

AMPLIFIKASI DNA GEN *MEAT TENDERNESS* PADA SAPI BALI (*Bos sondaicus*)

DNA Amplification of Meat Tenderness Gene of Bali Cattle

Agus Susilo¹, Soeparno², Tety Hartatik³ dan Wayan Tunas Artama⁴

¹⁾ *Bagian Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya*

²⁾ *Bagian Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada*

³⁾ *Bagian Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada*

⁴⁾ *Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada*

Diterima 13 Februari 2012; diterima pasca revisi 27 Februari 2012
Layak diterbitkan 1 Maret 2012

ABSTRACT

The aim of this study was to know DNA band pattern as a result of amplification using DNA primer from meat tenderness gene of Bali cattle. Sample used in this study was DNA isolated from blood Bali cattle. Blood samples was collected in heparin tubes from jugular vein. Leucocyte cells were isolated using RBCs (Red Blood Cells) lysis buffer. To get DNA fragmen, marbling and meat tenderness gene were amplified by using DNA primer for for meat tenderness (forward: 5'-CTACCGGGACGTC AACCT-3'; reverse: 5'-GGTTGTCGGGGTAGCTCA-3'). The size of DNA fragment were 210 bp, respectively.

Key words: *Bali cattle, meat tenderness gene*

PENDAHULUAN

Indonesia mengimpor sekitar 142.80 ribu ton (sapi bakalan sebesar 72.80 ribu dan berupa daging 70.00 ribu ton) pada tahun 2009 (Ditjen Peternakan, 2010). Kondisi ini memacu Pemerintah untuk meningkatkan populasi sapi potong dalam negeri secara cepat dan diimbangi dengan peningkatan kualitas sapi yang menghasilkan karkas kualitas tinggi agar jumlah pemotongan dapat efisien.

Indonesia memiliki berbagai bangsa sapi potong, baik bangsa sapi potong lokal (Madura, Bali) maupun hasil persilangan (Peranakan Ongole, Peranakan Limousin, dll) dengan *meat tenderness* yang sangat bervariasi. Bangsa-bangsa sapi tersebut sangat potensial untuk dikembangkan dan

ditingkatkan peranannya sebagai penghasil daging dengan presentase dan kualitas karkas yang bervariasi serta *meat tenderness* yang berbeda pula sesuai dengan bangsa sapi yang bersangkutan. Akan tetapi, sampai saat ini upaya pengembangan tersebut belum dibarengi dengan pemanfaatan teknologi molekuler yang mampu melakukan seleksi dini terhadap sapi dengan *meat tenderness* tinggi sehingga upaya pengembangan yang efisien belum tercapai. Sebaiknya seleksi dalam pengembangan sapi potong diarahkan untuk menghasilkan karkas dan kualitas daging yang berkualitas

Pengujian variabilitas genetik serta karakteristik kualitas karkas dan sifat-sifat kualitas daging sapi bias dilakukan dengan menggunakan marka molekuler, karena

dengan cara ini akan dapat diketahui informasi yang terdapat dalam setiap region dari genom (tanpa mempertimbangkan tingkat ekspresi gen). Marker dapat berupa polimorf dalam gen yang diharapkan akan muncul untuk sifat-sifat tertentu (kandidat gen) atau yang lebih umum adalah region anonym suatu genom yang diharapkan berangkai pada gen-gen yang penting. Identifikasi genotype atau genetik molekuler komposisi karkas dan kualitas daging beberapa bangsa sapi telah dilakukan (Zhao *et al.*, 2004; Casas *et al.*, 2005), akan tetapi untuk kualitas daging sapi Bali sampai saat ini masih belum ada informasi.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka permasalahan yang dapat diambil dalam penelitian ini adalah bagaimanakah profil hasil amplifikasi DNA untuk komposisi karkas yang diinginkan dan sifat kualitas daging pada sapi Bali. Profil hasil amplifikasi DNA pada meat tenderness dijadikan sebagai langkah awal untuk analisis polimorfisme gen tersebut pada sapi Bali.

MATERI DAN METODE

Isolasi dan Uji Kemurnian DNA

DNA diisolasi dari sel limfosit darah (Robynt and White, 1987). Sebanyak 3 ml darah dicampur dengan 3 ml PBS pH 7,4 dan disentrifugasi dan dimasukkan di atas larutan 3 ml ficoli histopaque 10077 (*Sigma Diagnostic*) dalam tabung sentrifuse dan disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Lapisan mononuklearnya dipipet menggunakan mikropipet. Sel yang diperoleh dicuci dua kali dalam 1 ml PBS dan disentrifuse sekaligus dengan waktu dan kecepatan yang sama.

Sel limfosit yang telah diipihkan ditambah 30 ul K buffer (20 ul PBS-Tween + 10 ul proteinase K 300 ug/ml). kemudian diinkubasi pada suhu 56 °C dan pada suhu 95 °C selama 10 menit. Ditambahkan ke

dalamnya etanol : kloroform (1 : 24) dengan volume yang sama, dihomogenkan dan dibiarkan sampai membentuk 3 lapisan. Lapisan teratas dalam (DNA) dipipet dan ditambahkan satu kali volume etanol dingin, kemudian disentrifuse dan diambil isolat DNA nya.

Untuk menguji kemurnian DNA digunakan metode Fritsh. Sample isolate DNA dipipet 10 ul, ditambah TE sampai 20 ml, dimasukkan dalam cuvet quart dan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm dan sebagai blanko digunakan TE.

Amplifikasi DNA

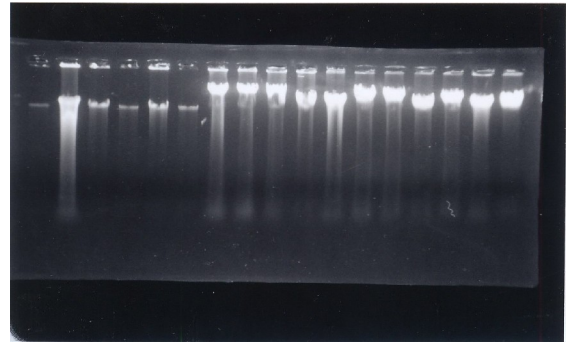
Pengambilan sampel sebagaimana yang telah dirancang sebelumnya bertujuan untuk memilih marka yang polimorfis diantara kelompok-kelompok ternak. Untuk melacak gen pertumbuhan marka digunakan PCR (*plimerase chain reaction*). Dengan menggunakan primer yang menggunakan kepada daerah promoter dan exons 9, fragmen DNA dari gen pengendali *meat tenderness* diamplifikasi dari DNA genom yang diperoleh dari 81 ekor sapi Bali dengan umur yang berbeda. Primer untuk gen pengendali gen pengendali meat tenderness yang digunakan berturut-turut sebanyak 2 buah (Casas *et al.*, 2005). Jumlah ini merupakan hasil screening yang telah dilakukan sebelumnya dari jumlah sekitar 35 buah (Page *et al.*, 2002). Empat macam SNP pada gen CAPN1 sapi (Gen Bank accession AF 248054 dan AF252504) dianalisis untuk genotipnya. Marka CAOPN316 merupakan polimorfisme cystidin/guanosin (C/G) pada exon 9 dari gen yang menghasilkan substitusi asam amino (alel C mengkodekan alanin, dan G untuk glisin (Page *et al.*, 2002). Marka CAPN530 merupakan polimorfisme adenosine/guanosin (A/G) pada exon 14 dalam gen yang menghasilkan substitusi asam amino (kode alel A untuk isoleusin, alel G untuk valin). Marka CAPN4753

merupakan polimorfisme adenosine/cystidin yang terletak pada interon /timidin (A/T) yang terdapat pada interon 1 dari gen (Page *et al.*, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

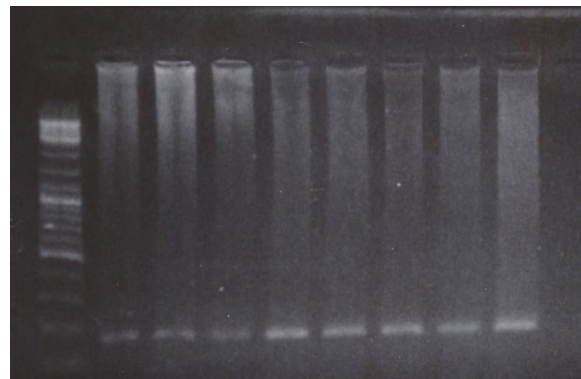
Sampel darah sebagai sumber DNA dikoleksi dari vena jugularis dengan menggunakan tabung venoject yang mengandung bahan antikoagulan, EDTA sebanyak 5 – 6 ml setiap ekor sapi. DNA diisolasi dari sel limfosit menurut metoda standar (Robyt and Whyte, 1987). Untuk mengetahui keberhasilan isolasi DNA dilakukan pengamatan secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer dan pengamatan secara kualitatif dengan menggunakan elektroforesis agarosa. Kemurnian DNA yang diketahui dari rasio OD260/OD280 diperoleh nilai sekitar 1,09 sampai 1,78. DNA yang diperoleh dikatakan murni jika memenuhi rasio lebih dari 1,8. Sebaliknya apabila nilai tersebut lebih kecil dari 1,8 diduga terjadi kontamonasi protein (Saunders and Parkes, 1999). Dalam isolasi yang dilakukan pada penelitian ini diperoleh konsentrasi DNA antara 0,97 sampai 9,25 ug/ul.

Pada penelitian ini semua hasil isolasi DNA yang diperoleh, dielektroforesis pada agarosa 1 % (Gambar 1). DNA total sapi yang dielektroforesis umumnya terlihat *band* terang di dekat lubang sumuran. *Band* terang tersebut menunjukkan DNA hasil isolasi. Semakin tebal dan terang maka menunjukkan semakin banyak DNA yang diperoleh.

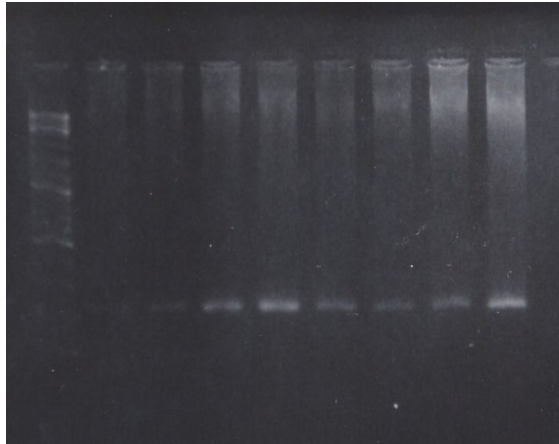


Gambar 1. DNA total sapi yang dielektroforesis pada gel agarosa 1 %

Upaya melacak gen meat tenderness pada DNA yang telah diperoleh, digunakan 3 macam primer yaitu : Primer gen meat tenderness (forward: 5'-GGGCCGAGGAGATACCGTGAA-3'; reverse: 5'-GCTTCCCGGGTGGCAACTG-3') Hasil amplifikasi dapat ditunjukkan pada Gambar 2 dan 3. Panjang frgamen DNA hasil amplifikasi dirangkum dalam Tabel 1.



Gambar 2. Fotograf gel agarosa yang menunjukkan spesifitas hasil PCR dengan menggunakan primer DNA dari gen meat tenderness. M : DNA ladder 100 bp. 1-8 : sapi Bali



Gambar 3. Fotograf gel agarosa yang menunjukkan spesifitas hasil PCR dengan menggunakan primer DNA dari gen meat tenderness. M : DNA ladder 100 bp. 1-8 : sapi Bali

Tabel 1. Panjang Fhasil Amplifikasi

No	Nama Primer	Sekuenn DNA	Primer	Panjang fragmen
1	Meat tenderness	forward: GGGCCGAGGA GATACCGTGA A-3' reverse: GCTTCCCGGG TGGCAACTG- 3')	5'-	210 bp

Hasil Amplifikasi pada gen meat tenderness menghasilkan satu pita, berturut-turut berukuran 210. Munculnya satu pita ini menunjukkan bahwa primer DNA yang digunakan pada penelitian ini adalah spesifik untuk sapi Bali untuk gen marbling dan meat tenderness. Hasil PCR yang baik dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kemurnian DNA hasil ekstraksi, ketepatan pemilihan primer yang digunakan serta ketepatan kondisi PCR. Primer merupakan bagian yang penting dalam PCR karena primer merupakan inisiator pada sintesis DNA target. Syarat-syarat yang harus dipenuhi di dalam menyusun suatu primer adalah terdiri dari 20 basa, kandungan G/C nya 50 %. Ketepatan kondisi PCR juga sangat mempengaruhi hasil dari reaksi PCR. Ketepatan kondisi PCR ditentukan oleh ketepatan campuran reaksi dan

ketepatan kondisi suhu pada masing-masing siklus (Beuzen *et al.*, 2000). Ketepatan kondisi reaksi PCR serta ketepatan primer yang digunakan memberikan produk PCR yang sangat spesifik dengan hanya terbentuknya satu pita DNA. Pada penelitian ini primer yang digunakan merupakan primer yang sesuai untuk mengamplifikasi gen meat tenderness karena hasil amplifikasi hanya menunjukkan satu pita.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa primer DNA yang digunakan dalam penelitian ini spesifik untuk gen meat tenderness pada sapi Bali dan fragmen yang dihasilkan dari amplifikasi untuk gen *meat tenderness* adalah 210 bp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional yang telah memberikan bantuan hibah doktor dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Beuzen, N.D., M.J. Stear and K.C. Chang. 2000. Molecular Markers and Their Usi in Animal Breeding. *The Veterinary Journal*. 160 : 42-52.
- Casas, E., White, S. N., Riley, D. G., Smith, T. P. L., Brennemen, R. A., Olson, T. A., Johnson, D. D., Coleman, S. W., Bennet, G.L. and Chase, C.C. 2005. Assessment of Single Nucleotide Polymorfisms in Genes Residing on Chromosomes 14 and 29 for Association with Carcass Compotion Traits in *Bos Indicus Cattle*.

- Ditjen Peternakan.2006. Strategi dan Kebijakan Pencapaian Program Kecukupan Daging tahun 2010. Workshop Rencana Tindak Dalam Rangka Kecukupan Daging 2010. Bukittinggi, 18 Mei 2006
- Page, B. T, Casas, E. Quaas, R. L, Thallman, R. M, Wheeler, T. L, Koohmaraie, M, Schackelford, S. D, White, S. N, Keele, J. W, Smith, T. P. L. 2004. Association of Markers in The Bovine CAPN1 with Meat Tenderness in Large Corssbred Populations that Sample Influential Industry Sires. *J.Anim. Sci.*, 80 :3474 – 3481.
- Page, B. T, Casas, E., Heaton, M. P., Cullen, N. G., Hyndman, D. L., Morris, C. A., Crawford, A. M., Weeler, T. L., Koohmaraie, M., Keele, J. W., Simth, T. P. L. 2002. Evaluation of Single-Nucleotide Polymorphisms in CAPN1 for Association with Meat Tenderness in Cattle. *J. Anim. Sci.*,80 : 3077-3085.
- Robyt, I. M and White, B. J. 1987. Biochemical Techniques: Theory and Prractices. Books/Cole Publishing Company. California.
- Saunders, G. C. and Parkes, H.C. 1999. Analytical Molecular Biology, Quality and Validation. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Zhao Q., Davis, M. E., Hines, H. C. 2004. Association of Polymorphisms in the Pit-1 ge with Growth and Carcass Composition Ttraits in Angus Beed Cattle. *J.Anim. Sci.*, 82:2229-2233.