

## Analisis Keterkaitan GEN *BMP15*, *BMPR1B*, dan *KISS1* dengan Sifat Fekunditas pada Kambing Peranakan Etawah Betina

### (Association of *BMP15*, *BMPR1B*, and *KISS1* Genes with Fecundity Traits on Etawah-Grade does)

Rini Herlina Mulyono<sup>1</sup>, Cece Sumantri<sup>2</sup>, Ronny Rachman Noor<sup>2</sup>, Jakaria<sup>2</sup>, Dewi Apri Astuti<sup>3</sup>

(Diterima Februari 2018/Disetujui Februari 2019)

#### ABSTRAK

Kambing Peranakan Etawah (PE) merupakan hasil *grading-up* antara kambing Kacang dan kambing Etawah yang telah beradaptasi baik dengan lingkungan tropis lembap Indonesia. Kambing Peranakan Etawah (PE) merupakan kambing tipe dwiguna penghasil susu dan daging. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi polimorfisme gen fekunditas melalui pengamatan empat gen kandidat untuk prolififikasi, yaitu gen *BMP15* (exon 1), *BMPR1B* (exon 1), *KISS1* (exon 1), dan *KISS1* (intron 1) dan hubungannya dengan *litter size* pada kambing PE betina induk. Keragaman gen *BMP15* (exon 1), *BMPR1B* (exon 1), *KISS1* (exon 1), dan *KISS1* (intron 1) dianalisis dengan teknik PCR-RFLP. Sampel DNA yang digunakan sebanyak 106 ekor kambing PE betina induk di BPTU-HPT Pelaihari di Pelaihari, Kalimantan Selatan (51 ekor) dan di Peternakan Cordero di Bogor, Jawa Barat (55 ekor). Analisis variasi peringkat satu faktor Kruskal-Wallis digunakan untuk menentukan apakah ada pengaruh genotipe gen fekunditas pada *litter size*. Data keragaman genetik antara kelompok kambing PE betina induk dihitung dengan pendekatan frekuensi alel dan genotipe, serta *Polymorphic Informative Content* (PIC). Hasil keragaman genetik kambing PE berdasarkan nilai PIC diperoleh di BPTU-HPT Pelaihari sebesar 0,313, sedangkan di Peternakan Cordero adalah 0,144 dengan nilai PIC total sebesar 0,244. Hasil analisis Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa tidak ditemukan pengaruh genotipe gen *BMP15* (exon 1), *BMPR1B* (exon 1), *KISS1* (exon 1), dan *KISS1* (intron 1) pada *litter size*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lokus *BMP15* (exon 1) dan *KISS1* (exon 1) bersifat monomorfik, tetapi ditemukan dua lokus yang polimorfisme, yaitu lokus *BMPR1B* (exon 1) yang memiliki dua genotipe dengan frekuensi CC (96,23%), GG (3,77%), dan lokus *KISS1* (intron 1) yang memiliki tiga genotipe dengan masing-masing frekuensi TT (80,19%), AT (17,92%), dan AA (1,89%).

Kata kunci: gen fekunditas, genotipe, kambing PE betina induk, *litter size*

#### ABSTRACT

Etawah grade goat is a result of grading up line between Kacang and Etawah goats, which well adapted to Indonesia's humid tropical climate. This goat is a dual-purpose goat breed for milk and meat production. The objectives of this study were to evaluate the polymorphism of fecundity genes through the investigation of four candidate genes for prolificacy, i.e., *BMP15* (exon 1), *BMPR1B* (exon 1), *KISS1* (exon 1), and *KISS1* (intron 1) and their associations with the litter size of Etawah-Grade does. The diversity of *BMP15* (exon 1), *BMPR1B* (exon 1), *KISS1* (exon 1), and *KISS1* (introns 1) genes were analyzed by the PCR-RFLP technique. A total of 106 of DNA samples were collected from Etawah-Grade does at BPTU-HPT Pelaihari in Pelaihari, South Kalimantan (51 heads) and Cordero Farm in Bogor, West Java (55 heads). Genetic polymorphisms between the two Etawah-Grade groups were calculated as well as their allele and genotype frequencies and the *Polymorphic Informative Content* (PIC). The Kruskal-Wallis one-factor ranked analysis of variance was used to determine whether there was any effect of genotype of the fecundity genes on litter size. The polymorphic information content (PIC) estimated at BPTU-HPT Pelaihari was 0.313, whereas at Cordero farm was 0.174, and overall PIC was 0.244. There was no association between genotypes of *BMP15* (exon 1), *BMPR1B* (exon 1), *KISS1* (exon 1), and *KISS1* (intron 1) genes and litter size. Results indicated that *BMP15* (exon 1) and *KISS1* (exon 1) genes were monomorphic. However, the other two loci showed polymorphisms. The *BMPR1B* (exon 1) locus had two genotypes with the frequency for CC (96.23%) and for GG (3.77%), and *KISS1* (intron 1) locus had three genotypes with the frequency for TT (80.19%), AT (17.92%), and AA (1.89%).

Keywords: Etawah-Grade does, fecundity genes, genotypes, litter size

<sup>1</sup> Sekolah Pascasarjana, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

<sup>2</sup> Departmen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

<sup>3</sup> Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

\* Penulis Korespondensi: Email: [csumantri12@gmail.com](mailto:csumantri12@gmail.com)

#### PENDAHULUAN

Kambing PE merupakan kambing lokal yang telah diterima dengan baik oleh masyarakat peternak kambing karena kemampuan produksi dan reproduksinya yang melebihi kambing Kacang. Kambing ini merupakan hasil *grading-up* kambing Kacang dengan Etawah yang didatangkan ke Indonesia pada masa

zaman kolonisasi Belanda (Atabany *et al.* 2001; Utama 2009). Kambing PE memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai ternak pedaging. Utama (2009) menjelaskan bahwa populasi kambing PE ditingkatkan terutama untuk tujuan produksi daging, tetapi sejalan dengan program perkembangan kambing perah yang dipromosikan oleh pemerintah pada 10–15 tahun terakhir, kambing PE mulai diarahkan ke produksi susu untuk memenuhi permintaan susu dalam rangka mempercepat peningkatan pendapatan dan status gizi masyarakat perdesaan.

*Litter size* kambing PE yang dipelihara di lokasi peternakan dengan perbedaan geografis yang meliputi *altitude* dan *latitude* memperlihatkan hasil yang tidak sama (Mulyono *et al.* 2018). Dijelaskan bahwa *litter size* kambing PE di BPTU-HPT Pelaihari pada *altitude* 25 m dan *latitude* 3,64–3,99 LS adalah  $1,71 \pm 0,57$  ekor anak kelahiran<sup>-1</sup>, sedangkan di Peternakan Cordero pada *altitude* 500 m dan *latitude* 6°18'–6°47'10 LS adalah  $1,53 \pm 0,61$  ekor anak kelahiran<sup>-1</sup>. Sifat fekunditas tinggi dapat dideteksi pada saat kambing PE betina berumur dini melalui *marker assisted selection* (MAS), seperti yang sudah dilakukan pada bangsa kambing Raighar (Palai *et al.* 2012), kambing *Beetal*, *Jakhrana*, *Barbari*, *Black Bengal*, *Ganjam*, *Osmanabadi*, dan *Sangamneri* (Ahlawat *et al.* 2016), kambing *Jining Grey*, *Inner Mongolia Cashmere*, *Hechuan White*, *Dazu Black*, *Boer*, dan *Nubian* (Guang *et al.* 2016), dan kambing *Anglo-Nubian* (Abdel-Rahman *et al.* 2013), kambing *Boer*, *Kacang*, dan *Boerka* (Batubara *et al.* 2016).

Cara ini bersifat ekonomis karena peternak sudah dapat memutuskan apakah kambing PE betina dipertahankan sebagai bibit atau dipelihara untuk dipotong. Pemahaman informasi genetika yang terkait dengan gen fekunditas sangat diperlukan untuk keperluan ini. Ahlawat *et al.* (2015a) menyatakan bahwa kandidat gen yang berpengaruh pada sifat reproduksi pada kambing antara lain *BMPR1B*, *GDF9*, *BMP15*, *FSH $\beta$* , *FSHR*, *POU1F1*, *PRLR*, *KISS1*, *GPR54*, *GH*, *INH*, *CART*, *GnRH*, *GnRHR*, *LH $\beta$* , *BMP4*, *KITLG*, *MT2*, *CYP21*, dan *AA-NAT*. Hal tersebut lebih diperjelas oleh Mishra *et al.* (2017) yang melaporkan bahwa gen fekunditas yang memengaruhi *litter size* kambing adalah *BMPR1B* (exon 2), *BMP15* (exon 2), *GDF9* (exon 2), *POU1F1* (exon 6), *PRLR* (exon 9), *FSHR* (exon 10), *KISS1* (exon 3), *GPR54* (exon 6), *Inhibin HA* (exon 2), *BMP4* (exon 4), *IGF1* (exon 4), *GH* (exon 4), *GHR* (exon 10), *ESR1* (exon 9), *ESR2* (exon 8), dan *FSHB* (exon 3).

Menurut Chen *et al.* (2004) *bone morphogenetic protein* (BMP) merupakan faktor pertumbuhan yang bersifat multifungsi dan termasuk ke dalam superfamili *transforming growth factor b* (*TGFb*). Dijelaskan bahwa BMP berperan dalam perkembangan embrio dan fungsi seluler pada hewan *postnatal*.

Beberapa tahun terakhir ini, berbagai penelitian telah dilakukan dengan mengasosiasikan gen *BMP15* dengan *litter size*, yaitu penelitian Chu *et al.* (2007); Polley *et al.* (2009); Palai *et al.* (2012); Abdel-Rahman *et al.* (2013); Guang *et al.* (2016); Ahlawat *et al.* (2016);

dan Batubara *et al.* (2016). *Bone morphogenetic protein receptor 1B* (*BMPR1B*) bersama-sama dengan gen *BMP15* dan gen *growth differentiation factor 9* (*GDF9*) merupakan gen-gen yang berperan penting pada proses ovulasi dan mutasi alami. Proses ovulasi dan mutasi alami yang terjadi pada tiga gen tersebut dapat meningkatkan *litter size* (Polley *et al.* 2009). Gen *BMPR1B* digunakan dalam *marker-assisted selection* (MAS) untuk seleksi *litter size* (Helal *et al.* 2014). Pengamatan polimorfisme dan sekuensing nukleotida dari gen *BMPR1B* dihubungkan dengan *litter size* (Dutta *et al.* 2014).

*Kisspeptin* merupakan regulator hulu penting neuron GnRH (*gonadotropin-releasing hormone*). Keluarga neuropeptida ini dikodekan oleh gen *KISS1* dan diproduksi terutama oleh kelompok neuron pada nuklei hipotalamus diskrit (Pinilla *et al.* 2012). Dijelaskan bahwa *kisspeptin* berperan penting dalam pematangan dan fungsi reproduksi, mulai dari diferensiasi seksual otak dan awal pubertas hingga pengaturan sekresi gonadotropin dan pengendalian metabolisme fertilitas pada ternak dewasa sehingga gen *KISS1* berperan penting dalam reproduksi ternak. Menurut Maitra *et al.* (2014) *KISS1* dianggap sebagai mediator kunci dalam mekanisme molekuler reproduksi (pubertas dan prolifikasi) pada mamalia.

Gahete *et al.* (2016) menyatakan bahwa *kisspeptin* dapat mengendalikan secara spesifik, tipe sel serta status perkembangan yang bergantung pada sekresi hormonal dari kelenjar pituitari. *Kisspeptin* memodulasi fungsi kelenjar pituitari yang bekerja secara terpusat pada tingkat hipotalamus atau pada tingkat sel pituitari secara langsung dengan memodulasi sinyal berbagai jalur intraseluler. Sistem *KISS1/KISS1R* yang diekspresikan secara lokal di kelenjar pituitari menunjukkan pembentukan lingkaran pengaturan autokrin atau parakrin.

An *et al.* (2013) menjelaskan bahwa *kisspeptin* adalah produk peptida dari gen *KISS1* yang beroperasi melalui *GPR54* (*G-protein-coupled receptor 54*). *Kisspeptin* sebagai regulator hulu esensial neuron yang mensekresikan GnRH (*gonadotropin-releasing hormone*), nodus hipotalamus utama untuk kontrol stimulasi sumbu HPG (*hypothalamic-pituitary-gonadal*). Menurut Feng *et al.* (2009) *KISS1* dan *GPR54* merupakan regulator kunci untuk awal pubertas dan penjaga gerbang fundamental dewasa kelamin pada mamalia.

Berbagai penelitian telah dilakukan dengan mengasosiasikan gen *KISS1* dengan *litter size*, yaitu penelitian Hou *et al.* (2011) yang menunjukkan bahwa gen *KISS1* adalah gen kandidat yang berefek pada *litter size*. An *et al.* (2013) dan El-Tarabany *et al.* (2017) mendeteksi polimorfisme gen *KISS1* yang terdapat korelasi antara marka genetik dan *litter size*.

Penelitian-penelitian terdahulu yang berhubungan dengan *litter size* sangat potensial dilakukan pada berbagai bangsa kambing sehingga penelitian yang serupa penting juga untuk dilakukan pada kambing PE. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisis keragaman gen fekunditas, yaitu gen

*BMP15* (exon 1), *BMPR1B* (exon 1), *KISS1* (exon 1), *KISS1* (intron 1), dan hubungannya dengan *litter size* pada kambing PE betina induk.

## METODE PENELITIAN

### Sampel Darah Kambing PE

Penelitian menggunakan sampel darah kambing PE betina induk umur 3–4 tahun sebanyak 106 ekor yang berasal dari BPTU-HPT (Balai Pembibitan Ternak Unggul dan Hijauan Pakan Tenak) Pelaihari di Pelaihari, Kalimantan Selatan (51 ekor) dan Peternakan Cordero di Kabupaten Bogor, Jawa Barat (55 ekor). Kambing PE yang dipelihara pada kedua lokasi tersebut berasal dari Sentra Utama Peternakan Kambing PE yang terletak di Kaligesing Purworejo, Jawa Tengah. Sampel darah kambing PE diambil melalui *vena jugularis* dengan menggunakan tabung *vacutainer* berisi EDTA.

### Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA menggunakan metode *phenol* menurut Sambrook *et al.* (1989) yang dimodifikasi. Sampel darah sebanyak 100 µL dari masing-masing sampel individu kambing, dimasukkan ke dalam tabung 1,5 mL. Jumlah sampel darah yang digunakan sebanyak 106 buah. Sebanyak 1.000 µL NaCl 0,2% ditambahkan ke tabung tersebut, kemudian dikocok dengan alat *vortex* sampai homogen, lalu didiamkan selama 5 menit pada suhu ruang. Setelah itu, campuran disentrifius pada kecepatan 8.000 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan ditambahkan 350 µL 1xSTE (sodium tris-EDTA), 40 µL 10% SDS (sodium dodecylsulfate), dan 10 µL protK. Larutan digoyang dengan alat *titrator* pada suhu 55°C selama 2 jam. Setelah itu, ditambahkan 40 µL NaCl 5M, 400 µL larutan fenol, dan 400 µL CIAA (*chloroform iso amil alcohol*), lalu digoyang dengan alat *titrator* selama 1 jam pada suhu ruang. Larutan kemudian disentrifius pada kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Pada tabung 1,5 mL yang baru, dimasukkan sebanyak 400 µL supernatan (bagian bening paling atas) dengan pipet dan ditambah 800 µL *ethanol absolute* (EtOH), lalu dikocok sampai homogen dan didiamkan semalaman

pada suhu -20°C. Larutan kemudian disentrifius pada kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit dan supernatannya dibuang. Sebanyak 800 µL *ethanol* 70% ditambahkan dan kembali disentrifius pada kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Endapan molekul DNA pada dasar tabung dikeringkan selama 2–3 jam. Jika sudah kering ditambahkan 100 µL 80% *buffer* TE (tris EDTA), lalu dikocok sampai homogen dan DNA siap digunakan.

### Amplifikasi DNA dengan *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) menurut Kit PCR 2 x *Green Master Mix Promega*

Sebanyak 1 µL sampel DNA, 6,2 µL *nuclease free water*, 0,3 µL primer, dan 7,5 µL 2 x *Green Master Mix Promega* membentuk suatu campuran untuk mengamplifikasi DNA. Campuran diinkubasi dengan menggunakan mesin PCR *thermocycler Applied BioSystem* 9700. Amplifikasi melalui beberapa tahapan untuk gen *BMP15* (exon 1), *KISS1* (exon 1), dan *KISS1* (intron 1) terjadi pada kondisi PCR berikut ini. Tahap I adalah denaturasi awal yang terjadi pada suhu 95°C selama 5 menit, tahap II adalah denaturasi pada suhu 95°C selama 10 detik, *annealing* pada suhu 60°C selama 20 detik, dan *elongasi* pada suhu 72°C selama 30 detik, yang dilakukan sebanyak 35 siklus, tahap III merupakan *post-elongasi* pada suhu 72°C selama 5 menit. Amplifikasi untuk gen *BMPR1B* melalui (exon 1) tahap I yang merupakan denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, tahap II adalah denaturasi pada suhu 95°C selama 10 detik, *annealing* pada suhu 59–60°C selama 20 detik, dan *elongasi* pada suhu 72°C selama 30 detik yang dilakukan sebanyak 33 siklus, tahap III merupakan *post-elongasi* pada suhu 72°C selama 5 menit. Primer yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

### Elektroforesis

Hasil amplifikasi DNA (amplikon) gen-gen yang berhubungan dengan fekunditas dilakukan elektroforesis dalam gel agarose 1,5% untuk divisualisasikan. Setelah elektroforesis selesai, panjang pita DNA pada gel agarose dilihat dengan menggunakan UV-*Transilluminator*. Panjang pita DNA target yang muncul

Tabel 1 Urutan primer gen fekunditas dan enzim restriksi untuk pengamatan polimorfisme pada kambing PE betina induk penelitian

Primer dan tempat gen	Urutan primer (5'–3')	Enzim restriksi	Amplikon	Suhu annealing (°C)
<i>BMP15</i> (exon 1) <sup>a</sup> dan <sup>b</sup>	F: GTGGAGCCTGGATGCTGTTA R: CGGCTTCTCTGCTGCTTG	<i>AluI</i>	279 pb	60
<i>BMPR1B</i> (exon 1) <sup>b</sup>	F: TGTCTACCATCGTTTCTTCCACT R: GGACAATGGTGGTGGCATTTC	<i>SdI</i>	784 pb	59
<i>KISS1</i> (exon 1) <sup>c</sup>	F: TGCAAAGCCGAGTGTGCAGG R: TGAAGGCGGTGGCACAAAGGAA	<i>BsrI</i>	594 pb	60
<i>KISS1</i> (intron 1) <sup>c</sup>	F: CCCGCTGTAAGTAGAGAAAG R: CATCCAGGGTGAGTGATACT	<i>MwoI</i>	377 pb	60

Keterangan: <sup>a</sup>Chu *et al.* (2007) untuk primer R, <sup>b</sup>didesain sendiri, dan <sup>c</sup>An *et al.* (2013).

dibandingkan dengan *marker* dan selanjutnya disimpan dalam file.

**Genotiping dan Sekuensing**

Sebanyak 2 µL PCR produk (amplikon) didistribusikan ke dalam tabung 0,5 mL yang ditambahkan 1 µL DW (*destilated water*); 0,3 µL enzim restriksi; 0,7 µL *buffer RE* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 16 jam untuk kemudian dielektroforesis pada gel agarose 2% pada tegangan 100 volt selama 30 menit. Proses visualisasi dengan UV-*Transilluminator* dilakukan setelah proses elektroforesis selesai. Pita DNA yang muncul dibandingkan dengan DNA *marker* 100 pb untuk ditentukan panjang pitanya. Sekuensing dilakukan dengan menggunakan primer *forward* dan *reverse* dilakukan pada 16 sampel DNA dengan genotipe berbeda menggunakan jasa Perusahaan 1<sup>st</sup> Base Selangor Malaysia.

**Analisis Data**

Frekuensi alel, derajat heterosigositas, heterosigositas rata-rata, heterosigositas observasi ( $H_o$ ), dan heterosigositas harapan ( $H_e$ ) dihitung berdasarkan Nei (1987), sedangkan *Polymorphic Informative Content* (PIC) dihitung berdasarkan Botstein *et al.* (1980). Keseimbangan Hardy-Weinberg dihitung berdasarkan Stanfield (1983). Analisis variasi peringkat satu arah *Kruskal-Wallis* digunakan untuk menentukan apakah ditemukan pengaruh genotipe gen-gen fekunditas pada *litter size* (Gaspersz 1992). Hasil sekuensing

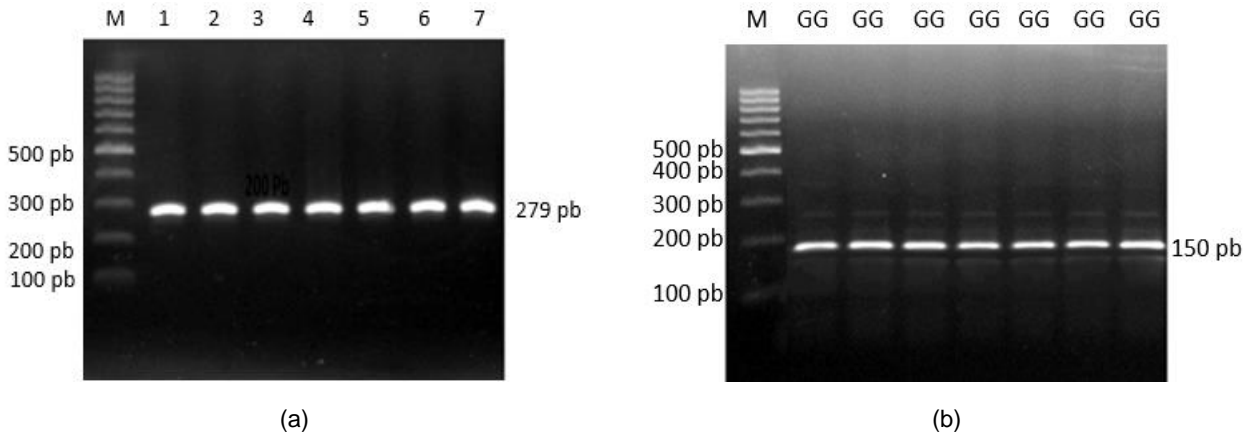
dianalisis menggunakan program BioEdit, sedangkan penentuan mutasi dianalisis menggunakan program MEGA 4,0 (Tamura *et al.* 2007) dan Genetyx win 4,1.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Gen *BMP15* (exon 1)**

Fragmen amplikon gen *BMP15* (exon 1) sebesar 279 pb divisualisasikan pada Gambar 1a dan hasil PCR-RFLP dengan pemotongan oleh enzim restriksi *AluI* (AG|CT) pada Gambar 1b. Titik potong pada posisi basa ke-90 dan 240, menghasilkan genotipe GG (150, 90, dan 39 pb) dan CG (279, 150, 90, dan 39 pb), sedangkan yang tidak terpotong menghasilkan genotipe CC (279 pb). Analisis PCR-RFLP menunjukkan satu buah pita berukuran 150 pb sebagai genotipe GG, yang seharusnya memiliki tiga buah pita karena pita lain yang berukuran 90 dan 39 pb tidak terdeteksi (*marker* yang digunakan berukuran 100 pb). Sampel DNA yang diamati monomorf untuk gen *BMP15* (exon 1) yang bergenotipe GG (Tabel 2).

Gen ini sudah stabil dari generasi ke generasi selama populasi tidak mengalami seleksi, migrasi, mutasi, *genetic drift*, dan meiosis berjalan normal (Stanfield 1983). Kondisi ini yang menyebabkan keseimbangan Hardy-Weinberg terjadi ( $P>0,05$ ). Kondisi monomorf pada gen ini juga didukung dengan hasil sekuensing DNA yang sama dengan acuan *GenBank* (nomor akses HM462255.1) pada kambing *Jamnapari*.



Gambar 1 (a) Amplikon pada exon 1 gen *BMP15* (M = *marker* 100 pb dan *line* 1–7 = gen *BMP15* exon 1) dengan panjang 279 pb dan (b) Produk PCR-RFLP pada gen *BMP15* (exon 1)|*AluI* (M = *marker* 100 pb dan *line* 2–8=genotipe GG berukuran 150 pb).

Tabel 2 Frekuensi alel dan genotipe gen *BMP15* (exon 1) dan gen *BMPR1B* (exon 1) pada kambing PE betina induk di BPTU-HPT Pelaihari dan Peternakan Cordero

Lokasi peternakan	n <sup>a</sup>	Frekuensi alel <i>BMP15</i> (exon 1)			Frekuensi genotipe			Frekuensi alel <i>BMPR1B</i> (exon 1)		Frekuensi genotipe		
		C	G		CC	CG	GG	C	G	GG	GC	CC
BPTU-HPT Pelaihari	51	0	1		0	0	1	0,059	0,941	0,059	0	0,941
Peternakan Cordero	55	0	1		0	0	1	0,018	0,982	0,018	0	0,982
Keseluruhan	106	0	1		0	0	1	0,038	0,962	0,038	0	0,962

Keterangan: <sup>a</sup>Jumlah sampel ternak (ekor).

Mutasi tidak ditemukan sepanjang amplicon gen *BMP15* (exon 1).

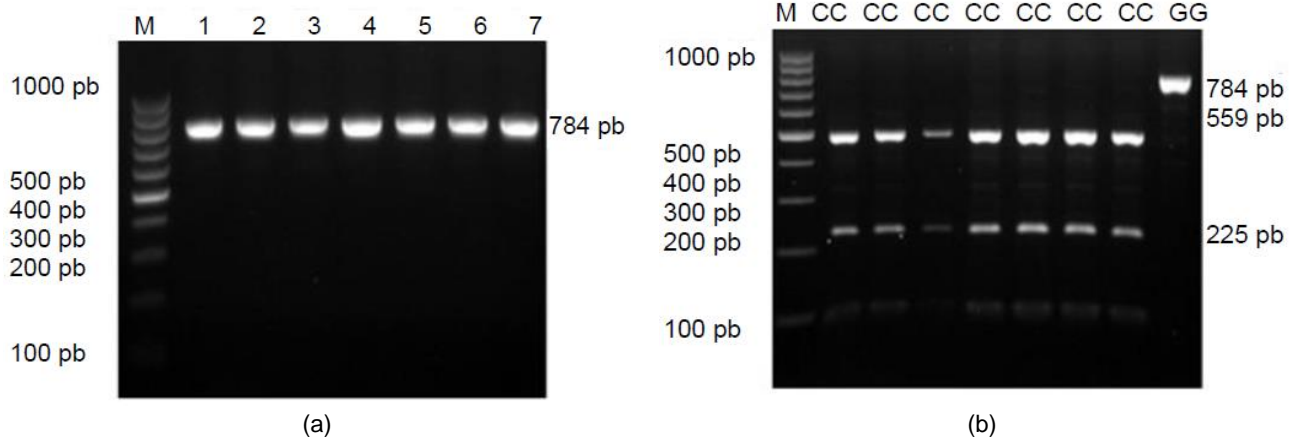
Menurut Rout dan Dass (2015) kambing Jamnapari berasal dari area Chakkar Nagar di Distrik Etawah, Uttar Pradesh. Mengingat bahwa kambing PE merupakan hasil *grading-up* kambing Kacang dengan Etawah (Atabany *et al.* 2001; Utama 2009), sampel DNA kambing PE betina induk memperlihatkan kesamaan sekuensing basa nitrogen pada gen *BMP15* (exon 1) dari kambing Etawah, salah satu dari moyangnya.

Hasil penelitian pada gen *BMP15* (exon 1) monomorf dan tidak dapat dihubungkan dengan *litter size*. Peneliti-peneliti sebelumnya telah menemukan polimorf pada ruas exon 2 pada gen *BMP15* (Mishra *et al.* 2017) yang tidak diamati pada penelitian ini. Dijelaskan lebih lanjut bahwa kejadian polimorf ini memengaruhi *litter size*. Penelitian yang serupa telah dilaporkan oleh Palai *et al.* (2012) pada kambing Raighar, Ahlawat *et al.* (2016) pada kambing Beetal, Jakhrana, Barbari, Black Bengal, Ganjam, Osmanabadi, Sangamneri, Guang *et al.* (2016) pada kambing Jining Grey, Inner Mongolia Cashmere, Hechuan White, Dazu Black, Boer, dan Nubian, sedangkan Abdel-Rahman *et al.* (2013) menemukan tiga varian genotipe dari gen *BMP15*, yaitu BB, BM, dan MM dengan frekuensi genotipe masing-masing 0,46; 0,43; dan 0,11 pada kambing Anglo-Nubian. Dijelaskan bahwa *litter size* kambing bergenotipe BB lebih tinggi dibandingkan varian genotipe lainnya. Batubara *et al.* (2016) melaporkan bahwa polimorfisme gen *BMP15* ditemukan pada kambing Boer, Kacang, dan Boerka yang menghasilkan genotipe GG, GA, dan AA.

**Gen B MPR1B (exon 1)**

Fragmen amplicon gen *BMPR1B* (exon 1) ditemukan sebesar 784 pb (Gambar 2a). Hasil PCR-RFLP menunjukkan pemotongan pada amplicon ruas gen *BMPR1B* (exon 1) oleh enzim restriksi *Sdul* (GDG CH|C) dengan titik potong pada posisi basa ke-225 dan 705, yang menghasilkan genotipe CC (559 dan 225 pb) dan GC (784, 559, dan 225 pb), sedangkan yang tidak terpotong menghasilkan genotipe GG (784pb). Hasil PCR-RFLP memperlihatkan keberadaan genotipe CC dan GG pada sampel DNA kambing PE betina induk penelitian (Gambar 2b). Frekuensi alel C pada gen *BMPR1B* (exon 1), ditemukan lebih tinggi baik di BPTU-HPT Pelaihari, maupun di Peternakan Cordero (Tabel 2) karena berasal dari sumber yang sama, yaitu dari Kaligesing. Pada penelitian ini tidak ditemukan genotipe heterosigot, sementara kedua gen C dan G tidak terfiksasi. Kondisi gen *BMPR1B* (exon 1) pada penelitian menyebabkan keseimbangan Hardy-Weinberg tidak terpenuhi ( $P < 0,05$ ).

Uji Kruskal-Wallis memperlihatkan bahwa tidak ditemukan perbedaan antara varian genotipe dari gen *BMPR1B* (exon 1) pada semua kambing PE betina induk penelitian ( $P > 0,05$ ). Rataan *litter size* pada setiap varian genotipe dari gen *BMPR1B* (exon 1) tidak berbeda ( $P > 0,05$ ) satu sama lain (Tabel 3). Hasil sekuensing pada beberapa sampel DNA yang dibandingkan dengan acuan pada *GenBank* (nomor akses KC142198.1) pada kambing Jakhrana, memperlihatkan mutasi substitusi pada urutan basa ke-85 pada amplicon gen *BMPR1B* (exon 1), dari A menjadi G (c.85A<G), pada varian genotipe CC dan GG. Mutasi substitusi lain juga terjadi pada varian-varian genotipe



Gambar 2 (a) Amplicon pada gen *BMPR1B* (exon 1) (M = marker 100 bp dan line 1–7 = gen *BMPR1B* exon 1) dengan panjang 784 p dan (b) Produk PCR-RFLP pada gen *BMPR1B* exon 1 |*Sdul* (line 1 M = marker 100 pb dan line 2–8 genotipe CC dengan panjang 225 dan 559 pb dan line 9 genotipe GG dengan panjang 784 pb).

Tabel 3 Hubungan antara varian genotipe lokus gen *BMPR1B* (exon 1) dan *litter size* serta *KISS1* (exon 1) dan *litter size*

Lokus	Genotipe	n	Frekuensi (%)	<i>Litter size</i> <sup>a</sup>	Koefisien keragaman (%)
Exon 1 gen <i>BMPR1B</i>	GG	4	3,77	1,75 ± 0,96a	54,71
	CC	102	96,23	1,62 ± 0,58a	35,91
Intron 1 gen <i>KISS1</i>	TT	85	80,19	1,59 ± 0,58a	36,73
	AT	19	17,92	1,79 ± 0,63a	35,24
	AA	2	1,89	1,50 ± 0,71a	47,14

Keterangan: <sup>a</sup>Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama secara statistik tidak berbeda ( $P > 0,05$ ).

gen *BMPR1B* (exon 1) dengan masing-masing *litter size* yang dihasilkan (Tabel 4). Hasil sekuensing ini tidak bertentangan dengan uji Kruskal-Wallis bahwa tidak ditemukan keterkaitan antara *litter size* dan varian genotipe dari gen *BMPR1B* (exon 1). Gen *BMPR1B* (exon 1) bukan biomarker untuk fekunditas pada kambing PE. Hasil penelitian ini tidak berbeda dari hasil yang dilaporkan oleh Palai *et al.* (2013) bahwa prolififikasi pada kambing *Raighar* bukan karena mutasi pada lokus *FecB* atau *BMPR1B*, tetapi diduga karena gen atau lokus lain yang memengaruhi fekunditas. Dutta *et al.* (2014) melaporkan bahwa mutasi pada alel gen *BMPR1B*, yaitu c.773G<C tidak berhubungan dengan prolififikasi kambing *Assam* yang monomorf untuk varian genotipe tipe liar AA. Ahlawat *et al.* (2015b) menyatakan bahwa tidak ditemukan efek nyata antara genotipe gen *BMPR1B*, yaitu c.242T<C pada *litter size* pada kambing *Black Bengal*, yang menurut Ahlawat *et al.* (2016) juga ditemukan pada kambing *Beetal*, *Jakhrana*, *Barbari*, *Black Bengal*, *Ganjam*, *Osmanabadi*, *Sangamneri*. Gen *BMPR1B*

digunakan dalam *marker-assisted selection* (MAS) untuk seleksi *litter size* pada kambing *Baladi*, *Zaraibi*, *Damaskus*, dan *Alpine* (Helal *et al.* 2014). Dijelaskan bahwa dengan menerjemahkan SNP ke asam amino yang sesuai, ditemukan bahwa pada kambing *Baladi* yang memiliki *litter size* tinggi, asam glutamat (E) berubah menjadi asam aspartat (P), dan isoleusin (I) menjadi valin (V), sedangkan pada kambing *Zaraibi*, valin (V) berubah menjadi asam leusin (L), glutamin (Q) menjadi histidin (H), dan treonin (T) menjadi prolin (P).

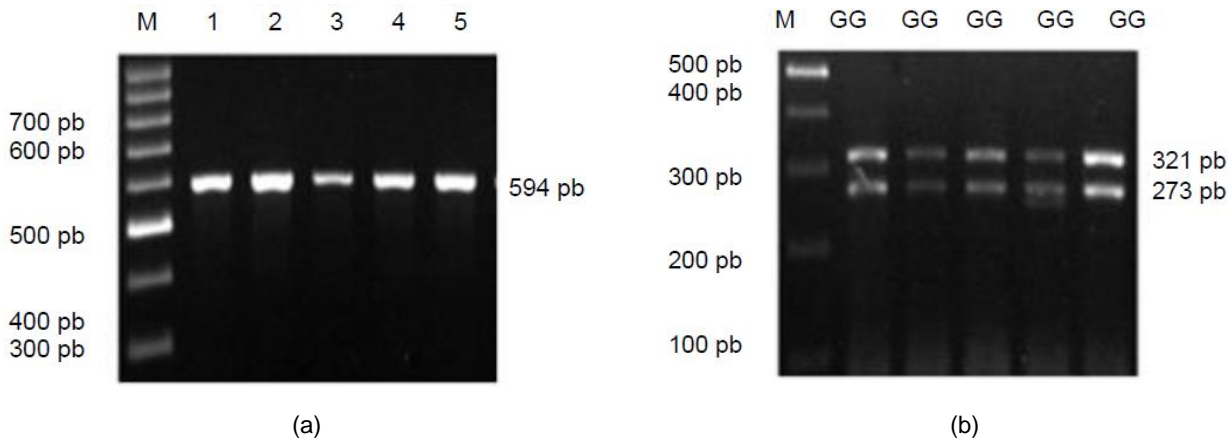
**Gen *KISS1* (exon 1)**

Fragmen amplikon gen *KISS1* (exon 1) ditemukan sebesar 594 pb (Gambar 3a). PCR-RFLP menunjukkan pemotongan oleh enzim restriksi *BsrI* (ACTGGI) pada posisi basa ke-272, menghasilkan genotipe GG (321 dan 273 pb) dan GC (594, 321 dan 273 pb), sedangkan bila tidak terpotong menghasilkan genotipe CC (594 pb). Hasil analisis memperlihatkan amplikon yang terpotong dan menghasilkan genotipe GG terdiri atas dua buah pita sebesar 321 dan 273 pb (Gambar

Tabel 4 Mutasi substitusi hasil sekuensing SNP beberapa individu kambing PE betina induk dengan genotipe CC dan GG pada gen *BMPR1B* (exon 1)

Sampel	Genotipe	c.85A<G	c.742C<T	c.743T<C	c.744C<T	<i>Litter size</i>
KC142198.1 <sup>a</sup>		AA	CC	TT	CC	
F111	CC	GG	TT	CC	TT	1
F161	GG	GG	CC	TT	CC	2
A51	CC	GG	CC	TT	CC	2
B21	CC	GG	CC	TT	CC	3

Keterangan: <sup>a</sup>GenBank dengan nomor akses KC142198.1 pada *National Center for Biotechnology Information/NCBI*.



Gambar 3 (a) Amplikon pada gen *KISS1* (exon 1) (M = marker 100 bp, line 1–5= gen *KISS1* exon 1) dengan panjang 594 pb dan (b) Produk PCR-RFLP pada gen *KISS1* (exon 1) |*BsrI* (line 1 M = marker 100 pb dan line 2–6 genotipe GG berukuran 273 dan 321 pb).

Tabel 5 Frekuensi alel dan genotipe gen *KISS1* (exon 1) dan gen *KISS1* (intron1) pada kambing PE betina induk di BPTU-HPT Pelaihari dan Peternakan Cordero

Lokasi peternakan	n <sup>a</sup>	Frekuensi alel <i>KISS1</i> (exon 1)		Frekuensi genotipe			Frekuensi alel <i>KISS1</i> (intron 1)		Frekuensi genotipe		
		C	G	CC	CG	GG	A	T	AA	AT	TT
BPTU-HPT Pelaihari	51	0	1	0	0	1	0,137	0,863	0,039	0,196	0,765
Peternakan Cordero	55	0	1	0	0	1	0,082	0,918	0,000	0,164	0,836
Keseluruhan	106	0	1	0	0	1	0,108	0,892	0,019	0,179	0,802
						(106)			(2)	(19)	(85)

Keterangan: <sup>a</sup>Jumlah sampel ternak (ekor).

3b). Semua sampel DNA kambing PE betina induk bergenotipe GG, bersifat monomorf untuk gen *KISS1* (exon 1).

Gen *KISS1* (exon 1) terfiksasi pada gen G karena frekuensi gen G = 1 (Tabel 5), sehingga keseimbangan Hardy-Weinberg terjadi ( $P > 0,05$ ). Stanfield (1983) menyatakan bahwa bila alel terfiksasi atau frekuensi alel itu 1, maka pada populasi itu hanya ditemukan satu macam genotipe homosigos untuk alel tersebut. Kondisi seimbang ini tidak akan berubah dari generasi ke generasi berikutnya selama tidak terjadi seleksi, migrasi karena populasi tertutup, mutasi dan meiosis berjalan normal. Hasil sekuensing gen *KISS1* (exon 1) memperlihatkan mutasi substitusi bila dibandingkan dengan acuan pada *GenBank* dengan nomor akses GU142847 pada kambing *Jining Grey*. Semua sampel DNA kambing PE betina induk yang semuanya bergenotipe GG dengan *litter size* sebesar 1–3 ekor anak kelahiran<sup>1</sup>, mengalami mutasi substitusi pada urutan basa ke 50 dari amplicon dari G menjadi A (c.50G<A). Penambahan mutasi pada amplicon tersebut berakibat pada perbedaan *litter size* (Tabel 6), tetapi hasil penelitian ini tidak cukup untuk membuktikan hal tersebut karena sampel yang digunakan untuk sekuensing tidak banyak. Hal tersebut diperlihatkan dengan hasil yang bertentangan pada Tabel 3, yaitu pengaruh varian genotipe gen *KISS1* (exon 1) tidak nyata pada *litter size* ( $P > 0,05$ ). Gen *KISS1* (exon 1) pada kambing PE betina induk penelitian tidak dapat dijadikan sebagai biomarker untuk fekunditas kambing PE. Hasil ini bersesuaian dengan Feng *et al.* (2009) yang melaporkan bahwa polimorfisme tidak terdeteksi pada gen *KISS1* (exon 1) pada kambing *Jining Gray*,

*Mongolia Cashmere*, *Angora*, dan *Boer* melalui PCR-SSCP, sehingga tidak ada kaitan antara gen ini dengan *litter size*.

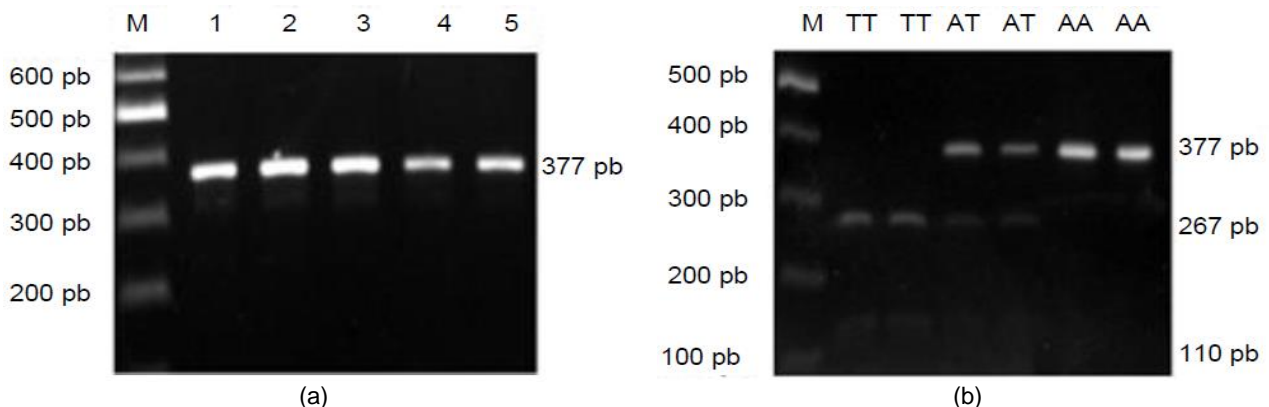
**Gen *KISS1* (intron 1)**

Fragmen amplicon gen *KISS1* (intron 1) ditemukan sebesar 377 pb (Gambar 4a). Pada Gambar 4b, pemotongan pada amplicon gen *KISS1* (intron 1) oleh enzim restriksi *MwoI* (GCCTAAG|TAGC) terjadi pada posisi basa ke-267 dan menghasilkan genotipe TT (267 dan 110 pb) dan AT (377, 267, dan 110 pb), sedangkan yang tidak terpotong menghasilkan genotipe AA (377 pb). Hasil PCR-RFLP memperlihatkan polimorfisme. Tabel 5 menyajikan frekuensi alel dan genotipe pada gen *KISS1* (intron 1). Frekuensi alel T dari gen *KISS1* (intron 1) sama-sama mendominasi pada sampel kambing PE betina induk di BPTU-HPT Pelaihari dan Peternakan Cordero karena berasal dari sumber yang sama, yaitu dari Kaligesing, sentra penjualan kambing PE. Uji  $\chi^2$  memperlihatkan bahwa kondisi gen *KISS1* (intron 1) berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg ( $P > 0,05$ ). Perbedaan varian gen ini tidak mempengaruhi *litter size* berdasarkan statistik Kruskal-Wallis ( $P > 0,05$ ), yang didukung dengan uji statistik tidak nyata pada Tabel 3 ( $P > 0,05$ ). Hasil sekuensing menunjukkan bahwa mutasi di banyak titik dan setiap sampel DNA kambing PE betina induk memiliki titik mutasi yang bervariasi (Tabel 7). Hasil sekuensing gen ini tidak konsisten diasosiasikan dengan *litter size*. Pada Tabel 3, varian genotipe dari gen ini tidak mempengaruhi *litter size* berdasarkan statistik Kruskal-Wallis ( $P > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan ada faktor lain atau gen lain yang

Tabel 6 Mutasi substitusi hasil sekuensing SNP beberapa individu kambing PE betina induk dengan genotipe GG pada gen *KISS1* (exon 1)

Sampel	Genotipe	c.50G<A	c.82A<T	c.114C<A	c.116C<A	c.527T<C	c.585A<C	LS <sup>b</sup>
GU 142847 <sup>a</sup>		GG	AA	CC	CC	TT	AA	
F51	GG	AA	TT	CC	CC	TT	CC	1
F172	GG	AA	TT	CC	CC	TT	AA	2
B62	GG	AA	AA	AA	AA	TC	AA	3

Keterangan: <sup>a</sup>*GenBank* dengan nomor akses GU142847 pada *National Center for Biotechnology Information/NCBI* dan <sup>b</sup>*litter size*.



Gambar 4 (a) Amplicon pada gen *KISS1* (intron 1) (M = *marker* 100 bp, *line* 1–5= gen *KISS1* intron 1) dengan panjang 377 pb dan (b) Produk PCR-RFLP pada gen *KISS1* (intron 1) | *MwoI* (M = *marker* 100 bp, *line* 2–3= genotipe TT dengan panjang 110 dan 267 pb, *line* 4–5= genotipe AT dengan panjang 110, 267, dan 377 pb, *line* 6–7= genotipe AA dengan panjang 377 pb).

bertanggung jawab dalam menentukan *litter size* di samping genotipe gen *KISS1* (intron 1). Hal ini bersesuaian dengan laporan Maitra *et al.* (2014) bahwa mutasi pada posisi g.296G<C, g.455T<G, g.505T<A, g.693T<C, g.950T<C pada gen *KISS1* (intron 1) tidak berkaitan dengan *litter size* pada kambing *Black Bengal*. Hal yang sebaliknya dilaporkan El-Tarabany *et al.* (2017) bahwa substitusi T dengan A pada posisi 121 (g.121T<A) ditemukan pada gen *KISS1* (intron 1) pada kambing perah *Baladi*, *Damaskus* dan *Zaribi*. Dua genotipe terdeteksi (TA dan TT). SNP g.121T<A dihubungkan secara nyata dengan *litter size* hanya pada kambing *Damaskus* dan kambing *Zaribi* dengan *litter size* lebih tinggi pada genotipe TT.

**Variabilitas Genetik Alel Fekunditas Kambing PE Betina Induk**

Heterosigositas tertinggi ditemukan pada gen *KISS1* (intron 1). Derajat heterosigositas gen tersebut terbesar ditemukan di BPTU-HPT Pelaihari. Heterosigositas rata-rata dari gen-gen fekunditas juga ditemukan terbesar di BPTU-HPT Pelaihari. Hal ini menunjuk-

kan bahwa variabilitas genetik untuk gen fekunditas lebih tinggi ditemukan pada kambing PE betina induk di BPTU-HPT Pelaihari dibandingkan dengan di Peternakan Cordero (Tabel 8). Tabel 9 memperlihatkan Nilai *Polymorphic Informative Content* (PIC) kambing PE betina induk di BPTU-HPT Pelaihari yang juga ditemukan lebih tinggi dibandingkan dengan di Peternakan Cordero. Pada Tabel 9 tersebut nilai  $H_o$  yang lebih kecil dari  $H_e$ , mengindikasikan bahwa telah terjadi perkawinan dalam kelompok sebagai proses seleksi intensif (Tambasco *et al.* 2003) pada kambing PE betina induk di BPTU-HPT Pelaihari dan di Peternakan Cordero. Botstein *et al.* (1980) menyatakan bahwa nilai PIC memiliki informasi tinggi bila bernilai  $PIC \geq 0,50$ , sedang bila bernilai  $0,25 < PIC < 0,50$ , dan rendah bila nilai  $PIC \leq 0,25$ . Secara keseluruhan, populasi kambing PE betina induk menunjukkan keragaman genetik yang rendah akibat *inbreeding* sehingga tingkat informasi genetiknya rendah untuk sifat fekunditas yang diamati. Peternakan Cordero mengalami tingkat *inbreeding* yang lebih tinggi karena kondisi genotipe dari gen-gen

Tabel 7 Mutasi substitusi hasil sekuensing SNP beberapa individu kambing PE betina induk dengan genotipe TT dan TC pada gen *KISS1* (intron 1)

Sampel	Genotipe	g.56A<C	g. 65 T<A	g.125T<A	g.197G<C	g.271C<T	g.313C<T	LS <sup>b</sup>
GU 142847 <sup>a</sup>		AA	TT	TT	GG	CC	CC	
F51	TT	AA	TT	AA	GG	CC	TT	1
F172	TT	AA	TA	TT	GG	CC	CC	2
B62	TT	AA	TT	TA	GG	CC	TT	3
C11	AT	AA	TT	TA	GC	CC	TT	1
A41	AT	AC	TT	TA	GG	CT	TT	2
B61	AT	AC	TT	TA	GG	CT	TT	3

Keterangan: <sup>a</sup>GenBank dengan nomor akses GU142847 pada National Center for Biotechnology Information/NCBI dan <sup>b</sup>*litter size*.

Tabel 8 Derajat heterosigositas ( $\hat{h}$ ) dan heterosigositas rata-rata ( $\bar{H}$ ) dari semua lokus gen fekunditas yang diamati

Lokus	Alel	Frekuensi alel		
		BPTU-HPT Pelaihari (n=51)	Peternakan Cordero (n=55)	Keseluruhan (n=106)
<i>BMP15</i> (exon 1)	G	1,000	1,000	1,000
	C	0,000	0,000	0,000
	$\hat{h}$	0,000	0,000	0,000
<i>BMPR1B</i> (exon 1)	G	0,059	0,018	0,038
	C	0,941	0,982	0,962
	$\hat{h}$	0,112	0,036	0,074
<i>KISS1</i> (exon 1)	G	1,000	1,000	1,000
	C	0,000	0,000	0,000
	$\hat{h}$	0,000	0,000	0,000
<i>KISS1</i> (intron 1)	A	0,137	0,082	0,108
	T	0,863	0,918	0,892
	$\hat{h}$	0,239	0,152	0,194
$\bar{H}$		0,088	0,047	0,067

Tabel 9 Nilai heterosigositas observasi ( $H_o$ ) dan heterosigositas harapan ( $H_e$ ) serta *Polymorphic Informative Content* (PIC) dari semua lokus gen fekunditas yang diamati

Lokasi penelitian	Jumlah sampel	$H_o$	$H_e$	PIC
BPTU-HPT Pelaihari	51	0,235	0,348	0,313
Peternakan Cordero	55	0,164	0,186	0,174
Keseluruhan	106	0,198	0,266	0,245



fekunditas yang diamati lebih bersifat homosigos, dibandingkan dengan BPTU-HPT Pelaihari.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen *BMP15* (exon 1) dan gen *KISS1* (exon 1) adalah monomorfik, sedangkan gen *BMPR1B* (exon 1) dan gen *KISS1* (intron 1) adalah polimorfik. Genotipe gen *BMPR1B* (exon 1) dan gen *KISS1* (intron 1) tidak berhubungan dengan *litter size* sehingga gen tersebut tidak dapat digunakan sebagai *marker assisted selection* (MAS). Hasil penelitian memperkuat hasil penelitian sebelumnya bahwa gen fekunditas yang diamati tidak berhubungan dengan *litter size*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Rahman SM, Mustafa YA, Abd Errasool HA, El-Hanafy AA, Elmaghraby AM. 2013. Polymorphism in *BMP-15* gene and its association with litter size in Anglo-Nubian goat. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 29(4): 675–683. <https://doi.org/10.2298/BAH1304675A>
- Ahlawat S, Sharma R, Maitra A, Tantia MS. 2015a. Current status of molecular genetics research of goat fecundity. [Review]. *Small Ruminant Research*. 125: 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.01.027>
- Ahlawat S, Sharma R, Roy M, Tantia MS, Prakash V. 2015b. Association analysis of novel SNPs in *BMPR1B*, *BMP15* and *GDF9* genes with reproductive traits in Black Bengal goats. *Small Ruminant Research*. 132: 92–98.
- Ahlawat S, Sharma R, Roy M, Mandakmale S, Prakash V, Tantia MS. 2016. Genotyping of novel SNPs in *BMPR1B*, *BMP15*, and *GDF9* genes for association with prolificacy in seven Indian goat breeds. *Anima Biotech*. 27(3): 199–207. <https://doi.org/10.1080/10495398.2016.1167706>
- An X, Ma T, Hou J, Fang F, Han P, Yan Y, Zhao H, Song Y, Wang J, Cao B. 2013. Association analysis between variants in *KISS1* gene and litter size in goats. *BMC Genetics*. 14(63): 1–6. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-14-63>
- Atabany A, Abdulgani IK, Sudono A, Mudikdjo. 2001. Performa produksi, reproduksi dan nilai ekonomis kambing Peranakan Etawah di Peternakan Barokah. *Media Peternakan*. 24(2): 1–7.
- Batubara A, Elieser S, Sumantri C. 2016. Study of *BMP15* gene polymorphism in Boer, 224–230. Kacang, and Boerka goats. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 21(4): 224–230. <https://doi.org/10.14334/jitv.v21i4.1636>
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *The American Journal of Human Genetics*. 32: 314–331.
- Chen D, Zhao M, Mundy GR. 2004. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factor*. 22: 233–241. <https://doi.org/10.1080/08977190412331279890>
- Chu MX, Jiao CL, He YQ, Wang JY, Liu ZH, Chen GH. 2007. Association between PCR-SSCP of bone morphogenetic protein 15 gene and prolificacy in Jining Grey goats. *Anima Biotech*. 18: 263–274. <https://doi.org/10.1080/10495390701331114>
- Dutta R, Laskar S, Borah P, Kalita D, Das B, Zaman G, Barman NN, Saikia DP. 2014. Polymorphism and nucleotide sequencing of *BMPR1B* gene in prolific Assam hill goat. *Molecular Biology Reports*. 41(6): 3.677–3.681.
- El-Tarabany MS, Zagloul AW, El-Tarabany AA, Awad A. 2017. Association analysis of polymorphism in *KiSS1* gene with reproductive traits in goats. *Animal Reproduction Science*. 180: 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.03.006>
- Feng T, Zhao YZ, Chu MX, Zhang Yj, Fang L, Di R, Cao GL, Li N. 2009. Association between sexual precocity and alleles of *KISS-1* and *GPR54* genes in goats. *Anima Biotech*. 20: 172–176. <https://doi.org/10.1080/10495390903004493>
- Gahete MD, Vazquez-Borrego MC, Martínez-Fuentes AJ, Tena-Sempere M, Castaño JP, Luque RM. 2016. Role of the *Kiss1/Kiss1R* system in the regulation of pituitary cell function. *Molecular Cellular Endocrinology*. 438: 100–106.
- Gaspersz V. 1992. *Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan*. Jilid 1. Bandung (ID): Tarsito.
- Guang XE, Huang YF, He JN, Ni WW, Zhao YJ. 2016. A963G single nucleotide variant of *BMP15* is not common bio-marker for fecundity in goat. *Indian Journal Animal Research*. 50(3): 366–369.
- Helal MAY, Mahboub HDH, Hemeda SA, El Ballal SS, Heikal HS. 2014. Polymorphism of Bone Morphogenetic Protein Receptor-1B (*BMPR-1B*) gene with litter size and kids growth of some goat breeds in Egypt. *Alexandria Journal Veteriner Sciences*. 41: 28–34. <https://doi.org/10.5455/ajvs.155470>
- Hou JX, An XP, Wang JG, Song YX, Cui YH, Wang YF, Chen QJ, Cao BY. 2011. New genetic polymorphisms of *KISS-1* gene and their association with litter size in goats. *Small Ruminant Research*. 96: 106–110. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.11.013>
- Maitra A, Sharma R, Ahlawat S, Tantia MS, Roy M, Prakash V. 2014. Association analysis of polymorphisms in caprine *KiSS1* gene with

- reproductive traits. *Animal Reproduction Science*. 151: 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.09.013>
- Mishra C, Rout M, Mishra SP, Sahoo SS, Nayak G, Patra RC. 2017. Genetic polymorphism of prolific genes in goat-a brief review. *Exploratory Animal and Medical Research*. 7(2): 132–141.
- Mulyono RH, Sumantri C, Noor RR, Jakaria, Astuti DA. 2018. The prediction of prolificacy using linear body parameters and craniometric. *Tropical Animal Science Journal*. 41(2): 77–84. <https://doi.org/10.5398/tasj.2018.41.2.77>
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York (US): Columbia University Press.
- Palai TK, Maity A, Bisoi PC, Polley S, Mukharjee A, De S. 2012. Screening of *BMP15 (FecX)* fecundity gene in prolific Raighar goats of odisha. *Journal Cell and Tissue Research*. 12(3): 3.285–3.289.
- Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M. 2012. Kisspeptins and reproduction: Physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiological Reviews*. 92: 1.235–1.316.
- Polley S, De S, Batabyal S, Kausik R, Yadav P, Arora JS, Chattopadhyay S, Pan S, Brahma B, Datta TK, Goswami SL. 2009. Polymorphism of fecundity genes (*BMP1B*, *BMP15*, and *GDF9*) in the Indian prolific Black Bengal goat. *Small Ruminant Research*. 85(2/3): 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.08.004>
- Sambrook J, Fritsch EF, Medrano JF. 1989. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. Ed ke-2. New York (US): Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Stanfield WD. 1983. *Schaums Outline of Theory and Problems: Genetics*. 2nd ed. New York (US): McGraw-Hill Book Company.
- Sutama IK. 2009. Productive and reproductive performances of female Etawah crossbred goats in Indonesia. *Wartazoa*. 19(1): 1–6.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*. 24(8): 1.596–1.599.