

Asosiasi Lokus Mikrosatelit BMS1282 dengan Kejadian Kawin Berulang pada Sapi Bali

The Assosiation of the Locus of Microsatellite BMS1282 with Repeat Breeding in Bali Cattle

Yesy Febnica Dewi¹, I Nengah Wandia^{2,3}, I Ketut Puja^{3*}

1 Program Magister Kedokteran Hewan Unud Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali

2 Laboratorium Molekuler PPSP LPPM Unud Bukit Jimbaran, Badung, Bali

3 Laboratorium Anatomi Veteriner FKH Unud JL. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali

*Corresponding author, email asubali@hotmail.com

ABSTRACT

Bali cattle has an important role to fulfill the meat demands in Indonesia. The improvement of molecular technology will facilitated bali cattle genomic selection. The aim of this research was to verify association between BMS1282 microsatellite locus and repeat breeding in bali cattle. Totalling 52 bali cattle blood samples was taken from UD Sari Laba, Bangli, Bali as DNA resources. DNA was extracted using blood mini Kit qiagen and microsatellite locus was amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR). Alleles were separated with 6% PAGE and visualized using silver stain. There were 5 alleles in BMS1282 locus which the alleles size varied from 148 to 156 bp. Allele 152 was the highest frequency (54.81%) and allele 156 was the lowest frequency (1.92%). The value of heterozygosity (Ho), He, and PIC was 0.346, 0.626, and 0.569. consecutively. Statistical analysis revealed that BMS1282 locus has no assosiation with the repeat breeding ($P>0.05$). This result indicates that BMS 1282 locus has no important role in regulating the repeat breeding.

Key words : Bali cattle, Repeat breeding, microsatellite BMS1282, heterozigosity

ABSTRAK

Sapi bali memiliki peranan penting dalam memenuhi kebutuhan daging di Indonesia. Dengan adanya perkembangan teknologi molekuler akan memudahkan di dalam meningkatkan kualitas seleksi genomik. Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji asosiasi antara genetik lokus mikrosatelit BMS1282 pada sapi yang mengalami kejadian kawin berulang. Sejumlah 52 ekor darah sapi bali diambil dari UD Sari Laba, Bangli, Bali sebagai sumber DNA DNA diekstraksi menggunakan blood DNA mini kit Qiagen, dan lokus mikrosatelit diampflikasi dengan teknik PCR. Alel dipisahkan secara elektroforesis dalam gel poliakrilamid 6% dan visualisasi menggunakan pewarnaan perak. Sebanyak 5 lalel ditemukan pada lokus BMS1282, dengan panjang alel bervariasi dari 148 sampai dengan 156 bp. Alel 152 adalah alel dengan frekuensi tertinggi (54,81 %) dan alel 156 dengan frekuensi terendah (1,92%). Heterozigositas (Ho) dan He, dan PIC masing-masing 0,346, 0,626 dan 0,569. Hasil analisis statistik memperlihatkan bahwa Mikrosatelit BMS1282 tidak berasosiasi dengan *repeat breeding* ($P>0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa lokus BMS1282 tidak memiliki peranan penting didalam mengatur *repeat breeding*.

Kata kunci : Sapi bali, *repeat breeding*, mikrosatelit BMS1282, heterozigositas

PENDAHULUAN

Sapi bali merupakan salah satu ternak lokal asli Indonesia, yang merupakan hasil domestikasi dari Banteng (*Bos sondaicus*) yang pada awalnya termasuk banteng liar asli dari pulau Bali (Nijman *et al.*, 2003). Di Indonesia sapi bali menjadi primadona sapi potong karena merupakan ternak sumber penghasil daging. Selain itu sapi bali juga memiliki kemampuan reproduksi tinggi dan dimanfaatkan sebagai ternak pekerja (Putu *et al.*, 1998; Moran, 1990). Sapi bali memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan sapi lokal lainnya, dikarenakan sapi bali mempunyai angka pertumbuhan yang cepat, mudah beradaptasi terhadap perubahan lingkungan serta memiliki presentase kelahiran yang mencapai 80 persen (Ngadiyono, 1997).

Di Indonesia sering terjadi permasalahan reproduksi pada sapi terutama pada sapi bali. Permasalahan reproduksi yang sering terjadi pada sapi bali adalah rendahnya efisiensi reproduksi. Rendahnya efisiensi reproduksi pada sapi bali diindikasikan dengan terjadinya gangguan reproduksi yaitu kawin berulang (*repeat breeding*). Kawin berulang merupakan suatu keadaan sapi betina yang mempunyai siklus dan periode birahi yang normal yang sudah dikawinkan 3 kali atau lebih dengan pejantan fertil tetap belum bunting (Toelihere, 1981). Persentase

kejadian kawin berulang pada sapi di seluruh dunia berkisar antara 5,5-33,3 % (Gustafsson dan Emanuelsson, 2002; Yusuf *et al.*, 2010). Sapi yang mengalami kawin berulang pada umumnya ditandai dengan panjangnya *calving interval* (18-24 bulan), rendahnya angka kosepsi (< 40%), dan tingginya *service per conception* (>3) (Rustamadji *et al.*, 2007). Tingginya kejadian kawin berulang akan berdampak terhadap rendahnya reproduksi dan produktivitas sapi per tahun.

Kawin berulang menjadi perhatian pada seleksi sapi unggul. Kawin berulang dipengaruhi oleh genetik dan lingkungan. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya yang nyata dalam meningkatkan mutu genetik sapi bali dengan cara pengelolaan yang optimal terhadap sumberdaya genetik ternak (Erhardt and Weiman, 2007; Humblot *et al.*, 2010).

Pada dekade ini, tersedianya teknik biologi molekuler telah memungkinkan melakukan peningkatan breeding dari cara seleksi bibit unggul konvensional beralih ke cara modern. Cara seleksi modern tersebut didasarkan pada identifikasi gen atau marka yang mempengaruhi ciri penting bernilai ekonomi pada sapi (Oikonomu *et al.*, 2008). Salah satu marka molekuler yang banyak digunakan sebagai penentu seleksi adalah DNA mikrosatelit. Keragaman genetik dengan marka molekuler DNA mikrosatelit akan mampu

mendeteksi variasi genetik diantara anggota kelompok ternak (Albert *et al.*, 1994). DNA mikrosatelit memiliki beberapa keunggulan diantaranya memiliki tingkat ketepatan yang tinggi (didalam pengujian keturunan, pelaksanaanya lebih sederhana, jumlah sampel yang digunakan relatif sedikit, dan dapat dilakukan dengan teknik PCR biasa.

BMS1282 merupakan marka DNA mikrosatelit, yang terletak pada kromosom 20 sapi. Penelitian tentang keragaman DNA pada kromosom 20 pada sapi perah sudah pernah dilakukan di *Victoria Institute of Animal Science*. Georges *et al.* (1995) yang meneliti mengenai keterkaitan marka mikrosatelit dengan presentase protein susu pada sapi perah melaporkan bahwa panjang alel yang ditemukan pada BMS1282 berkisar 149-157 bp. Sedangkan Siswanto (2012) menyatakan bahwa sapi bali yang membawa alel 195 mempunyai kecendrungan mengalami kawin berulang . Penelitian ini ditujukan untuk mengkaji asosiasi lokus BMS1282 dengan kejadian kawin berulang pada sapi bali.

METODE PENELITIAN

Sampling Sapi

Sejumlah 52 ekor sapi bali yang dipelihara di Pusat Pembibitan Pulukan, Balai Pembibitan Ternak Unggul Sapi Bali

(BPTU Sapi Bali) disampling untuk diambil sampel darahnya. Berdasarkan dokumentasi didapatkan bahwa dari 52 ekor tersebut, sebanyak 13 ekor dinyatakan sebagai repeat breeder atau mengalami kawin 3 kali atau lebih untuk menjadi bunting. Pengerjaan molekuler dilakukan di Laboratorium Molekuler Pusat Kajian Primata Lembaga Penelitian Universitas Udayana. pada bulan Mei 2014.

Ekstraksi dan Amplifikasi DNA

Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan Kit Qiagen (Spin Protocol). Darah sapi bali diekstraksi sesuai dengan protokol pembuatnya. Reaksi PCR dilakukan dengan satu unit reaksi amplifikasi PCR mengandung 7,57 μL deionase water (DW); 1,25 μL *buffer* 10x; 1,75 μL MgCl_2 ; dNTP 0,25 μL ; sepasang primer masing-masing 0,3 μL dan Taq DNA polymerase sebanyak 0,08 μL . Total campuran tersebut adalah 11,5 μL dan ditambahkan template DNA sebanyak 1 μL sehingga didapatkan jumlah pencampuran terakhir adalah 12,5 μL .

Langkah PCR meliputi pre PCR, merupakan proses denaturasi pada suhu 94°C selama 3menit. Setelah itu proses PCR yang diawali dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik dan *elongasi* pada suhu 72°C selama 30 detik.

PCR ini diulang sebanyak 30 kali siklus. Post PCR yaitu elongasi pada suhu 72°C selama 5 menit.

Hasil amplifikasi dipisahkan dengan gel acrylamide 6% dan visualisasi dilakukan dengan pewarnaan perak (Tegelstrom, 1992). DNA typing dilakukan dengan mengukur jarak migrasi masing-masing pita DNA pada gel dengan membandingkan standar pita 100 bp.

Analisis Data

Analisis polimorfisme lokus mikrosatelit BMS 1282 meliputi jenis alel, frekuensi alel, heterosigositas, dan PIC. Jenis alel dinamai sesuai dengan panjang produk PCR yang dibedakan berdasarkan jarak migrasi pada PAGE. Asosiasi polimorfisme lokus BMS 1282 dengan *repeat breeding* dianalisis menggunakan uji Exactly test, $\alpha = 0,05$. Analisis dikerjakan dengan menggunakan program SPSS V.19 for Windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Polimorfisme lokus BMS1282

Sejumlah 5 alel ditemukan dalam lokus BMS1282 dengan panjang alel antara 148-156 bp. Frekuensi alel paling tinggi terdapat pada alel 152 (54,81%) dan frekuensi alel paling rendah terdapat pada alel 156 (1,92%) (Tabel 1). *Observed*

Heterosigositas (Ho) dan *Expected Heterozigositas* (He) masing-masing adalah 0,346 dan 0,626. Nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) adalah 0,569.

Tabel 1. Jumlah, Ukuran dan Frekuensi Alel Lokus BMS1282

Lokus	Jumlah alel	Ukuran Alel (bp)	Frekuensi Alel
BMS 1282	5	148	3.85%
		150	19.23%
		152	54.81%
		154	20.19%
		156	1.92%

Asosiasi genotipe dan alel mikrosatelit dengan *repeat breeding*

Hasil analisis statistik menggunakan uji Exactly test menunjukkan bahwa tidak ada asosiasi antara alel atau genotipe dengan kejadian kawin berulang ($P > 0.05$).

Pembahasan

Karakteristik lokus BMS1282 pada sapi bali

Alel mikrosatelit dapat diidentifikasi berdasarkan variasi pola pita akibat perbedaan laju migrasi saat elektroforesis (Mulliadi dan Arifin, 2010). Individu yang heterozigot akan tampak mempunyai dua pita yang sama tebalnya, sedangkan individu yang homozigot akan tampak satu pita yang tebal (McDonald, D.1997). Hasil dari penelitian ini didapatkan frekuensi alel yang paling tinggi (54,81 %) terdapat pada panjang alel 152 bp dan yang

terendah (1.92%) adalah panjang alel 156 bp. Nilai heterozigositas merupakan satu parameter yang digunakan untuk menyatakan keragaman genetik dalam suatu populasi (Nei, 1987). Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa mikrosatelit BMS1282 memiliki H_o 0.346 dan H_e 0.626. Nilai *Polymorphic Information Content* (PIC) digunakan untuk menentukan variasi dari marka mikrosatelit (Botstein *et al.*, 1980). Bila nilai PIC melebihi 0.5, maka lokus tersebut mempunyai polimorfisme yang tinggi. Lokus dengan Nilai PIC antara 0,25 sampai dengan 0,5, dikelompokkan sebagai lokus dengan polimorfisme yang sedang, dan lokus dengan PIC kurang dari 0,25, dikelompokkan sebagai lokus dengan polimorfisme yang rendah. Pada penelitian ini nilai PIC sebesar 0.569, maka lokus BMS1282 dapat dinyatakan sebagai lokus dengan polimorfisme yang sedang.

Potensi lokus BMS1282 sebagai QTL

Lokus BMS1282 merupakan bagian dari DNA mikrosatelit yang terletak pada kromosom 20. Lokus BMS1282 telah diujicobakan untuk menemukan jenis haplotipe yang berkaitan dengan kadar protein susu pada sapi perah (Carrick, *et al.*, 1998). Selain itu, Georges *et al.* (1995) menggunakan 159 mikrosatelit DNA yang salah satunya lokus BMS1282 untuk mengeksplorasi *quantitative trait*

loci (QTL) pada sapi perah. Beliau melaporkan bahwa QTL menyebar pada kelima kromosom yaitu kromosom 1, 6, 9, 10 dan 20 yang pengaruhnya sangat bervariasi pada produksi susu, presentase protein, dan lemak. Carrick *et al.* (1995) menemukan bahwa panjang alel lokus BMS1282 pada sapi perah yang mengalami kawin berulang berkisar antara 149-157 bp. Sementara, penelitian yang dilakukan oleh Siswanto (2012) mengindikasikan bahwa sapi bali betina yang mempunyai panjang alel 195 bp cenderung mengalami kawin berulang. Pada penelitian ini, bahwa individu yang membawa ukuran alel 152 bp memiliki frekuensi kawin berulang yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan ukuran alel yang lainnya. Namun demikian, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lokus BMS1282 tidak berasosiasi ($P > 0.05$) dengan kejadian kawin berulang baik jenis alel maupun jenis genotipnya.

KESIMPULAN

Tidak ada asosiasi polimorfisme lokus mikrosatelit BMS 1282 dengan kejadian kawin berulang (*Repeat breeding*) pada sapi bali.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Kepala Laboratorium Molekuler Pusat Penelitian Satwa Primata LPPM

Universitas Udayana atas ijin penelitiannya.

Gustafsson H, Emanuelsson U. 2002. Characterisation of the repeat breeding syndrome in Swedish dairy cattle. *J Acta Vet Scand* 43: 115-125.

DAFTAR PUSTAKA

Albert B, Bray D, Lewis J, Raff MB, Roberts K, and Watson JD. 1994. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing, Inc., New York.

Botstein D, White RL, Skolnick M. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.

Carrick M, Taylor C, Goddard M, Langford C, Madgwick P. 1998. Identifying genes affecting milk composition DAV224 *Final report to Dairy Research and Development corporation*.

Erhardt G, Weimann C. 2007. Use Of Molecular Markers for Evaluation of Genetic Diversity and in Animal Production. *Arch. Latinoam. Prod. Anim. Vol. 15 (Supl. 1) : 63-66*.

Georges M, Niesen D, Mackinnon M, Mishra A, Okimoto R, Pasquino AT, Sargeant LS, Sorensen A, Steele R, Zhao X, Womack JE, Hoeschele I. 1995. *Genetics* 139: 907.

Guo X, Elston RC .1999. Linkage informative content of polymorphic genetic markers. *Hum Hered* 49:112-118.

Humblot P, Le Bourhis D, Fritz S, Colleau JJ, Gonzales C, Joly CG, Malafosse A, Heyman T, Amigues Y, Tissier M, Ponsart C. 2010. Reproductive Technologies and Genomics Selection in Cattle, *Veterinary Medicine International*.

McDonald D. 1997. *Microsatellite DNA*. Department Zoology and Physiology University of Wyoming.

Moran JB. 1990. Performans dari sapi-sapi Pedaging di Indonesia dalam Kondisi Pengelolaan Tradisional dan Diperbaiki. *Laporan Seminar Ruminansia II*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Ternak.

Mulliadi D, Arifin J. 2010. Pendugaan Keseimbangan Populasi dan Heterozigositas Menggunakan Pola Protein Albumin Darah pada Populasi Domba Ekor Tipis (*Javanese Thin Tailed*) di Daerah Indramayu. *Jurnal Ilmu Ternak*. Vol. 10.No.2, 65-72.

Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetic*. Columbia University Press. New York.

Nijman IJ, Ruiters C, Hanekamp E, Verkaar EL, Ochieng C, Shamshad JSBM, Rege JEO, Hanotte O, Barwegen M, Susilawati T, Lenstra

- JA. 2003. Hybridization of banteng (*Bos javanicus*) and zebu (*Bos indicus*) revealed by mitochondrial DNA, satellite DNA, AFLP and microsatellites. *Heredity* 90:10-16.
- Ngadiyono N. 1997. Pertumbuhan serta sifat-sifat karkas dan daging sapi sumba, ongole, brahman cross dan australian commercial cross yang dipelihara secara intensif pada berbagai bobot potong [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Oikonomu G, Angelopoulou K, Arsenos G, Zygoiannis D, Banos G. 2008. The Effects of Polymorphisms in the DGAT 1, leptin and growth hormone receptor gene loci on body energy, blood metabolic and reproductive traits of Holstein Cows. *Animal Genetics*. 40 : 10-17.
- Putu IG, Situmorang P, Lubis A., Chaniago TD, Triwulaningsih E, Sugiarti T, Mathius IW, Sudaryanto B. 1998. Pengaruh pemberian pakan konsentrat tambahan selama dua bulan sebelum dan sesudah kelahiran terhadap performan produksi dan reproduksi sapi potong. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner*. Bogor, 1-2 Desember 1998.
- Rustamadji B, Ahmadi, Kustono, Sutarno T. 2007. Kinerja usaha peternakan sapi perah rakyat sebagai tulang punggung pembangunan persusuan nasional. *Paper. Disampaikan pada Lokakarya Persusuan Nasional*. Yogyakarta. Dies 38 Fapet UGM.
- Siswanto M. 2012. Asosiasi Keragaman Genetik Mikrosatelit Lokus DRB3 Gen BoLa Sapi Bali Betina Dengan Kawin Berulang dan Jarak Beranak. *Tesis*. Universitas Udayana. Denpasar.
- Tegelstrom H. 1992. Mitochondrial DNA in natural population. An improved routine for screening of genetic variation based on sensitive silver staining. *Electrophoresis* 7: 226-229.
- Teneva A, 2009. *Molecular Markers In Animal Genome Analysis. Biotechnology in Animal Husbandry*. 25 (5-6) : 1267-1284.
- Toelihere M. 1981. Ilmu Kemajiran Pada Ternak Sapi, Edisi Pertama, Institut Pertanian Bogor, Hal; 52-57,76-85.
- Yusuf M, Nakao T, Ranasinghe BMK, Gautam G, Long ST, Yoshida C1, Koike K, Hayashi A. 2010. Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds. *Theriogenology*. 73: 1220-1229.