Protein plasma darah itik Manila memiliki derajat polimorfisme sebesar 66.6%. Pre-albumin dikontrol oleh 2 alel yaitu Pa-A, dan Pa-B, albumin dikontrol oleh 3 alel yaitu Alb-A, Alb-B, Alb-C, sedangkan lokus transferin dikontrol oleh 1 alel yaitu Tf-A dengan frekuensi sebesar 1. Nilai heterozigositas masing-masing lokus untuk lokus Tf yaitu 0, lokus albumin sebesar 0.56 dan untuk lokus Pa sebesar 0.42, dan nilai heterozigositas tingkat populasi sebesar 0.33 atau 33%.

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT Penguasa Alam Semesta. Atas berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis akhirnya dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Variasi Genetik ItiK Manila (*Cairina moschata*) Berdasarkan Polimorfisme Protein Plasma Darah”. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ir. Sumadi, M.S. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
2. Drs. Siswanto, M.Si selaku ketua Jurusan Biologi
3. Dra. Rike Oktarianti M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak membantu, membimbing dan memberi saran serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
4. DR. Hidayat Teguh Wiyono M.Pd. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberi saran dan kritik dalam penyusunan skripsi ini.
5. Sri Mumpuni W.W. S.Pd.,M.Si. selaku dosen penguji I yang telah memberi saran, kritik dan semangat dalam penyusunan skripsi ini
6. Eva Tyas Utami S.Si.,M.Si. selaku dosen penguji II yang telah banyak memberi masukan baik saran maupun kritik dalam penyusunan skripsi ini.
7. Ketua Lab.Biologi Molekuler beserta staf/teknisi yang telah memberi izin atas semua penggunaan fasilitas serta bantuan selama proses penelitian.
8. Teman-teman BIO'00, terima kasih atas kebersamaannya.
9. Berbagai pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Besar harapan penulis semoga penulisan skripsi ini bermanfaat untuk semua pihak yang peduli ilmu.

Jember, Pebruari 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN MOTTO	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Biologi Itik Manila (<i>Cairina moschata</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Tata Nama	5
2.1.2 Deskripsi	6
2.2 Ekspresi gen.....	7
2.3 Variasi Genetik.....	8
2.4 Polimorfisme Protein Plasma Darah.....	11
2.5 Teknik Elektroforesis.....	13

2.6 Hipotesa.....	15
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	16
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	16
3.2 Alat dan Bahan.....	16
3.2.1 Alat.....	16
3.2.2 Bahan.....	16
3.3 Prosedur Penelitian.....	17
3.4 Parameter Penelitian.....	18
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
4.1 Hasil Elektroforesis Protein Plasma Darah Pada Itik Manila.....	21
4.1.1 Lokus Transferin (Tf).....	24
4.1.2 Lokus Albumin (Alb).....	27
4.1.3 Lokus Pre-albumin (Pa).....	29
4.2 Variasi genetik (Heterozigositas) Itik Manila.....	30
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	33
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA.....	34
LAMPIRAN.....	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Frekuensi genotip lokus Transferin (Tf) pada itik Manila	25
4.2 Frekuensi alel lokus Transferin (Tf) pada itik Manila	25
4.3 Frekuensi genotip lokus Albumin (Alb) pada itik Manila	27
4.4 Frekuensi alel lokus Albumin (Alb) pada itik Manila.....	27
4.5 Frekuensi genotip lokus Pre-albumin (Pa) pada itik Manila.....	29
4.6 Frekuensi alel lokus Pre-albumin (Pa) pada itik Manila.....	29
4.7 Variasi Genetik (Heterozigositas) Itik Manila	30

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
4.1 Elektroforegram Profil Protein Plasma Darah Itik Manila Gel.....	21
4.2 Skema Pola Profil Protein Plasma Darah Itik Manila Lokus Transferin (Tf), Albumin (Alb) dan Pre-albumin (Pa) Gel I	22
4.3 Elektroforegram Profil Protein Plasma Darah Itik Manila Gel II	23
4.4 Skema Pola Profil Protein Plasma Darah Itik Manila Lokus Transferin (Tf), Albumin (Alb) dan Pre-albumin (Pa) Gel II	24

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Gambar Itik Manila (<i>Cairina moschata</i>).....	38
B. Alur Kerja Elektroforesis	39
C. Pembuatan Kurva Standar Berat Molekul.....	40
D. Perhitungan Berat Molekul Lokus Transferin (Tf), Albumin (Alb) Dan Pre-albumin (Pa) Gel I.....	41
E. Perhitungan Berat Molekul Lokus Transferin (Tf), Albumin (Alb) Dan Pre-albumin (Pa) Gel II	42
F. Perhitungan Frekuensi Genotip Dan Frekuensi Alel Pada Lokus Transferin, Albumin (Alb), Dan Pre-albumin (Pa).....	43



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Itik Manila termasuk golongan unggas air, meskipun kehidupan hewan ini lebih bersifat terestrial tidak seperti golongan jenis unggas air lainnya (Srigandono, 1991). Hewan ini termasuk bangsa Anatidae, bersifat *Omnivorous* atau pemakan segala seperti biji-bijian, umbi-umbian, bekicot dan kerang (Suharno dan Setiawan, 2001). Menurut Wasito dan Rohaeni (1994), telur dan daging Itik Manila serta jenis itik lain mengandung protein, karbohidrat, lemak, mineral, vitamin dan air.

Masyarakat Indonesia umumnya mengenal Itik Manila sebagai itik pedaging. Itik Manila memiliki tubuh yang lebih besar dibanding hewan jenis itik lainnya sehingga sangat memungkinkan untuk dikonsumsi dagingnya. Sebagai hewan pedaging yang potensial, itik Manila mulai banyak dikembangkan secara komersial baik di Indonesia maupun di negara lain seperti Taiwan. Budidaya secara komersial dikembangkan melalui teknik inseminasi buatan antara Itik Manila jantan dengan Itik petelur lokal menghasilkan varian yang dikenal dengan nama itik serati, tiktok, atau blengung (Ardian, 2001). Varian ini memiliki kepala lebih besar dan tinggi, daging pada dada yang lebih tebal dan besar dibanding itik Manila, serta produksi telur yang tinggi.

Menurut Samosir (1983) spesies ini adalah penghasil telur yang baik (memiliki produktivitas tinggi) terutama pada pemeliharaan dalam skala yang besar. Telur itik Manila dikonsumsi baik secara langsung maupun setelah melalui pengolahan tertentu. Budidaya Itik Manila di daerah pedesaan umumnya belum optimal karena kurangnya informasi tentang potensi yang dimiliki itik jenis ini. Khususnya di daerah Jember jarang sekali peternak yang membudidayakan itik Manila sebagai ternak utama. Bagi peternak itik jenis lokal, itik Manila hanya berfungsi sebagai pengeram telur karena memiliki kemampuan mengeram yang baik.

Srigandono (1991) menyebutkan bahwa kebanyakan bangsa itik asli saat ini tidak lagi memiliki sifat mengeram, sehingga sangat efektif jika telur-telur itik tersebut dierami oleh Itik Manila. Menurut Kingston (1978) dalam Srigandono (1991) seekor Itik Manila (tergantung berat badan) dapat mengerami 20 sampai 30 butir telur pada sarangnya. Selain itu itik Manila dapat dilatih untuk terus menerus mengerami telur selama 4-5 bulan meskipun kemampuan alaminya hanya mampu mengeram selama 28 sampai 35 hari.

Dengan berkembangnya berbagai usaha budidaya itik Manila baik melalui perkawinan sendiri atau persilangan, maka sangat diperlukan adanya pelestarian plasma nutfah untuk mencegah terjadinya perubahan genetik yang dapat merugikan. Selain itu diperlukan usaha pengembangan yang dapat dimanfaatkan secara berkelanjutan pada waktu yang akan datang dengan tetap mempertahankan kemurnian genetiknya. Adanya berbagai penelitian tentang itik Manila dapat menambah informasi tentang potensi yang dimiliki itik Manila dan meningkatkan minat masyarakat untuk membudidayakannya.

Karakteristik genetik sangat diperlukan dalam membantu mempelajari organisme. Salah satu acuan yang dapat digunakan untuk mempelajari karakteristik genetik adalah protein, yaitu dengan cara menelusuri kemiripan struktur protein tertentu. Protein juga dapat digunakan untuk mengkaji keanekaragaman, baik protein struktural maupun fungsional (Hartl, 1980). Upaya yang dapat dilakukan untuk mengetahui keanekaragaman adalah dengan menelaah variasi genetiknya. Salah satunya adalah penelaahan pada polimorfisme protein plasma darah. Protein-protein yang mudah ditemukan dalam jumlah besar (konsentrasinya tinggi) sehingga mudah diamati dalam plasma darah antara lain: transferin, albumin, dan prealbumin. Polimorfisme protein plasma darah dapat diketahui menggunakan teknik tertentu. Salah satu teknik yang paling banyak dilakukan adalah elektroforesis, yaitu memisahkan molekul-molekul bermuatan dari medan listrik berdasarkan perbedaan berat molekul, muatan ion, ukuran dan bentuk molekul serta medium yang digunakan (Jenkins, 1990).

Beberapa penelitian terdahulu tentang polimorfisme protein darah khususnya pada lokus yang Pre-albumin, Albumin, dan Transferin dilakukan pada angsa oleh Kuznetsov (1995), itik Mojosari oleh Triana (2006), itik Magelang oleh Kusumaning (2006), dan itik Bali oleh Lindartiana (2006).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka diperlukan penelitian mengenai “Variasi Genetik Itik Manila (*Cairina moschata*) Berdasarkan Polimorfisme Protein Plasma Darah”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian yang telah disebutkan diatas dapat ditentukan beberapa rumusan masalah yaitu:

1. Apakah terdapat polimorfisme protein pada lokus transferin, albumin, dan pre-albumin dalam plasma darah Itik Manila (*Cairina moschata*).
2. Apakah terdapat variasi genetik (tingkat heterozigositas) pada Itik Manila (*Cairina moschata*).

1.3 Batasan Masalah

1. Pengamatan polimorfisme profil protein dilakukan pada lokus transferin albumin, dan pre-albumin.
2. Itik Manila dewasa (*Cairina moschata*) yang digunakan adalah varian bulu putih yang diperoleh dari peternakan di daerah Ambulu.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk:

1. Mengetahui polimorfisme protein plasma darah Itik Manila (*Cairina moschata*) pada lokus transferin, albumin, dan pre-albumin.
2. Mengetahui variasi genetik (tingkat heterozigositas) berdasarkan polimorfisme protein plasma darah pada Itik Manila (*Cairina moschata*).

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini menghasilkan informasi tentang karakteristik genetik itik Manila (*Cairina moschata*) yang dapat digunakan sebagai usaha konservasi genotip-genotip tertentu dalam menunjang pelestarian plasma nutfah.





BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Itik Manila (*Cairina moschata*)

2.1.1 Klasifikasi dan Tata Nama

Itik Manila termasuk dalam famili Anatidae sedangkan asal-usul sebenarnya masih dianggap kontroversi oleh beberapa ahli. Hal ini disebabkan karena ancestor itik Manila sebenarnya adalah *Cairina moschata* yang termasuk dalam tribus Cairina sebagai anggota subfamily Anatinae. Sedangkan pada perkembangannya, karena tubuhnya yang mirip itik asli, maka kemudian Itik Manila sering digolongkan kedalam tribus itik asli (Anatini) dan bukan ke dalam golongan lain (Srigandono, 1991). Menurut Radiopoetro (1996) klasifikasi dan tatanama hewan ini adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Vertebrata
SubPhylum	: Craniata
Class	: Aves
SubClass	: Neornithes
Ordo	: Anseriformis
Family	: Anatidae
SubFamily	: Anatinae
Genus	: <i>Cairina</i>
Species	: <i>Cairina moschata</i>

Itik Manila dalam dunia hewan (Animalia) dikenal dengan beberapa nama yaitu: Itik Guinea, Barbary, Cairon, Indian, Pato, Turkish, dan Manilate. Sedangkan di Indonesia nama yang paling umum untuk hewan ini adalah entog, mentok, Itik manila, dan Itik Manila (Samosir, 1983; Srigandono, 1991).

2.1.2 Deskripsi

Umumnya jenis itik domestik yang dipelihara (diternakkan) sekarang merupakan keturunan dari itik liar yang bernama "*Mallard*" atau "*Wild Mallard*" (*Anas platyrinchos*). Hal itu didasarkan pada sifat itik domestik sekarang memiliki sifat-sifat "*Mallard*" seperti:

1. memiliki "sex feathers" yaitu bulu-bulu yang mencuat ke atas pada ujung ekornya sebagai pertanda khas hewan jantan.
2. bila disilangkan dengan itik jantan liar lain yang tidak memiliki bulu ekor mencuat dan kemudian keturunan F1 dikawinkan lagi dengan itik liar yang tidak memiliki bulu ekor mencuat maka keturunannya akan cenderung kehilangan bulu spesifik atau tumbuh tidak sempurna. Sehingga itik domestik yang ada bertahan dengan bulu itu.
3. "*Mallard*" yang tertangkap dan dipelihara menunjukkan adaptasi terhadap kehidupan terkurung (mudah didomestikasi).

Hal ini berbeda dengan sifat-sifat yang dimiliki Itik Manila yaitu: dapat membuat sarang sendiri, mengerami telur, masih agak liar, dapat terbang jauh dan tinggi serta suka bertengger ditempat yang tinggi. Hal menonjol yang menyebabkan itik Manila tidak termasuk keturunan "*Wild Mallard*" adalah:

1. tidak dapat disilangkan dengan jenis itik lain karena keturunannya infertil,
2. telurnya menetas 1 minggu lebih lama dari itik biasa,
3. tidak bersuara, tetapi berbunyi seperti angsa (honk) (Samosir, 1983),
4. pejantannya tidak memiliki bulu-bulu mencuat pada ujung ekornya (sex feathers),
5. hidupnya lebih bersifat terestrial (Srigandono, 1991).

Karakteristik yang dimiliki Itik Manila ialah adanya karankula yang berwarna merah (kadang-kadang hitam) yang menutupi sebagian dari muka serta pangkal paruh atas. Itik Manila juga mendapat julukan "the musk duck" karena tubuhnya mengeluarkan bau khas seperti bau kesturi. Hewan ini merupakan keturunan itik Brazilia di Amerika Selatan dengan sedikit perubahan oleh domestikasi (Samosir,

1983). Menurut Srigandono (1991),* Itik Manila masuk ke Indonesia melalui Singapura atau Filipina (Manila) sehingga sering disebut Itik Manila. Samosir (1983) dan Srigandono (1991) menyebutkan beberapa varietas Itik Manila yang dikenal antara lain berbulu campuran (biru-putih dan hitam-putih), bulu biru, dan bulu putih.

Spesifikasi bentuk standart Itik Manila antara lain kepala yang besar, kasar, terdapat bulu dan karankula, mata seperti murung atau sendu, serta paruh yang pendek dan kecil lebih mirip paruh angsa. lehernya lebih pendek dari itik asli. Memiliki punggung dengan panjang 65 % lebih dari lebarnya dan mempunyai sayap kuat sehingga mampu terbang jauh. Telurnya berwarna putih agak kemerahan. Bulu pada seluruh badannya padat dan *lustrous*. Berbadan besar, padat dengan dada lebar dan perut besar tapi tidak menggantung ke bawah dengan ekor lebih panjang dari jenis itik asli. Berkaki pendek dengan kuku yang panjang dan tajam sebagai senjata. Penampilan itik ini hampir mendatar (horizontal) dengan berat standar untuk itik jantan ± 5 kg dan itik betina $\pm 3,3$ kg (Srigandono, 1991) (lampiran A: Gambar spesies itik Manila).

2.2 Ekspresi Gen

Kehidupan yang ada saat ini tidak akan pernah bisa lepas dari kehidupan generasi sebelumnya, baik yang tampak sebagai kemiripan morfologis maupun sifat yang dimiliki. Suatu organisme dikatakan mirip atau serupa dengan induknya karena adanya beberapa persamaan ciri-ciri yang diwariskan. Ciri-ciri yang diwariskan tersebut disimpan sebagai informasi genetik dalam gen-gen yang secara molekuler tersusun atas DNA.

Gen merupakan unit fisik yang terletak dalam kromosom yang tersusun atas Asam Deoksiribonukleotida (DNA) dan protein (Sofro, 1994). Fungsi sebagian besar gen adalah untuk menentukan pembentukan protein serta penentuan karakter atau sifat (Goodenough, 1988). Karakter atau sifat-sifat makhluk hidup muncul sebagai produk rangkaian reaksi biokimia yang setiap tahapnya dikatalisasi oleh enzim. Enzim merupakan protein yang tersusun dari polipeptida-polipeptida dan

pembentukannya dikontrol oleh gen melalui proses sintesis protein. Sintesis protein melibatkan 2 peristiwa penting, yaitu proses transkripsi (pemindahan informasi genetik dari DNA ke RNA) dan translasi (pemindahan informasi genetik dari RNA ke protein) (Suryo, 1986).

Menurut Sofro (1994), informasi genetik yang disimpan dalam DNA akan tetap tersimpan atau diekspresikan dalam bentuk molekul protein. Molekul protein yang terbentuk menjadi ciri-ciri yang dapat dilihat sebagai protein sendiri atau alternatifnya bersama faktor-faktor morfologi, fisiologi, biokimiawi dan perilaku tertentu.

2.3 Variasi Genetik

Keanekaragaman adalah fenomena yang normal pada makhluk hidup. Hal ini dapat diamati dengan mudah pada ciri luar maupun ciri dalam baik pada tumbuhan, hewan maupun manusia. Ciri luar dapat diamati secara visual tanpa alat bantu, tetapi ciri dalam sampai aras molekuler hanya dapat dikenali atau diamati dengan alat bantu dan melalui pemeriksaan laboratorium khusus (Kusumaning, 2006). Menurut Sofro (1992), dalam mempelajari variasi terutama ditekankan pada bentuk morfologis. Pada kenyataannya, banyak fenotip yang lebih beranekaragam tetapi tidak mudah dilihat secara langsung. Dengan teknik biologi molekuler dapat dilakukan pemeriksaan terhadap keanekaragaman genetik pada individu-individu anggota spesies, bukan saja sampai aras protein bahkan sampai aras DNA.

Pengelompokkan makhluk hidup berdasarkan persamaan dan perbedaan secara morfologis telah dilakukan oleh para ahli taksonomi. Tetapi sekelompok makhluk hidup yang sudah dikelompokkan pada takson paling spesifik yaitu spesies (jenis) tetap menunjukkan adanya beberapa perbedaan diantara individu-individunya. Menurut Sofro (1994), secara genetik tidak ada 2 individu dalam satu spesies yang persis sama. Perbedaan antara individu ini disebabkan oleh variasi berbagai faktor seperti faktor genetik, umur, jenis kelamin, makanan, stadium daur hidup, bentuk

tubuh dan habitat. Sedangkan variasi genetik itu sendiri merupakan variasi yang disebabkan oleh perbedaan pada bahan genetik (Yatim, 1996).

Variasi genetik merupakan variasi dalam materi-materi genetik pada suatu populasi atau spesies, yang termasuk didalamnya antara lain pada inti sel, dan mitokondria. Adanya variasi genetik dapat mengakibatkan perubahan bentuk, pergeseran, dan perubahan kariotip (urutan, bentuk, ukuran, dan susunan internal dalam kromosom) (Wikipedia, 2006). Beberapa faktor pendorong terjadinya variasi antara lain: fertilisasi (rekombinasi seksual), adaptasi dengan lingkungan, "gene flow" dan "genetic drift", mutasi serta seleksi alam (Bakerley, 2005; Batoro, 2005; Mnsu, 2005).

Pada makhluk hidup yang bereproduksi secara seksual, keturunan yang dihasilkan berbeda dengan induknya karena selama meiosis kromosom bergabung secara acak dan pada saat fertilisasi terjadi penggabungan materi genetik dari dua sel berbeda yaitu sel telur dan sel sperma (Batoro, 2005). Pada perkawinan antara *parental* dengan genotip yang homozigot dan heterozigot maupun sesama heterozigot bisa menghasilkan keturunan yang heterozigot. Adanya perkawinan individu-individu yang berkerabat dekat secara terus menerus akan melenyapkan individu yang heterozigot, hal itu dapat menurunkan tingkat heterozigositas (variasi genetik) (Suryo, 1998).

Pai (1992) dan Suryo (1998) menyebutkan bahwa genotip mempunyai hubungan yang dinamis dengan lingkungan dimana individu itu berada. Faktor lingkungan seperti seleksi mempunyai kecenderungan untuk mengubah frekuensi gen, dengan demikian dapat meningkatkan variasi genetik atau meningkatkan heterozigositasnya. Lingkungan yang sempit dengan jumlah populasi sedikit akan berpengaruh pada peluang distribusi gen antar individu, semakin kecil jumlah populasi maka semakin sedikit pula peluang terjadinya pertukaran gen. Hal ini dapat menurunkan heterozigositas (variasi) (Hadie *et al*, 1999).

Faktor lain penyebab terjadinya variasi genetik adalah “gene flow” dan “genetic drift”. “Gene flow” merupakan kisaran gen pendatang (dari luar populasi) mulai dari yang paling rendah ke yang sangat tinggi tergantung dari jumlah individu yang datang dan seberapa banyak perbedaan genetik yang ada pada individu tersebut. Perpindahan (migrasi) merupakan salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya variasi genetik. Ketika sekelompok individu datang dari daerah lain dengan genotip berbeda yang berasal dari populasinya, maka hal tersebut bisa menjadi sumber variasi genetik baru (Ridley, 2006). Sedangkan “genetic drift” adalah perubahan atau fluktuasi frekuensi gen dalam populasi, salah satu penyebabnya adalah perkawinan keluarga (Suryo, 1986). Genetic drift selalu mempengaruhi frekuensi alel pada beberapa tingkat tetapi pengaruhnya akan menurun pada populasi yang berukuran besar. Di dalam populasi yang kecil (kurang dari 100 individu) genetic drift masih cukup kuat pengaruhnya terhadap perubahan frekuensi alel, meskipun ada agensia evolutif lain yang berperan pada saat itu juga terhadap perubahan frekuensi alel dalam arah yang berbeda (Bakerley, 2005; Mnsu, 2005).

Salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya variasi genetik adalah mutasi. Hal itu terjadi jika ada perubahan materi genetik baik yang disebabkan oleh faktor luar seperti radiasi atau zat kimia yang bersifat mutagenik atau faktor internal yang spontan misalnya pada saat replikasi (Prawoto *et al.*, 1997). Terjadinya mutasi dapat memunculkan variasi baru dalam suatu populasi juga membawa perubahan dalam frekuensi alel. Menurut Warwick *et al* (1990), mutasi adalah perubahan dalam gen atau bagian kromosom menjadi bentuk baru. Rafelson *et al.* 1980 dalam Riandi (1997), menyatakan bahwa kekhasan molekul protein ditentukan oleh urutan asam amino yang membentuk polipeptida. Urutan asam amino ditentukan berdasarkan “perintah” gen. Jadi susunan asam amino pada rantai polipeptida dikendalikan secara genetik. Jika satu atau lebih asam amino pada urutan tersebut berubah akibat suatu mutasi titik, konsekuensinya bisa sangat berbahaya atau mungkin akibat mutasi ini akan terbentuk protein baru yang menjamin kelangsungan hidup organisme (Crowder, 1997).

2.4 Polimorfisme Protein Plasma Darah

Darah tersusun atas sel-sel darah, yaitu eritrosit, leukosit, serta trombosit yang tersuspensi dalam media cair yang disebut plasma. Plasma darah mengandung bermacam-macam zat yang mempunyai fungsi kompleks dan berisi substansi-substansi yang berbeda yaitu meliputi 90-92 % air, 7-8 % protein, karbohidrat, lipid, hormon, enzim, antibody, dan lain-lain. Komposisi air dan elektrolit dalam plasma pada dasarnya sama seperti dalam cairan ekstrasel. Protein plasma sebenarnya adalah campuran yang kompleks termasuk didalamnya protein terkonjugasi seperti glikoprotein dan berbagai tipe lipoprotein. Di dalam darah protein terdapat dalam bentuk sederhana maupun kompleks, termasuk bagian padat terbanyak yaitu 7-7.5 g/dL (Murray *et al.*, 1997; Sofro, 1994).

Protein merupakan makromolekul yang kompleks dan terdapat pada semua sel (Pai, 1992). Protein terdiri dari bermacam-macam golongan makromolekul yang heterogen, namun semuanya merupakan polipeptida dengan berat molekul tinggi (Muliawan, 1979). Sejumlah besar protein dalam darah memiliki fungsi spesifik (Wuryastuti, 1991). Umumnya perbedaan-perbedaan diatas secara genetik telah ditemukan dalam globulin (transferin), albumin, dan enzim darah serta hemoglobin. Perbedaan-perbedaan itu dapat ditentukan dengan prosedur biokimia terutama dengan menggunakan teknik elektroforesis (Warwick *et al.*, 1990).

Jika suatu protein dapat dikategorikan dalam beberapa fenotip protein yang dikontrol oleh 2 alel atau lebih pada lokus gen tertentu, disebut sebagai polimorfisme protein (Harris, 1994). Lokus dikatakan polimorfisme jika 2 atau lebih alel berada dalam suatu populasi. Suatu lokus tergolong lokus polimorfik jika frekuensi alel terbanyak yang ditemukan tidak melebihi 99 % atau 0,99 (Ismadi, 1994; Li & Graur, 1991). Alel polimorfisme dalam suatu populasi dapat dihitung dengan menggunakan frekuensi alel & heterozigot (Nei, 1978 dalam Suryani *et al.*, 2001). Sebagian besar polimorfisme protein darah diatur secara genetik oleh pasangan alel tanpa dominansi (Warwick *et al.*, 1990).

Bentuk-bentuk polimorfik dapat diketahui dengan menggunakan elektroforesis gel pati. Dengan teknik tersebut setiap bentuk polimorfik memperlihatkan suatu migrasi yang khas (Murray *et al.*, 1997). Protein terdiri dari satu atau lebih rangkaian polipeptida yang dikontrol oleh gen atau lokus yang sama atau berbeda sehingga pita-pita polimorfisme protein yang terbentuk dapat dianggap sebagai ciri fenotip dari suatu individu. Dari pita-pita yang terbentuk dapat diketahui protein yang diekspresikan oleh gen berasal dari lokus yang sama atau berbeda (Masyud, 1992).

Studi polimorfisme protein darah pada hewan khususnya pada unggas seperti angsa, ayam lokal, puyuh, jalak bali dan beberapa jenis itik telah dilakukan antara lain pada lokus albumin, globulin (transferin), enzim-enzim darah serta hemoglobin.

Transferin (Tf)

Transferin merupakan β -globulin dengan berat molekul kurang lebih 76.000-80.000 Dalton. Protein ini adalah glikoprotein yang disintesis di hati dengan lebih dari 20 bentuk polimorfik. Dengan elektroforesis berdasarkan atas mobilitasnya Tf dibedakan menjadi α_1 -globulin, α_2 -globulin dan β -globulin, serta γ -globulin yang memiliki fungsi antara lain: mentransport lemak, hormon, vitamin, dan ion-ion logam (Physiol, 2000). Peranan sentral Tf dalam tubuh yaitu untuk mengangkut zat besi. Konsentrasi Tf dalam plasma kurang dari 300 mg/dL. Jumlah Tf yang dapat mengikat sekitar 300 g zat besi/ dL, menggambarkan kapasitas pengikatan besi pada plasma (Murray *et al.*, 1997). Dengan elektroforesis gel pati atau gel poliakrilamid berbagai macam protein globulin yang terdapat dalam fraksi-fraksi dapat dikenali secara spesifik (Sofro, 1994).

Albumin (Alb)

Albumin adalah protein paling melimpah dalam plasma dengan ukuran paling kecil dan bermuatan paling besar (Brojo, 1992). Albumin berperan penting dalam pengikatan dan transport berbagai zat di dalam darah dan bertanggungjawab pada sekitar 80 % tekanan osmotik potensial plasma. Hal ini disebabkan karena albumin dan protein lain yang berat molekulnya tinggi, tidak dapat melintasi dinding

pembuluh atau dinding kapiler sehingga membantu mempertahankan cairan berada dalam system vascular (Fradson, 1993). Albumin plasma berfungsi sebagai tempat penyimpanan protein dan juga mempertahankan tekanan osmotik serta pH plasma dan transport dari berbagai material (Wuryastuti, 1991).

Albumin merupakan komponen utama protein serum dengan konsentrasi 3500-5000 mg/100 ml (Rafelson *et al.*, 1980). Berat molekul albumin sekitar 68.000-69.000 Dalton dengan titik isoelektrik sebesar 4,7. Struktur primernya terdiri dari 610 asam amino dalam satu rantai polipeptida. Struktur sekundernya membentuk lipatan yang dapat dibuka atau dilipatkan kembali dengan cara menaikkan dan menurunkan pH (Muliawan, 1979; Sofro, 1992).

Pre-Albumin (Pa)

Pre-albumin mempunyai berat molekul 54.000-55.000 Dalton. Dengan menggunakan elektroforesis, protein pre-albumin bermigrasi dengan membentuk dua pita di depan protein albumin (Putnam 1984 dalam Mu'in, 1996). Pre-albumin mempunyai fraksi albumin yang mentransport hormon tiroksin dan metabolitnya (iodotironon) bersama-sama dengan transferin yang terikat pada tiroksin dan albumin (Physiol, 2000).

2.5 Teknik Elektroforesis

Berbagai cara atau teknik dapat digunakan dalam pemisahan protein untuk mengetahui adanya keanekaragaman genetik, salah satunya dengan metode elektroforesis (Sofro, 1994). Teknik elektroforesis paling sering digunakan dalam penelitian biologi molekuler untuk memisahkan protein atau asam nukleat (Weaver, 2002). Istilah umum elektroforesis adalah gerakan muatan partikel di bawah pengaruh medan listrik (Ferguson, 1980).

Berbagai molekul biologis seperti asam amino, peptida, protein nukleotida dan asam-asam nukleat memiliki gugus yang dapat mengion sehingga dapat diatur dalam larutan sebagai suatu senyawa yang bermuatan listrik yaitu kation dan anoda. Senyawa yang bersifat nonpolar dapat diberi muatan dengan derivatisasi misalnya

sebagai senyawa borat atau fosfat. Molekul yang memiliki muatan yang sama memiliki imbang muatan atau massa karena perbedaan kecepatan penyebaran apabila campuran ion dalam larutan diberi medan listrik. Prinsip inilah yang dipakai dalam teknik pemisahan secara elektroforesis. Faktor-faktor penentu keberhasilan proses elektroforesis antara lain: system buffer, konsentrasi gel, tegangan listrik serta suhu dan waktu "running" (Sudarmadji, 1996).

Semua protein membawa muatan listrik yang ditentukan oleh komponen asam amino dan pH mediumnya. Mobilitas protein melalui matriks selama elektroforesis dipengaruhi muatan rantai samping (Holme dan Hazel, 1993). Apabila campuran protein diletakkan diantara kedua elektroda, molekul bermuatan akan bergerak kearah salah satu elektroda dengan kecepatan yang tergantung pada besar muatan, jenis medium penunjang yang digunakan dan berat molekul (Sadikin, 2001). Semakin kecil berat molekul protein maka mobilitasnya akan tinggi sehingga pergerakan proteinnya semakin jauh, sebaliknya protein dengan berat molekul lebih besar maka pergerakannya lebih rendah dan pendek karena mobilitasnya yang lebih rendah. Hal itu menyebabkan berbagai jenis protein akan terpisah-pisah pada gel poliakrilamid dan pada jalur pergerakannya diperoleh jajaran protein (band atau pita protein) (Widyarti, 2000). Menurut Harris (1994) apabila plasma darah dielektroforesis menggunakan gel pati atau akrilamid, maka akan ditemukan protein yang tampak sebagai pita-pita yang kompleks.

Berdasarkan proses tersebut maka hasil analisis teknik elektroforesis dapat memberi informasi tentang frekuensi alel suatu populasi, tingkat heterozigositas, homozigositas, serta hubungan filogenetis suatu jenis, genus atau populasi (Masyud, 1992).

2.6 Hipotesa

1. Terdapat polimorfisme dalam protein plasma darah Itik Manila (*Cairina moschata*).
2. Terdapat variasi genetik pada Itik Manila (*Cairina moschata*) berdasarkan polimorfisme protein plasma darah pada lokus Albumin, Pre-albumin, dan Transferin.





BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel darah dilakukan di peternakan Itik Manila di kecamatan Ambulu. Preparasi sampel darah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi jurusan Biologi FMIPA dan analisis profil protein plasma darah di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Jember. Penelitian dilakukan pada bulan Agustus sampai September 2006.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Seperangkat alat elektroforesis system vertical (Biorad, Japan), *sentrifuge* (Sigma 3 K12), *disposable syringe* 2.5 mL (Terumo, Japan), tabung minitube (eppendorf) 1.5 mL, *mikropipet* (Socorex, Swiss), termos es, *yellow tip*, *blue tip*, *freezer* (Sanyo SCF 4N), *power supply* (Kayagaki PS-10), kaca, *cutter gel*, *Erlenmeyer* 25 mL, *tissue*, *shaker* (Riko RS-12TE), *Scanner* (Canon, LIDE 25) dan penjepit kertas/ kaca.

3.2.2 Bahan Penelitian

- a. Hewan uji:
 - ~ 20 ekor Itik Manila (*Cairina moschata*) dari daerah Ambulu
- b. Preparasi sample:
 - Alkohol 70%, EDTA (*ethylene diamine tetra acetic-acid*)
- c. Gel:
 - Acrilamide-bis* (Sigma, USA), *Tris HCL* (Merck, Germany), *ammonium persulfate* (APS) 10 % (Bio_Rad Laboratories), *sodium dodecyl sulphate* (SDS) 10 % (Bdh Limited Poole, England), N, N, N', N' *tetra methyl ethylene diamine* (TEMED) 0.05 % (Bio_Rad Laboratories), *glycine*

(Merck, Germany), glycerine (Merck, Germany), *mercaptoethanol 2-b* (Merck, Germany), dan *aquabidest*.

d. Pewarnaan, pencucian dan penyimpanan gel:

Bromophenol blue (Merck, Germany), *trichloro acetic acid* (Merck, Germany), *methanol* (Merck, Germany), *acetic acid glacial* (Merck, Germany), *coomassie brilliant blue R-250* (Bdh Chemical Ltd, England).

3.3 Prosedur Penelitian

Deteksi dan visualisasi protein plasma darah dilakukan dengan menggunakan elektroforesis gel poliakrilamid vertikal (Sofro, 1992). Langkah-langkah yang dilakukan meliputi:

1) Pengambilan sampel darah

Darah diambil sebanyak 1ml menggunakan *disposable syringe* dari daerah vena sayap yang telah dibersihkan dengan alkohol 70 %. Darah kemudian dipindahkan kedalam tabung minitube berisi EDTA. Segera setelah itu tabung minitube ditutup dan digoyang perlahan agar darah bercampur sempurna dengan EDTA. Tabung minitube yang berisi campuran darah-EDTA dimasukkan dalam termos es yang berisi es batu.

2) Penyiapan plasma darah

Sampel darah *disentrifuge* 4000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan plasma darah dari sel darah. Plasma darah yang diperoleh dimasukkan kedalam minitube kemudian disimpan dalam *freezer* dengan suhu -20°C sampai pelaksanaan proses elektroforesis.

3) Penyiapan gel untuk elektroforesis

a. Penyiapan gel pemisah atau *running gel*

Sebagai gel pemisah digunakan *acrylamide* 12%. Cara membuatnya yaitu dengan mencampurkan 2.5ml LGB (larutan buffer *Tris-HCL* 1.5 M pH 8.8 & SDS 10 %(w/v)), 4.15mL

stok *acrylamide-bis* (30 % T; 2.6 % C), 50 μ L APS 10 % dan 10 μ L TEMED 0.05 % dilarutkan dalam 3.35 L *aquabidest*.

b. Penyiapan gel penggertak atau *stacking gel*

Gel penggertak yang digunakan adalah *acrylamide* 3 % yang dibuat dengan mencampur 0.75 mL UGB (*Tris-HCL* 0,5 M pH 6.8 & SDS 10 % (w/v)), 0.45 mL stok *acrylamide-bis* (30 % T; 2.6 % C) dan 20 μ L APS 10 % dilarutkan dalam 1.8 μ L *aquabidest* dan ditambah 9 μ L TEMED 0.05 % (khusus TEMED dicampurkan ketika akan dituang ke dalam apitan kaca).

4) Pelaksanaan elektroforesis gel (lampiran B)

5) Pewarnaan gel atau *staining*

Gel direndam dalam pewarna *coomassie brilliant blue* 0.1 % selama 24 jam dan digoyang perlahan dalam *shaker*.

6) Pencucian (*destaining*) dan penyimpanan gel

Proses pencucian gel dilakukan dengan cara merendam gel ke dalam larutan pencuci yang terdiri dari metanol, *acetic acid glacial* dan *aquabidest*, kemudian digoyang perlahan dalam *shaker* selama 30 menit. Proses pencucian dapat diulang sampai nampak pita-pita protein pada gel. Gel tersebut kemudian difoto dan disimpan dalam larutan asam asetat 5 % selanjutnya dikeringkan dengan kertas kaca.

3.4 Parameter Penelitian

Berdasarkan atas dasar jumlah dan tebal tipisnya pita protein yang terbentuk dapat ditentukan genotip dan dihitung frekuensi alel, derajat polimorfisme, heterozigositas, dan rata-rata heterozigositasnya (Ferguson, 1980). Identifikasi pita protein plasma darah yang tampak pada gel dilakukan dengan menghitung berat molekul berdasarkan mobilitas relatifnya (Rf) dibandingkan marker yang sudah diketahui berat molekulnya.

Frekuensi Alel

Menurut Ferguson (1980) frekuensi alel dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Frekuensi Alel} = \frac{2H_o + H_e}{2N}$$

Keterangan: H_o = jumlah alel homozigot

H_e = jumlah alel heterozigot

N = jumlah individu

Derajat Polimorfisme

$$P = \frac{\text{Jumlah lokus polimorfik}}{\text{Jumlah total lokus yang diamati}}$$

Suatu lokus dianggap polimorfisme bila frekuensi dari alel yang paling sering muncul $< 0,99$ atau 99 % (Leary and Booke dalam Suryani, *et al.*, 2001).

Heterozigositas (H_e)

Heterozigositas merupakan ukuran keragaman genetik pada populasi yang kawin acak. Ukuran ini dihitung berdasarkan frekuensi alel pada setiap lokus (Nei, 1978 dalam Suryani, *et al.*, 2001).

$$H_e = 1 - \sum X_i^2$$

Keterangan: H_e = heterozigositas

X_i = frekuensi alel ke-I

Rata-rata Heterozigositas (H)

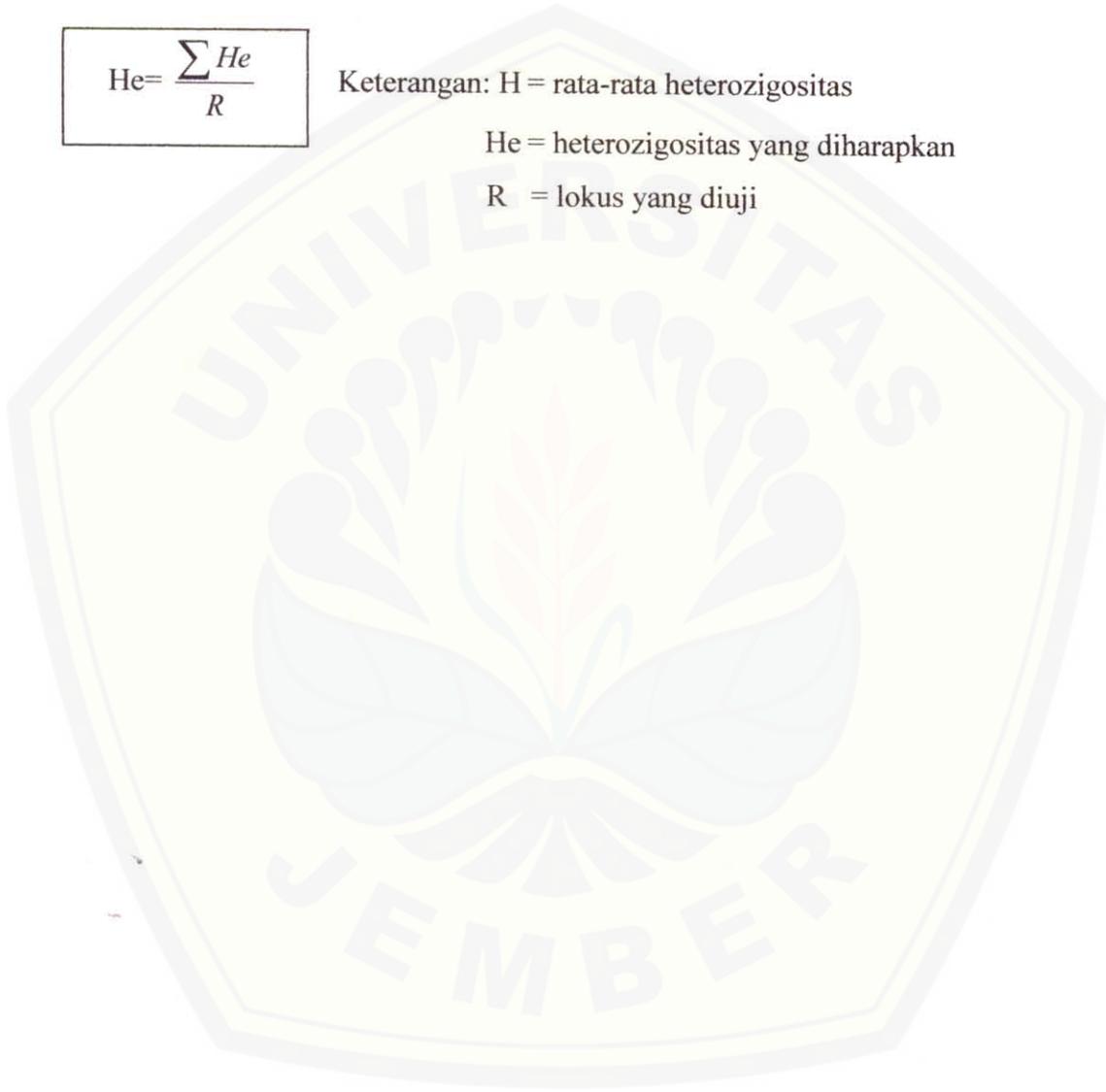
Menurut Nei (1978) dalam Suryani *et al.* (2001) rata-rata heterozigositas dapat dihitung dengan rumus:

$$H_e = \frac{\sum H_e}{R}$$

Keterangan: H = rata-rata heterozigositas

He = heterozigositas yang diharapkan

R = lokus yang diuji





BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat diperoleh suatu kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada plasma darah itik Manila terjadi polimorfisme protein pada lokus pre-albumin dan albumin, sedangkan lokus transferin termasuk nonpolimorfik (monomorfik). Derajat polimorfisme protein dari seluruh lokus yang diamati adalah sebesar 66.6%. Lokus pre-albumin dikontrol oleh 2 alel yaitu Pa-A, dan Pa-B, lokus albumin dikontrol oleh 3 alel yaitu Alb-A, Alb-B dan Alb-C, sedangkan lokus transferin dikontrol oleh 1 alel yaitu Tf-A.
2. Nilai heterozigositas masing-masing lokus untuk lokus Tf yaitu 0, lokus albumin sebesar 0.56 dan untuk lokus Pa sebesar 0.42. Sedangkan nilai heterozigositas tingkat populasi yaitu sebesar 0,33 atau 33%.

5.1 Saran

1. proses pengambilan darah disarankan menggunakan *disposable syringe* yang berujung besar dan tumpul (ukuran diatas 2 mL) agar sel darah tidak pecah pada saat masuk jarum *syringe*. Sehingga plasma yang digunakan sebagai sampel tidak bercampur dengan sel darah.
2. waktu pengambilan darah sampai pemisahan plasma dengan sel darah dan pelaksanaan elektroforesis disarankan pada hari yang sama atau tidak lebih dari 24 jam. Hal itu bertujuan agar sampel tidak terlalu lama disimpan dalam lemari pendingin (*freezer*) karena protein plasma akan mengeras dan rusak.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardian. 2001. *Keraaman "Itik Serati" Sebagai Itik Pedaging dan Permasalahannya*. [Online]. <http://www.balitnak.litbang.deptan.go.id>. Diakses 5 Juni 2006.
- Batoro, J. 2005. *Keanekaragaman Tumbuhan*. Artikel [Online]. www.kabmalang.go.id/artikel/artikel_cfm?id.berita.cfm. Diakses 8 Juni 2006.
- Berkeley. 2005. *Genetic Variation*. Article [Online]. http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/4_0_0/evo_17. Diakses 8 Juni 2006.
- Brojo, M. 1992. *Morfologi Kariotip dan Pola Protein Ikan Mujair (Oreochromis mossambica), Ikan Nila (Oreochromis niloticus), dan Keturunannya* Laporan Penelitian. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Chung, M. C. M. 1987. *Poliacrylamide Gel Electrophoresis*. Paris. ICSU Press
- Crowder, I. v. 1997. *Genetika Tumbuhan*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Ferguson, A. 1980. *Biochemical Systematics and Evolution*. London: Lecture in Zoology The Queens University of Belfast.
- Fradson, D. R, 1993. *Anatomi dan Fisiologi*. Edisi Keempat. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Goodenough, V. 1988. *Genetika*. Alih Bahasa: Soemartono Adisoenoto. Edisi Ketiga. Jilid I. Jakarta: Erlangga.
- Hadie, W., L. E. Hadie, Sutyarso, Sudarti. 1999. *Keanekaragaman Genetik Antara Populasi Ikan Lele (Clarias bahtracus) di Sungai Musi dan Bengawan Solo*. Jurnal Sains dan Tegnologi Vol. II.
- Harris, H. 1994. *Dasar-dasar Genetika Biokemis*. Edisi Ketiga. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Hartl, D. L. 1980. *Principles Of Population Genetics*. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.
- Holme, D. J. and Hazel, D. 1993. *Analytical Biochemistry*. Second Edition. Singapore: Loyman Singapore Publisher Ltd.

- Ismadi, M. (Ed). 1994. *Dasar-Dasar Genetika Biokemis Manusia*. Edisi Ketiga. Edisi Bahasa Indonesia. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Jenkins, J. B. 1990. *Human Genetic*. Second Edition. New Yor: Harper Collins Publisher.
- Kustantin, Y. 2003. polimorfisme protein plasma darah pada *Rana catesbeiana*, *Rana cancrivora*, dan *Rana limnocharis*. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Kusumaning, P. L. 2006. Kajian Polimorfisme Protein Plasma Darah pada Itik Magelang (*Anas Javanica*). *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Kuznetsov, S. B. 1995. *Polymorphism of Blood Plasma Protein in The Anser and Branta Genera*. *Biochem Genet*. April 1995: 33 (3-4) (Online). G: Polim~32htm. Diakses pada 5 Juni 2006.
- Lestari., M. Astuti., D. T. Sulistyowati. 1998. *Pengkajian Polimorfisme Protein Darah Pada Ayam Kampung dan Ayam Ras*. *Buletin Peternakan Vol 23 (3)*: 110-120.
- Li, W. H and D.Graur. 1991. *Fundamental of Molekuler Evolution*. USA: Inc. Publicer Sunderlind.
- Lindartiana, I. 2006. Variasi Genetik Itik Bali (*Anas sp*) Berdasarkan Polimorfisme Protein Plasma Darah. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember
- Masyud, B. 1992. *Penampilan Reproduksi dan Karakteristik Genetik Jalak Bali (Leucopsar rothschildi) Hasil Penangkaran*. Laporan Penelitian. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Mnsu. . 2005. *Genetic Variation*. [Online]. www.mnsu.edu/emuseum/biology/evolution/genetics/sourcesofgenvar.html. Diakses 8 Juni 2006.
- Mu'in, M. A. 1996. "*Hubungan Filogenetik Lima Macam Ayam Lokal Indonesia*". Berkala Penelitian Sarjana. Yogyakarta: Gadjah Mada University.
- Muliawan, M. 1979. *Biokimia (Review of Physiological Biochemistry)*. Edisi Bahasa Indonesia. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Mulyono, R. H., C. Sumantri dan P. H. Hutabarat. 1995. Pencirian Genetis Itik Alabio, Itik Tegal, Itik Mandalung, dan Itik Manila dengan Teknik Elektroforesis. *Jurnal Penelitian*. Bogor: IPB
- Murray, R. K., Darryl K. G., Peter A. M., Victor W. R. 1999. *Biokimia Harper*. Edisi 24. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Pai, A. C. 1992. *Dasar-Dasar Genetika*. Edisi Kedua. Jakarta: Erlangga.
- Physiol, K. S. 2000. *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia*. Jakarta: Hipokrates.
- Prawoto, Sudjoko, Siti M. S. 1997. *Evolusi*. Jakarta: Penerbit Karunika Universitas Terbuka.
- Radiopoetro. 1996. *Zoologi*. Jakarta: Erlangga.
- Rafelson, Jr. M. E., J. A. Hayashi and Bezkorovany. 1980. *Basic Chemistry*. New York: McMillan Publisher.
- Riandi. 1997. *Variabilitas Genetik Ikan Lele (Clarias bathracus L.) Berdasarkan Pengamatan Protein dan Enzim*. Tesis Program Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada. Tidak dipublikasikan.
- Ridley, M. 2006. *Genetic Variation*. [Online]. http://www.blackwellpublishing.com/ridley/a-z/Genetic_variation.asp. Diakses pada 27 Juni 2006.
- Sadikin, M. (Ed). 2000. *Atlas Berwarna dan Teks Biokimia*. Edisi Bahasa Indonesia. Jakarta: Hipokrates.
- Samosir, D. J. 1983. *Ilmu Ternak Itik*. Jakarta: PT. Gramedia
- Sofro, A. S. M. 1992. *Petunjuk Genetika Biologi Darah*. Yogyakarta: PAU. Bioteknologi UGM.
- Sofro, A. S. M. 1994. *Keanekaragaman Genetik*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Srigandono, B. 1991. *Ilmu Unggas Air*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sudarmadji, S. 1996. *Teknik Analisis Biokimia*. Yogyakarta: Liberty.

- Suharno, B dan T. Setiawan. 2001. **Beternak Itik Di Kandang Baterai*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suryani P. S. A. M., P, Sukosa, Sugama. 2001. *Family Relationship of Three Kerapu Sunu Fishes Species (Plectropomus spp) Based On Genetic Variation*. Desember 2001: 5 (Online). Httpp: www. Google. Com/G/hub kekerabatan ikan kerapu. Htm. Diakses pada 27 Juni 2006.
- Suryo. 1986. *Genetika Manusia*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Suryo. 1998. *Genetika*. Yogtakarta: Gajah Mada University Press
- Triana, Y. E. 2006. Kajian Polimorfisme Protein Plasma Darah pada Itik Mojosari (*Anas javanica*). *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Warwick, E. J., J. M. Astuti dan W. Hardjosubroto. 1990. *Pemuliaan Ternak*. Yogyakarta: University Press.
- Wasito dan E. S. Rohaeni. 1994. *Beternak Itik Alabio*. Yogyakarta: Kanisius.
- Weaver, R. F. 2002. *Molecular Biology*. Second Edition. New York: McGrawHill Companies.
- Widyarti, S. 2000. *Isolasi Protein dan Elektroforesis Untuk Fakultas Kedokteran Malang*: Universitas Brawijaya.
- Wikipedia. 2006. *Genetic Variation*. [Online]. http://en.wikipedia.org/wiki/Genetics_variation. Diakses 27 Juni 2006.
- Wuryastuti, H. 1991. *Petunjuk Laboratorium Teknik Pemeriksaan Darah pada Mamalia*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi Universitas Gajah Mada.
- Yatim, W. 1996. *Genetika*. Bandung: Tarsito.

Lampiran A. Gambar Itik Manila (*Cairina moschata*) Varian Putih



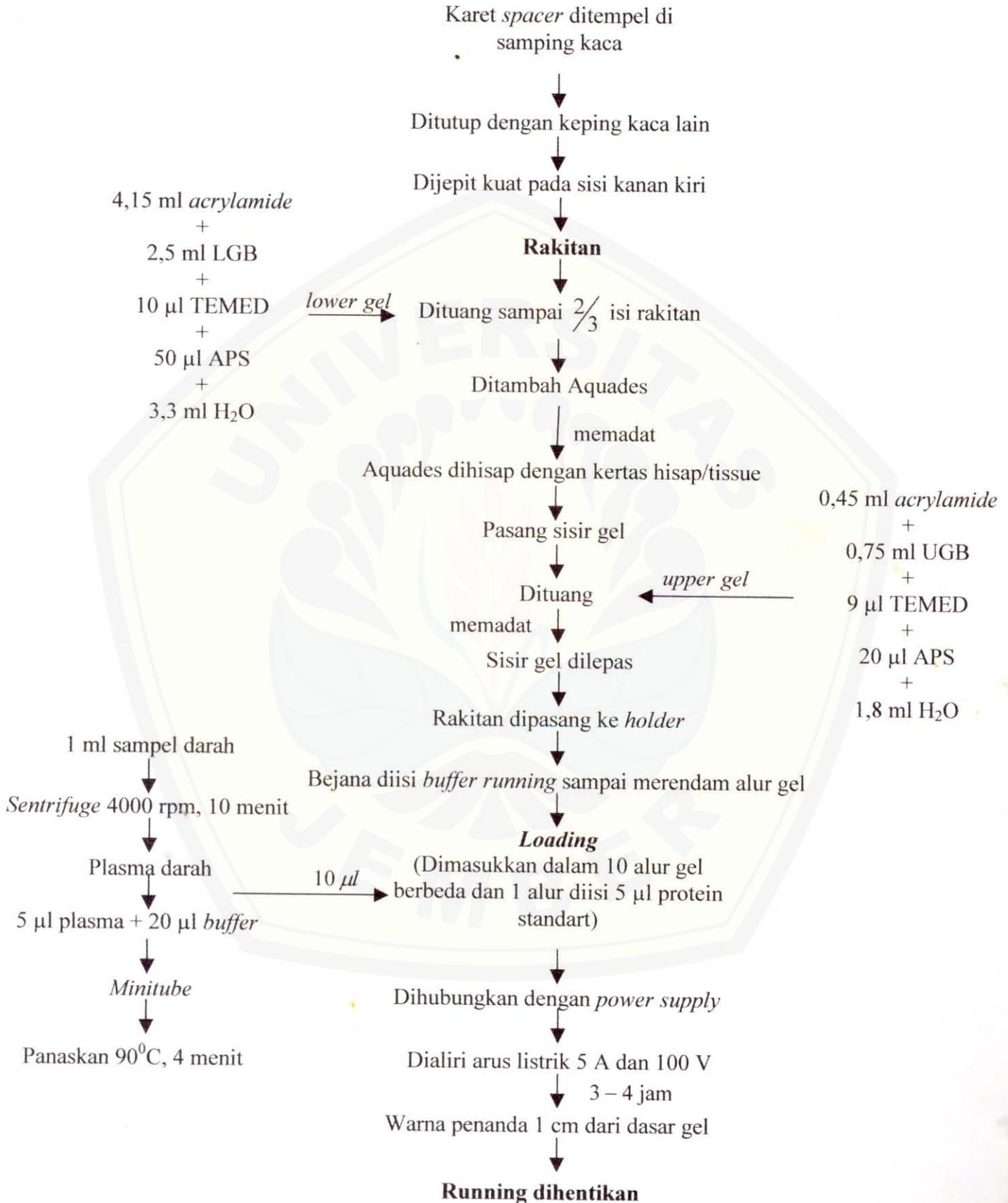
Spesies itik Manila (*Cairina moschata*)

MILIK UPT PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JEMBER



Populasi Itik Manila (*Cairina moschata*)

Lampiran B. Alur Kerja Elektroforesis



Lampiran C. Pembuatan Kurva Standart Berat Molekul

1. Berat molekul protein yang dipakai sebagai berikut:

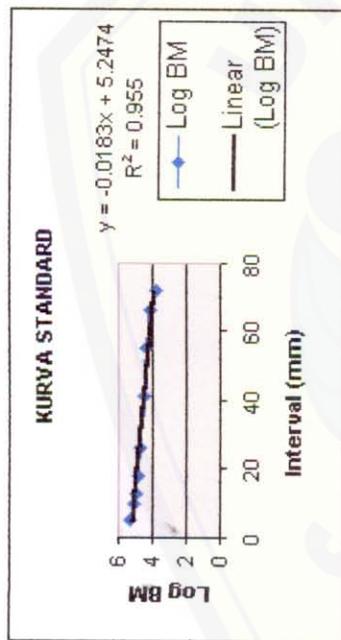
Tabel 1. Berat molekul protein standar

Protein	BM (Da)
Myosin	200000
B-galaktosidase	116250
Phosporilase b	97400
Serum Albumin	66200
Ovalbumin	45000
Carbonic anhydrase	31000
Tripsyn inhibitor	21500
Lysozyme	14400
Aprotinin	6500

Sumber: BIO_RAD

2. Jarak masing-masing pergerakan protein (mm) standar diukur kemudian dimasukkan pada sumbu x dan log dari berat molekul pada sumbu y.
3. Menjadi persamaan garis linier berdasarkan rumus $y = ax + b$.
4. Jarak masing-masing pergerakan protein sampel plasma darah diukur, dicatat kemudian dimasukkan pada rumus linier yang sudah ada.
5. Diperoleh data berat molekul protein.

MARKER



Interval (mm)	Log BM	BM (Da)	Interval (mm)	Log BM	BM (Da)	Interval (mm)	Log BM	BM (Da)
5	5.301	20000	7	5.1193	131613.4	7	5.1193	131613.4
10	5.0654	116250	10	5.0644	115984.5	10	5.0644	115984.5
13	4.9886	97400	12.5	5.01865	104387.9	12.5	5.01865	104387.9
18	4.8206	66200	14	4.9912	97994.12	15	4.9729	93950.7
26	4.6532	45000	18.5	4.9031	80002.79	18.5	4.9031	80002.79
41	4.4914	31000	23.5	4.81735	66502.81	23.5	4.81735	66502.81
55	4.3324	21500	28	4.735	54325.03	28	4.735	54325.03
66	4.1584	14400						
72	3.8129	6500						

S6

Interval (mm)	Log BM	BM (Da)	Interval (mm)	Log BM	BM (Da)
7	5.2474	131613.4	7	5.1193	131613.4
10.5	5.05525	113566.4	11	5.0461	111198.8
13	5.0095	102211.6	13	5.0095	102211.6
15	4.9729	93950.7	15	4.9729	93950.7
18.5	4.9031	80002.79	18.5	4.9031	80002.79
23.5	4.81735	66502.81	23.5	4.81735	66502.81
28	4.735	54325.03	28	4.735	54325.03

S8

Interval (mm)	Log BM	BM (Da)	Interval (mm)	Log BM	BM (Da)
7	5.1193	131613.4	7	5.1193	131613.4
10.5	5.0461	111198.8	10.5	5.05525	113566.4
13	5.0095	102211.6	13	5.0095	102211.6
15	4.9729	93950.7	15	4.9729	93950.7
18.5	4.9031	80002.79	18.5	4.9031	80002.79
23.5	4.81735	66502.81	23.5	4.82284	66502.81
28	4.735	54325.03	28	4.735	54325.03

S10

Interval (mm)	Log BM	BM (Da)	Interval (mm)	Log BM	BM (Da)
7	5.1193	131613.4	7	5.1193	131613.4
10.5	5.05525	113566.4	10	5.0644	115984.5
13	5.0095	102211.6	13	5.0095	102211.6
15	4.9729	93950.7	15	4.9729	93950.7
18.5	4.9031	80002.79	18.5	4.9031	80002.79
23.5	4.82284	66502.81	23.5	4.81735	66502.81
28	4.735	54325.03	27.5	4.74415	55481.73

S12

Interval (mm)	Log BM	BM (Da)	Interval (mm)	Log BM	BM (Da)
7	5.1193	131613.4	7	5.1193	131613.4
10	5.0644	115984.5	10	5.0644	115984.5
13	5.0095	102211.6	13	5.0095	102211.6
15	4.9729	93950.7	15	4.9729	93950.7
18.5	4.9031	80002.79	18.5	4.9031	80002.79
23.5	4.81735	66502.81	23.5	4.81735	66502.81
27.5	4.74415	55481.73	27.5	4.74415	55481.73

S14

Interval (mm)	Log BM	BM (Da)	Interval (mm)	Log BM	BM (Da)
7	5.1193	131613.4	7	5.1193	131613.4
11	5.0461	111198.8	10.5	5.05525	113566.4
13	5.0095	102211.6	13	5.0095	102211.6
15	4.9729	93950.7	15	4.9729	93950.7
18.5	4.9031	80002.79	18.5	4.9031	80002.79
23.5	4.81735	66502.81	23.5	4.82284	66502.81
27.5	4.74415	55481.73	28	4.735	54325.03

S18

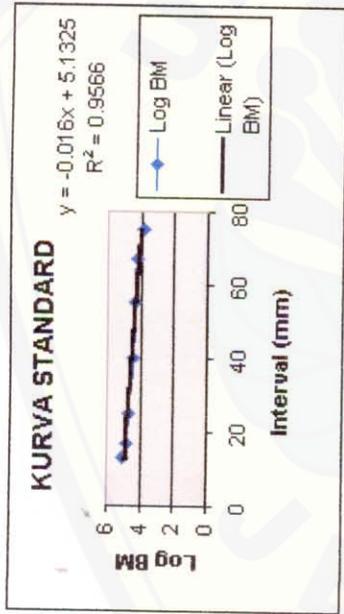
Interval (mm)	Log BM	BM (Da)	Interval (mm)	Log BM	BM (Da)
7	5.1193	131613.4	7	5.1193	131613.4
10.5	5.05525	113566.4	10.5	5.05525	113566.4
13	5.0095	102211.6	13	5.0095	102211.6
15	4.9729	93950.7	15	4.9729	93950.7
18.5	4.9031	80002.79	18.5	4.9031	80002.79
23.5	4.81735	66502.81	23.5	4.82284	66502.81
28	4.735	54325.03	28	4.735	54325.03

S20

Interval (mm)	Log BM	BM (Da)	Interval (mm)	Log BM	BM (Da)
7	5.1193	131613.4	7	5.1193	131613.4
10	5.0644	115984.5	10	5.0644	115984.5
12.5	5.01865	104387.9	12.5	5.01865	104387.9
14	4.9912	97994.12	14	4.9912	97994.12
18.5	4.9031	80002.79	18.5	4.9031	80002.79
23.5	4.81735	66502.81	23.5	4.81735	66502.81
28	4.735	54325.03	28	4.735	54325.03

MARKER

BM(Da)	Log BM
97400	4.9886
66200	4.8206
45000	4.6532
31000	4.4914
21500	4.3324
14400	4.1584
6500	3.8129



S1

Interval(mm)	BM(Da)	Interval(mm)	BM(Da)
11	90469.04	11	90469.04
14	81002.79	14	81002.79
15.5	76647.85	16	76248.87
19	67375.19	19	67375.19
24.5	55017.39	24.5	55017.39

S5

S7

Interval(mm)	BM(Da)
11	90469.04
13	84042.7
16	76248.87
19	67375.19
24.5	55017.39

S9

Interval(mm)	BM(Da)
11	90469.04
13.5	82508.75
16	76248.87
19	67375.19
25	54013.212

S11

Interval(mm)	BM(Da)
11.5	88817.798
14.5	79524.327
16	76248.87
19	67375.19
25	54013.212

S13

Interval(mm)	BM(Da)
11	90469.04
13	84042.7
16	76248.87
19	66145.45
25	54013.21

S17

Interval(mm)	BM(Da)
11	90469.04
13	84042.7
15.5	76647.85
19	67375.19
25	54013.21

S19

Interval(mm)	BM(Da)
11	90469.04
13	84042.7
16	76248.87
19	67375.19
25	54013.21

S22

Interval(mm)	BM(Da)
11	90469.044
13	84042.701
16	76248.87
19	67375.19
25	54013.21

S24

Interval(mm)	BM(Da)
10.5	92150.99
12.5	85605.17
15	78072.84
19	67375.19
24.5	55017.39

Lampiran F. Perhitungan Frekuensi Genotip dan Frekuensi Alel Lokus Transferin, Albumin dan Pre-Albumin pada Itik Manila (*Cairina moschata*)

a. Lokus Transferin

Genotip	Jumlah
Tf-AA	20
Tf-BB	0
Tf-CC	0

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi genotip Tf-AA} &= \frac{20}{20} \times 100\% \\ &= 100\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel A} &= \frac{(20 \times 2) + 0}{2 \times 20} \\ &= 1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Heterozigositas Tingkat Lokus (H}_L) &= 1 - \sum X_i^2 \\ &= 1 - (1) \\ &= 0 \end{aligned}$$

b. Lokus Albumin

Genotip	Jumlah
Alb-AA	3
Alb-BB	0
Alb-CC	0
Alb-AB	12
Alb-BC	0
Alb-AC	5

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi genotip Alb-AA} &= \frac{3}{20} \times 100\% \\ &= 15\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi genotip Alb-AB} &= \frac{12}{20} \times 100\% \\ &= 60\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi genotip Alb-AC} &= \frac{5}{20} \times 100\% \\ &= 25\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel A} &= \frac{(3 \times 2) + 17}{2 \times 20} \\ &= 0.57 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel B} &= \frac{(0 \times 2) + 12}{2 \times 20} \\ &= 0.3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi alel C} &= \frac{(0 \times 2) + 5}{2 \times 20} \\ &= 0.13 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Heterozigositas Tingkat Locus (H}_L) &= 1 - \sum X_i^2 \\ &= 1 - (0.33 + 0.09 + 0.015) \\ &= 1 - 0.44 \\ &= 0.56 \end{aligned}$$

c. Locus Pre-albumin

Genotip	Jumlah
Pa-AA	14
Pa-BB	6
Pa-CC	0

$$\begin{aligned} \text{Frekuensi genotip Pa-AA} &= \frac{14}{20} \times 100\% \\ &= 70\% \end{aligned}$$

$$\text{Frekuensi genotip Pa-BB} = \frac{6}{20} \times 100\%$$

$$= 30\%$$

$$\text{Frekuensi alel A} = \frac{(14 \times 2) + 0}{2 \times 20}$$

$$= 0.7$$

$$\text{Frekuensi alel B} = \frac{(6 \times 2) + 0}{2 \times 20}$$

$$= 0.3$$

$$\begin{aligned} \text{Heterozigositas Tingkat Locus (H}_L) &= 1 - \sum X_i^2 \\ &= 1 - (0.49 + 0.09) \\ &= 1 - 0.58 \\ &= 0.42 \end{aligned}$$

d. Heterozigositas Tingkat Populasi

$$H = \frac{\sum H_e}{R}$$

$$= \frac{0 + 0.56 + 0.42}{3} = 0.33$$



e. Derajat Polimorfisme (P)

$$(P) = \frac{P}{T} \times 100\%$$

$$= \frac{2}{3} \times 100\%$$

$$= 66.6\%$$