

Keragaman Gen BG1 sebagai Kandidat Gen Penciri Ketahanan Penyakit pada Calon Galur Ayam IPB-D2

Polymorphisms of the BG1 Gene as a Candidate for Disease Resistance Characterizing Genes in IPB-D2 Prospective Chicken Lines

N. N. Miraj¹, C. Sumantri^{1*}, S. Murtini², & N. Ulupi¹

¹Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

²Departemen Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

*Corresponding author: ceces@apps.ipb.ac.id

(Received 01-07-2022; Revised 23-08-2022; Accepted 31-08-2022)

ABSTRACT

The BG1 gene is a disease resistance candidate gene in chicken, which is located in the MHC region. The mechanism of the BG1 gene is known as an inhibitor of T lymphocyte cell activation. This study aims to identify the diversity of the SNP gene BG1 in the IPB-D2 chicken line. IPB-D2 chicken is a candidate for a new line from a cross from IPB-D1 chicken, which was selected for high body resistance and good productivity. A total of 27 DNA samples of IPB-D2 (G0) chickens and 58 samples of IPB-D2 (G2) chickens were sequenced to identify the diversity of BG1 genes. The study found 6 point mutations (g.4489 G>T, g.4712 C>T, g.4741 T>C, g.4747 T>C, g.4749 T>C, g.4761 G>A) and deletion of 2 nucleotide bases g.4758 - g.4759 delAT. The combination of 6 SNPs forms 4 haplotypes. The SNPs that changed the amino acid composition were SNP g.4489 G>T cys> phen, g.4712 C>T gln>codon stop, g.4749 T>C val>ala and g.4761 G>A gly> glu. All mutations are classified as polymorphic, low heterozygosity value, and not in Hardy-Weinberg equilibrium.

Keywords: BG1 gene, disease resistance, IPB-D2 chicken line, mutations

ABSTRAK

Gen BG1 merupakan gen kandidat ketahanan penyakit pada ayam yang terletak di wilayah MHC. Mekanisme gen BG1 diketahui sebagai penghambat aktivasi sel limfosit T. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keragaman SNP gen BG1 pada ayam IPB-D2. Ayam IPB-D2 merupakan calon galur baru hasil persilangan dari ayam IPB-D1 yang diseleksi terhadap sifat ketahanan tubuh yang tinggi serta memiliki produktivitas yang baik. Sejumlah 27 sampel DNA ayam IPB-D2 (G0) dan 58 sampel ayam IPB-D2 (G2) di sekuensing untuk mengidentifikasi keragaman gen BG1. Hasil penelitian ditemukan 6 titik mutasi (g.4489 G>T, 4712 C>T, g.4741 T>C, g.4747 T>C, g.4749 T>C, g.4761 G>A) dan delesi 2 basa nukleotida g.4758 - g.4759 delAT. Kombinasi 6 SNP membentuk 4 haplotipe. SNP yang mengubah komposisi asam amino terdapat pada SNP g.4489 G>T cys>phen, g.4712 C>T gln>codon stop, g.4749 T>C val>ala dan g.4761 G>A gly>glu. Semua mutasi diklasifikasikan polimorfik, nilai heterozigositas rendah dan tidak berada dalam kesetimbangan Hardy-Weinberg.

Kata kunci: ayam IPB-D2, gen BG1, keragaman, ketahanan penyakit, mutasi

PENDAHULUAN

Ayam IPB-D1 merupakan ayam lokal komposit yang dibentuk melalui persilangan ayam ras (broiler) *parent stock* strain Cobb dan 3 ayam lokal (ayam pelung, ayam kampung, ayam sentul), dengan persentase genetik sebesar 25% pada masing-masing ayam. Ayam IPB-D1 merupakan hasil dari budidaya teknologi pemuliaan yang memiliki ciri khas pertumbuhan cepat, mampu beradaptasi dengan kondisi iklim ekstrim serta pencampuran pakan lokal hingga 70% (Al-Habib *et al.* 2020). Konversi pakan yang rendah, mampu menghasilkan ayam IPB-D1 siap dipotong pada usia 12 minggu dengan bobot rata-rata mencapai 1.1 kg (Lukmanudin *et al.* 2018).

Calongalurayam IPB-D2 merupakan hasil persilangan dari ayam IPB-D1 yang memiliki *immunocompetence*, terkait resistensi tubuh terhadap penyakit. Ayam IPB-D2 diseleksi berdasarkan beberapa parameter daya tahan tubuh seperti titer ND $\geq 3 \log 2$ HI unit dikategorikan sebagai titer antibodi protektif dan IgY total yang tinggi yaitu $\geq 9.55 \text{ mgmL}^{-1}$ (Lestari *et al.* 2021). Ayam IPB-D1 telah dibuktikan memiliki daya tahan terhadap penyakit, khususnya penyakit New Castle Disease (ND) pada sistem pemeliharaan semi umbaran (Cyrilla dan Sumantri 2022). Konsentrasi IgY $\geq 10 \text{ mgmL}^{-1}$ pada ayam, menjadi penanda bahwa ayam memiliki toleransi tubuh yang baik dalam melawan paparan penyakit (Setyawati *et al.* 2019).

Titik kritis pemeliharaan ayam terletak pada kerentanan ayam terhadap penyakit. Upaya pengembangan calon galur ayam IPB-D2, dilakukan untuk meningkatkan performa ayam lokal Indonesia yang tahan penyakit, mampu beradaptasi dengan pemeliharaan masyarakat serta pertumbuhan cepat. Meningkatkan imunitas tubuh melalui pemberian vaksin pada ayam, hanya bersifat sementara dan tidak dapat diwariskan, sehingga perlu adanya perbaikan genetik. Melalui pendekatan molekuler dengan merekognisi gen-gen pengontrol kekebalan penyakit pada ayam, ditemukan salah satu kandidat gen penciri ketahanan penyakit pada ayam yaitu gen BG1.

Gen BG Like Antigen-1 merupakan gen yang berada di kromosom 16, tepatnya di wilayah MHC-B, berdekatan dengan wilayah BF-BL (Miller and Taylor 2016). MHC-B merupakan molekul protein permukaan sel yang berperan dalam pengenalan antigen dan menghubungkan respon imun spesifik dengan non-spesifik (Silva dan Gallardo 2020). Sekuen gen BG1 didapatkan dari National Center of Biotechnology Information (NCBI) dengan nomor akses Gen Bank (NC_006103.5), dengan struktur gen berukuran 5195 pb yang terdiri dari wilayah promotor, 20 ekson dan 19 intron.

Chattaway *et al.* (2016) menemukan 9 mutasi sinonim di daerah pengkodean, 6 SNP di 5'UTR dan 7 SNP di 3'UTR. Gen BG1 merupakan gen polimorfik yang menghasilkan suatu reseptor yang disebut *immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif* (ITIM). Reseptor ITIM pada gen BG1 berfungsi menghambat aktivasi reseptor sel T (Barrow *et al.* 2006). Sekuen gen BG1 ditemukan di beberapa jaringan timus, duodenum dan ginjal berdasarkan hasil RT-PCR (Salomonsen *et al.* 2014).

Seleksi dengan pendekatan molekuler, dapat mengidentifikasi sifat spesifik yang diinginkan. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keragaman gen BG1 sebagai kandidat gen penciri ketahanan penyakit pada ayam IPB-D2 melalui teknologi DNA sekuensing. Data dan informasi yang diperoleh, diharapkan dapat menjadi informasi ilmiah dalam seleksi sifat ketahanan penyakit pada ayam.

MATERI DAN METODE

Koleksi Sampel dan Desain Primer

Sampel darah ayam IPB-D2 generasi dasar (G0) yang digunakan sejumlah 47 sampel dan 96 sampel ayam IPB-D2 generasi ke-2 (G2) diperoleh dari ayam umur 21 minggu. Sampel darah diambil di bagian sayap pada vena brachialis. Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang telah diisi serbuk ethylenediaminetetraacetic (EDTA) untuk selanjutnya di ekstraksi DNA. Prosedur percobaan ini telah disetujui oleh Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) di IPB University (approval ID: 224-2021).

Primer *forward* yang digunakan adalah *BG1 EA-641* (F): 5'-TGACCAAATCTGACACCATCCA-3' dan primer *reverse* *BG1 EA-642* (R) : 5'-ACCTCTGCTTCTGTGTGCAT-3'. Sekuen target amplifikasi gen BG1 terletak di exon 19 (4459 bp) dan exon 20 (5104 bp). Data sekuen didapatkan dari Ensemble (dengan nomor akses: ENSAGALG00000026396) dan National Center of Biotechnology Information (NCBI) dengan nomor akses Gen Bank (NC_006103.5). Pemilihan primer gen BG1 dirancang menggunakan Primer3, *Multiple Primer Analyzer* dan *Primer Stats* untuk mendapatkan primer yang optimal.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan kit Genomic Mini Kit for Blood/Culture Cell (Geneaid, Taipei, Taiwan) sesuai dengan instruksi. Sebanyak 300 μL darah segar dimasukkan ke dalam tabung 1.5 mL, ditambahkan RBC lysis 3 kali volume sampel darah segar dan di homogenkan. Sampel diinkubasi 10 menit pada suhu kamar, kemudian di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit pada suhu 25 °C, lalu supernatant dibuang. Selanjutnya ditambahkan 100 μL RBC lysis buffer dan 200 μL GB buffer kedalam sampel lalu semua bahan di campur menggunakan vortex selama ± 10 detik. Sampel diinkubasi pada suhu 60 °C selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 5 μL RNA-se A (10 mg/ μL) kedalam sampel dan di vortex selama 10 detik.

Sampel diinkubasi pada suhu kamar selama 5 menit. 200 μL etanol absolut ditambahkan kedalam sampel lalu dicampur menggunakan vortex ± 10 detik. Kode sampel ditulis pada GD Coulum lalu masukkan ke dalam tabung koleksi 2 mL. Sampel di pindahkan ke GD coulum dan di sentrifugasi dengan kecepatan 14000-16000 rpm selama 5 menit pada suhu 25 °C. Cairan pada tabung koleksi dibuang dan ditambahkan 400 μL W1 Buffer ke GD Coulum dan di sentifugasi dengan kecepatan 14000-16000 rpm dengan suhu 25 °C selama 30-60 detik. Cairan pada tabung koleksi dibuang kembali kemudian ditambahkan 600 μL Wash Buffer ke GD Coulum dan di sentifugasi 14.000-16.000 rpm pada suhu 25 °C selama

30-60 detik. Cairan pada tabung koleksi dibuang dan di sentrifugasi dengan kecepatan 14.000-16000 rpm pada suhu 25 °C selama 3 menit. GD Coulum dipindahkan ke tabung 1.5 mL dan ditambahkan 100 µL pre heated elution Buffer. Selama 3 menit sampel didiamkan pada suhu kamar lalu di sentrifugasi dengan kecepatan 14000-16000 rpm pada suhu 25 °C selama 30 detik.

Amplifikasi Polymerase Chain Reaction (PCR)

Amplifikasi DNA dilakukan pada total volume 25 µL yang terdiri dari 0.3 µL DNA, 0.15 µL primer *forward*, 0.15 µL primer *reverse*, 12.5 µL PROMEGA Green Master Mix dan 11.9 *nuclease free water* (NFW). Amplifikasi fragmen gen BG1 dilakukan dengan menggunakan mesin PCR *thermocycler* (ESCOSystem). Reaksi pelipat gandaan fragmen DNA dimulai dengan kondisi *pre-denaturasi* 95 °C selama 5 menit sebanyak 1 siklus, *denaturasi* 95 °C selama 10 detik, *annealing* pada suhu 60 °C selama 20 detik dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 30 detik dilakukan sebanyak 35 siklus. Kemudian dilanjutkan dengan ekstensi akhir pada suhu 72 °C selama 5 menit sebanyak 1 siklus. Produk PCR hasil amplifikasi, selanjutnya dilakukan proses elektroforesis menggunakan media gel agarose 1.5% dengan tegangan 100 V selama ± 30 menit. Hasil elektroforesis kemudian divisualisasikan dengan mesin UV Transiluminator untuk membandingkan posisi pita produk PCR dengan posisi pita DNA ladder.

Sekuensing DNA

Metode sekuensing yang digunakan adalah sanger *sequencing*. Sebanyak 25 µL produk PCR sampel ayam IPB-D2 disekuensing menggunakan primer *forward* dan *reverse*. Sekuensing dilakukan oleh Macrogen di Korea Selatan.

Analisis Data

Hasil sekuensing DNA berupa gambar-gambar chromatogram dianalisis menggunakan program Finch TV. Identifikasi keragaman dianalisis menggunakan program DNAsp, Popgen32, BioEdit dan *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA10). Genotipe yang didapatkan melalui metode sekuensing digunakan untuk analisis data frekuensi genotipe dan frekuensi alel (Nei dan Kumar 2000). Nilai heterozigositas dihitung menggunakan frekuensi pengamatan (H_o) dan heterozigositas harapan (H_e) (Weir 1996). Nilai keseimbangan Hardy-Weinberg

dianalisis menggunakan uji chi-square (χ^2) berdasarkan perhitungan Hartl dan Clark (1997).

HASIL DAN PEMBAHASAN

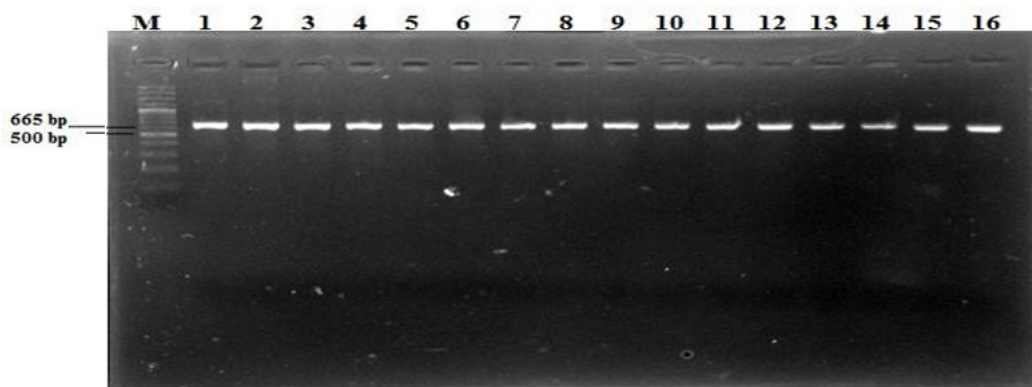
Analisis Keragaman Gen BG1 pada Exon 19 dan Exon 20

Hasil amplifikasi gen BG1 menghasilkan produk PCR sepanjang 665 bp (Gambar 1) menggunakan temperatur *annealing* 60 °C. Produk PCR tersebut kemudian di analisis dengan metode sekuensing untuk mengetahui urutan basa nukleotida pada suatu molekul DNA agar dapat dibandingkan dengan sekuen yang sudah diketahui.

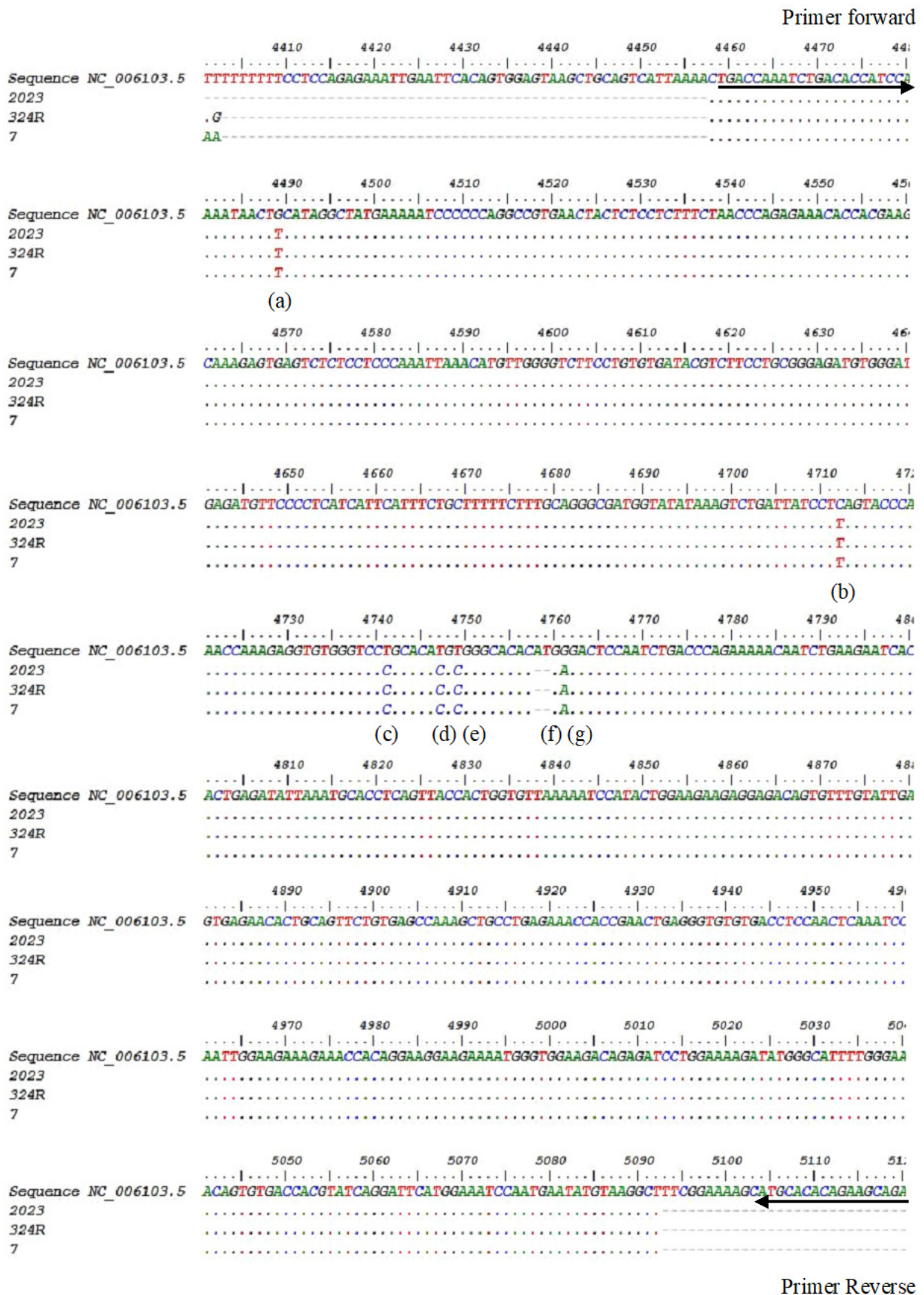
Sebanyak 85 sampel berhasil di sekuensing dari 143 sampel ayam IPB-D2. Hasil sekuensing yang diperoleh berupa susunan basa DNA yang ditunjukkan dengan warna berbeda pada setiap nukleotida. Hasil penjejajaran urutan nukleotida sampel dibandingkan terhadap urutan nukleotida acuan dari NCBI (NC_006103.5) menggunakan program ClustalW. Nukleotida yang berbeda ditandai sebagai keberadaan mutasi atau SNP (Gambar 2).

Keberadaan mutasi gen BG1 hanya ditemukan di wilayah pengkodean yaitu di ekson 19 dan ekson 20 sebanyak 6 mutasi titik dan delesi 2 basa. Mutasi titik atau SNP merupakan variasi genetik berupa perubahan nukleotida tunggal, penyisipan atau penghapusan dalam susunan basa DNA (Mathur *et al.* 2018). SNP g.4712 C>T, g.4741 T>C, g.4747 T>C, g.4749 T>C dan g.4761 G>A merupakan mutasi transisi, yaitu jenis mutasi yang memiliki empat pola T→C, C→T, A→G dan G→A, Mutasi tranversi terdapat pada SNP g.4489 G>T yaitu terjadi substitusi basa purin digantikan basa pirimidin atau basa pirimidin digantikan oleh basa purin (Allendorf *et al.* 2007).

Keberadaan mutasi tranversi umumnya memberikan efek terhadap perubahan struktur dan fungsi gen (Stoltzfus dan Norris 2016). Hal ini disebabkan oleh mutasi tranversi dapat mengubah ikatan hidrogen serta memiliki struktur basa berbeda. Struktur basa pirimidin adalah cincin tunggal sedangkan basa purin memiliki struktur bisiklik sehingga proses mutasi tranversi cenderung lebih rumit (Luo *et al.* 2016).



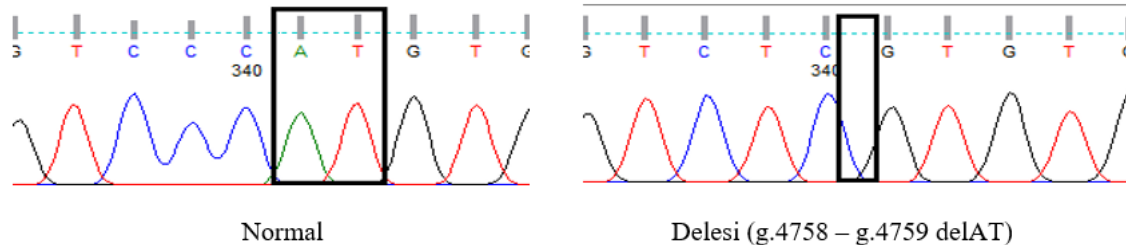
Gambar 1. Hasil amplifikasi gen BG1 pada ayam IPB-D2



Gambar 2. Pensejajaran sekuen gen BG1 pada ekson 19, intron 19 dan ekson 20

Delesi 2 Basa (g.4758 – g.4759 DelAT)

Delesi merupakan bagian dari mutasi genetik yang diakibatkan adanya pengurangan basa nitrogen pada suatu sekuen. *Alignment* urutan nukleotida gen BG1 pada ayam IPB-D2, ditemukan delesi 2 basa (g.4758 - g.4759 delAT) pada ekson 20. Genotipe normal TCC-CAT-GTG mengalami kehilangan basa nitrogen AT di tengah rantai (Gambar 3).



Gambar 3. Visualisasi indel basa g.4758 – g.4759 delAT

Penghapusan nukleotida selama replikasi DNA mengarah pada gangguan gen dan disebut mutasi *frameshift*. Mutasi *frameshift* menyebabkan pergeseran kerangka baca dari gen. Kehilangan nukleotida mengakibatkan semua kodon dan semua asam amino setelah mutasi *frameshift* menjadi berubah (Najafi dan Pezeshki 2013).

Perubahan pola baca asam amino ke rantai protein ditentukan oleh tiga kodon basa. Apabila hanya satu atau dua nukleotida yang hilang, berpotensi membentuk urutan polipeptida yang inaktif. Insersi 225 pb pada alel gen BG1 diidentifikasi dapat berasosiasi dengan resistensi penyakit *Marek Disease* (MD) yang disebabkan oleh virus herpes-2 gallid (GaHV-2) dan tumor yang diinduksi virus sarkoma Rous (RSV) (Goto *et al.* (2009).

Deteksi Perubahan Asam Amino

Seluruh mutasi berada di wilayah pengkodean CDS yaitu pada ekson 19 dan ekson 20. CDS (coding DNA sequences) merupakan wilayah yang dapat diterjemahkan menjadi asam amino untuk pembentukan protein. Berikut disajikan Gambar 4 dan Tabel 1 yang menunjukkan bahwa dari 6 titik mutasi hanya ada 4 SNP yang mengalami perubahan asam amino.

Perubahan asam amino pada SNP g.4489 G>T (sisteina>fenilalanina), g.4749 T>C (valina>alanina) dan g.4761 G>A (glisina>glutamat) merupakan mutasi *nonsynonymous*, yaitu adanya perubahan urutan basa yang menyebabkan perubahan asam amino (Hamilton 2009) serta umumnya berpengaruh terhadap perubahan fungsi, bentuk dan regulasi protein (Zhang *et al.* 2012).

Perubahan basa yang tidak menyebabkan perubahan asam amino terjadi pada SNP g.4741 T>C dan g.4747 T>C disebut mutasi diam atau *silent*. Mutasi pada basa g.4712 C>T menyebabkan perubahan asam amino glutamina menjadi stop kodon. Mutasi yang terjadi pada SNP g.4712 C>T disebut mutasi tanpa arti (*nonsense mutation*). Stop kodon yang berada di tengah sekuen disebut stop kodon prematur. Stop kodon menjadi tanda berakhirnya rantai polipeptida secara otomatis selama translasi (Riyanti *et al.* 2018).

Stop kodon prematur terjadi diseluruh sampel yang mengalami delesi. Keberadaan stop kodon prematur dimungkinkan oleh adanya delesi yang menyebabkan pergeseran kerangka kodon. Pembentukan protein semestinya terputus ketika sudah terbentuk stop kodon, namun pada penelitian ini masih terdeteksi adanya mutasi. sehingga disimpulkan bahwa asam amino yang terdapat setelah stop kodon menghasilkan polipeptida yang tidak berfungsi (Warmadewi 2017).

Frekuensi alel dan Genotipe, Uji Chi-Square dan Nilai Heterozigositas

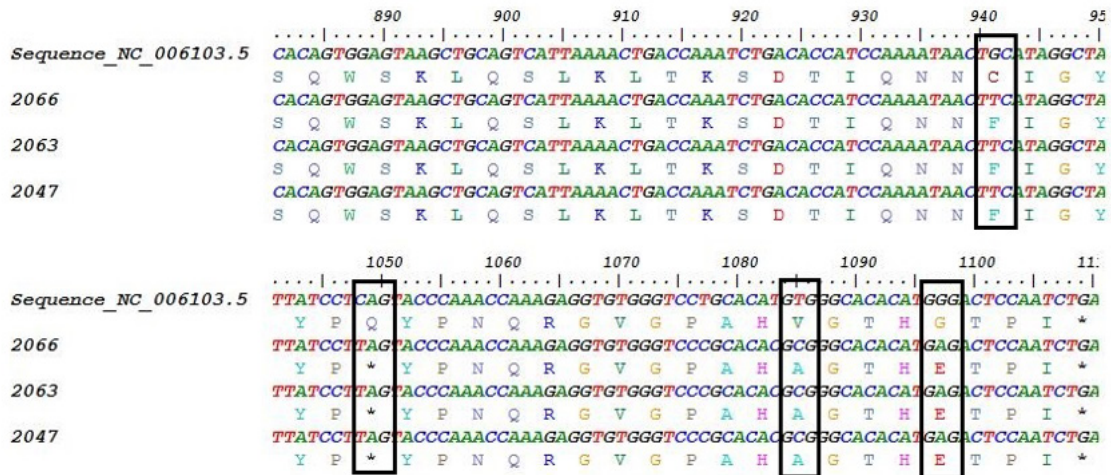
Polimorfisme atau keragaman genetik merupakan penyimpangan sifat individu yang disebabkan oleh perkawinan yang tidak terkontrol (Muliadi dan Arifin 2010). Polimorfisme dalam urutan DNA dapat mengubah struktur protein serta memengaruhi fenotip individu seperti warna mata atau kulit, respon terhadap obat, vaksin dan patogen serta ketahanan terhadap penyakit (Sukhumsirichart 2018).

Keragaman genetik dalam populasi digambarkan dengan frekuensi genotipe dan frekuensi alel sebagai persentase lokus polimorfik pada populasi. SNP g.4741 T>C dan g.4761 G>A pada alel T dan G memiliki nilai frekuensi alel tertinggi sebesar 59%. Perhitungan frekuensi alel dan genotipe bertujuan mengetahui apakah perubahan basa nukleotida dikategorikan polimorfik atau monomorfik. Seluruh SNP dikategorikan polimorfik karena memiliki lebih dari satu alel dengan nilai frekuensi minimal 0.01 (1%) (Rell *et al.* 2013).

SNP g.4489 G>T memiliki 2 genotipe yaitu GG dan TT. SNP g.4712 C>T, g.4741 T>C, g.4747 T>C dan g.4749 T>C memiliki alel yang sama yaitu C dan T namun genotipe berbeda. Genotipe GG,GA dan AA terdapat pada SNP g.4761 G>A (Tabel 2). Fragmen gen BG1 pada ekson 19 dan 20 ditemukan frekuensi genotipe paling tinggi yaitu GG pada SNP g.4489 G>T dan g.4761 G>A, genotipe CC pada SNP g.4712 C>T dan genotipe TT pada SNP g.4741 T>C dengan masing-masing proporsi nilai sebesar 0.58.

Berdasarkan analisis yang dilakukan, ditemukan bahwa nilai heterozigositas pengamatan (H_o) lebih rendah dibandingkan nilai heterozigositas harapan (H_e), yang menunjukkan pada populasi calon galur ayam IPB-D2 telah dilakukan seleksi dan perkawinan sekerabat atau inbreeding (Zhao *et al.* 2019). Populasi dengan tingkat heterozigositas rendah sangat sensitif terhadap perubahan alam dan potensi untuk evolusi rendah (Frankham *et al.* 2004).

Hukum Hardy-Weinberg menyatakan bahwa frekuensi alel dan frekuensi genotipe suatu populasi akan tetap konstan dari satu generasi ke generasi berikutnya,



Gambar 4. Urutan perubahan asam amino gen BG1

Tabel 1. Perubahan asam amino pada ekson 19 dan 20 gen BG1

Mutasi titik (SNP)	Perubahan Asam Amino
g.4489 G>T	Sisteina (TGC) > Fenilalanina (TTC)
g.4712 C>T	Glutamina (CAG) > Stop Kodon (TAG)
g.4749 T>C	Valina (GTG) > Alanina (GCG)
g.4761 G>A	Glisina (GGG) > Glutamic (GAG)

(>) terjadi perubahan asam amino

kecuali terdapat faktor tertentu yang dapat mengganggu kesetimbangan tersebut (Pangabeian 2016). Melalui perhitungan Uji chi-square (χ^2) dapat diketahui nilai kesetimbangan Hardy-Weinberg. Tabel 1 menunjukkan bahwa tidak terdapat kesetimbangan Hardy-Weinberg di seluruh lokus karena nilai χ^2 hitung $\leq \chi^2$ tabel (Pillai dan Patel 2019). Frekuensi genotipe yang tidak setimbang menunjukkan bahwa populasi tersebut sudah mengalami evolusi dalam bentuk migrasi, mutasi, perkawinan terpilih dan seleksi (Hadini *et al.* 2015).

Keragaman Haplotipe

Haplotipe merupakan kombinasi alel mayor dan minor pada SNP yang berbeda di wilayah yang sama dan diwariskan sebagai satu kesatuan (Sukhumsirichart 2018). Umumnya, SNP memiliki sedikit pengaruh pada fenotipe, sementara haplotipe merupakan komposit dari SNP heterozigot yang terletak pada kromosom tunggal, sehingga mampu memberikan informasi yang lebih banyak (Zhang *et al.* 2022). Hasil analisis DNASp terhadap 85 individu ayam IPB-D2 ditemukan 4 haplotipe yang berasal dari 6 situs polimorfik (Tabel 3).

Frekuensi haplotipe gen BG1 tertinggi dari populasi ayam IPB-D2 terdapat pada H1 (56.4%). Komposit haplotipe 1 (GCTTTG) merupakan haplotipe yang sesuai dengan urutan basa kontrol dari NCBI (NC_006103.5) atau tidak terdapat mutasi. H1 mewakili lebih dari setengah wilayah, yaitu 48 sampel dari 85 sampel yang dianalisis. Haplotipe 2 merupakan kombinasi mutasi pada seluruh lokus dengan frekuensi lebih rendah sebesar 41.2%. Haplotipe 3 hanya mengandung perubahan SNP g.4749

Tabel 2. Frekuensi genotipe, frekuensi alel, heterozigositas dan chi square test (χ^2)

SNP	N	Frekuensi Genotipe			Frekuensi Alel		Ho	He	χ^2
g.4489 G>T	85	GG	GT	TT	G	T	0	0.49	86.06
		0.58	-	0.42	0.58	0.42			
g.4712 C>T	85	CC	CT	TT	C	T	0	0.49	86.06
		0.58	-	0.42	0.58	0.42			
g.4741 T>C	85	TT	TC	CC	T	C	0.02	0.49	77.97
		0.58	0.02	0.4	0.59	0.41			
g.4747 T>C	85	TT	TC	CC	T	C	0.06	0.5	66.93
		0.52	0.06	0.42	0.55	0.45			
g.4749 T>C	85	TT	TC	CC	T	C	0	0.49	86.05
		0.56	-	0.44	0.56	0.44			
g.4761 G>A	85	GG	GA	AA	G	A	0.04	0.49	74.02
		0.58	0.03	0.39	0.59	0.41			
g.4758 - g.4759	85	(+/+)	(+/-)	(-/-)	+	-	0	0.49	86.06
delAT		0.58	-	0.42	0.58	0.42			

χ^2 (0.05;1) = 3.84, N = jumlah sampel

Tabel 3. Keragaman haplotipe gen BG1 pada calon galur ayam IPB-D2

Posisi Mutasi	Haplotipe			
	1	2	3	4
g.4489 G>T	G	T	G	T
g.4712 C>T	C	T	C	T
g.4741 T>C	T	C	T	C
g.4747 T>C	T	C	T	C
g.4749 T>C	T	C	C	C
g.4761 G>A	G	A	G	G
Frekuensi	56.40%	41.20%	1.20%	1.20%

T>C, distribusinya terbatas di lokasi tertentu. Komposisi TTCCCG merupakan keragaman haplotipe terkecil yaitu 1.2% dan hanya terdistribusi pada satu sampel.

KESIMPULAN

Hasil penelitian pada gen BG1, menemukan 6 titik mutasi dan delesi 2 basa g.4758-g.4759 delAT di ekson 19 dan 20. Mutasi yang menyebabkan perubahan asam amino terjadi pada SNP g.4489 G>T, g.4749 T>C dan g.4761 G>A. Mutasi diam atau *silent* mengakibatkan perubahan asam amino glutamina menjadi stop kodon pada SNP g.4712 C>T. Kombinasi 6 SNP membentuk 4 haplotipe. Seluruh mutasi yang ditemukan polimorfik dan tidak berada dalam kesetimbangan *Hardy-Weinberg*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada PRN (National Research Priority, Nomor kontrak: 272 001/E4.1/AK.04.PRN/2021) dari Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Habib, M. F., C. Sumantri, S. Murtini, A. Gunawan, T. Sartika, & N. Ulupi. 2020. Characteristics of immunocompetence in Indonesian chickens. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 492:012097. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/492/1/012097>.

Allendorf, F. W., Luikart, G., & Aitken, S. N. 2007. Conservation and the genetics of populations. *Mammalia*. 189-197. <https://doi.org/10.1515/MAMM.2007.038>

Barrow, A. D. & J. Trowsdale. 2006. You say ITAM and I say ITIM, let's call the whole thing off: the ambiguity of immunoreceptor signalling. *European J. of Immuno.* 36:1646-1653. <https://doi.org/10.1002/eji.200636195>.

Chattaway, J., R. A. Ramirez-Valdez, P. E. Chappell, J. J. Caesar, S. M. Lea, & J. Kaufman. 2016. Different modes of variation for each BG lineage suggest different functions. *Open Biology*. 6: 160188. <https://doi.org/10.1098/rsob.160188>.

Cyrilla, L. & C. Sumantri. 2022. Persepsi Peternak tentang Ayam IPB D-1 sebagai Ayam Lokal Unggul (Kasus Sinar Harapan Farm Jampang Tengah Sukabumi). *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 10(2): 51-56. <https://doi.org/10.29244/jipthp.10.2.51-56>.

Frankham, R., J. D. Ballou, & D. A. Briscoe. 2004. A primer of conservation genetic. Cambridge: Cambridge University Press.

Goto, R. M., Y. Wang, R. L. Taylor, P. S. Wakenell, K. Hosomichi, T. Shiina, C. S. Blackmore, W. E. Briles, & M. M. Miller. 2009. BG1 has a major role in MHC-linked resistance to malignant lymphoma in the chicken. *Prosiding 14 National Academy of Sciences*. 106:16740-16745. <https://dx.doi.org/10.1073%2Fpnas.0906776106>.

Hadini, H. 2015. Struktur genetika populasi jagung dalam keseimbangan hardy weinberg dan silang kerabatnya. *Agro. UPPY*. 6:45-54.

Hamilton, M. B. 2009. *Population Genetics*. Oxford: Wiley Blackwell.

Hartl, D. L. & A. G. Clark. 1997. *Principle of Population Genetics*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.

Lestari, D., N. Ulupi, S. Murtini, & C. Sumantri. 2021. Polymorphism of DMA (DM a Chain) gene in IPB-D2 chicken. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 788(1):012018. IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/788/1/012018>.

Lukmanudin, M., C. Sumantri, & S. Darwati. 2018. Ukuran tubuh ayam lokal silangan IPB D-1 generasi kelima umur 2 sampai 12 minggu. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 6(3):113-120.

Luo, G. H., X. H. Li, Z. J. Han, Z. C. Zhang, Q. Yang, H. F. Guo, & J. C. Fang. 2016. Transition and transversion mutations are biased towards GC in transposons of chilo suppressalis (Lepidoptera: Pyralidae). *Genes*. 7(10): 72. <https://doi.org/10.3390/genes7100072>.

Mathur, R., B. S. Rana, & A. K. Jha. 2018. Single Nucleotide Polymorphism. Springer International Publishing AG. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47829-6_2049-1.

Miller, M. M. & R. L. Taylor. 2016. Brief review of the chicken major histocompatibility complex: the genes their distribution on chromosome 16, and their contributions to disease resistance. *Poult. Sci.* 95:375-392. <https://doi.org/10.3382/ps/pev379>.

Mulliadi, D. & J. Arifin. 2010. Pendugaan keseimbangan populasi dan heterozigositas menggunakan pola protein albumin darah pada populasi domba ekor tipis. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*. 10 (2) : 65-72. <https://doi.org/10.24198/jit.v10i2.419>.

Najafi, M. B. H. & P. Pezeshki. 2013. Bacterial mutation; types, mechanisms and mutant detection methods: a review. *European Scientific Journal*.

Nei, M. & S. Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York (NY): Oxford University Press.

- Panggabean, T. N.** 2016. Analisis tingkat optimasi algoritma genetika dalam hukum ketetapan hardy-weinberg pada bin packing problem. *J of Computer Engineering, System and Science*.1(2): 12-18. <https://doi.org/0.24114/cess.v1i2.4062>.
- Pillai, J. P. & D. Patel.** 2019. Novel application of the Hardy-Weinberg equilibrium in the analysis of cusp patterning phenotype in Gurajati population. *Forensic Sci. Int.Reports*. 1:1-6. <https://doi.org/10.1016/j.fsir.2019.100046>
- Putri, A., & S. Wathon.** 2018. Aplikasi single nucleotide polymorphism (SNP) dalam studi farmakogenomik untuk pengembangan obat. *Biotrends*. 9(2): 69-74.
- Rell, F., S. K. Widyastuti & I. N. Wandia.** 2013. Polimorfisme lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Sangeh. *Vet. Sci. and Med. J*. 1:16-21.
- Riyanti, B., M. Kiftiah, & F. Fran.** 2018. Graf Pembagi Nol Dan Graf Total Pada Kode Genetik. *Bimaster: Buletin Ilmiah Matematika, Statistika dan Terapannya*. 7(4):369-378. <http://dx.doi.org/10.26418/bbimst.v7i4.28652>.
- Salomonsen, J., J. A. Chattaway, A. C. Chan, A. Parker, S. Huguet, D. A. Marston, & C. Butter.** 2014. Sequence of a complete chicken BG haplotype shows dynamic expansion and contraction of two gene lineages with particular expression patterns. *PloS Genetics*. 10:1-21. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004417>
- Warmadewi, D. A.** 2017. Mutasi Genetik. Universitas Udayana Pr, Denpasar.
- Setyawati, M. P., N. Ulupi, S. Murtini, & C. Sumantri.** 2019. Pengaruh konsentrasi IgY induk yang berbeda terhadap gambaran darah anak ayam sentul. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*. 6(2):273-277.
- Silva, A. P. D., & R. A. Gallardo.** 2020. The chicken MHC: insights into genetic resistance, immunity, and inflammation following infectious bronchitis virus infections. *Vaccines*. 8:637. <https://doi.org/10.3390/vaccines8040637>.
- Stoltzfus, A. & R. W. Norris.** 2016. On the causes of evolutionary transition: transversion bias. *Mol. Biol. Evol.* 33:595-602. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv274>.
- Sukhumsirichart, W.** 2018. Polymorphisms. IntechOpen, Bangkok.
- Weir, B. S.** 1996. *Genetic Data Analysis: Method for Discrete Population Genetic Data*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Zhang, Z., M. A. Miteva, L. Wang, & E. Alexov.** 2012. Analyzing effects of naturally occurring missense mutations. *Computational and Mathematical Methods in Medicin*. 2012: 1-15. <https://doi.org/10.1155/2012/805827>.
- Zhang, Z., C. Liu, W. Hao, W. Yin, S. Ai, Y. Zhao, & Z. Duan.** 2022. Novel Single Nucleotide Polymorphisms and Haplotype of MYF5 Gene Are Associated with Body Measurements and Ultrasound Traits in Grassland Short-Tailed Sheep. *Genes*. 13(3): 483. <https://doi.org/10.3390/genes13030483>.
- Zhao, Q. B., H. Sun, Z. Zhang, Z. Xu, B. S. Olasege, P. Ma, Z. Zhang, Q. Wang, & Y. C. Pan.** 2019. Exploring the structure of haplotype blocks and genetic diversity in Chinese indigenous pig populations for conservation purpose. *Evolutionary Bioinformatics*. 15:1-8. <https://doi.org/10.1177%2F1176934318825082>