

Asosiasi Polimorfisme Mikrosatelit DRBP1 Gen BoLa (*Bovine Leucocyte Antigen*) dengan Ukuran Tubuh pada Sapi Bali

The Association of the Polymorphism of Microsatellite DRBP1 BoLa (Bovine Leucocyte Antigen) Gene with the Body Size of Bali Cattle

Ni Wayan Patmawati^{1*}, I Nengah Wandia^{2,3}, I Ketut Puja³

1. Fungsional Medik Veteriner Muda, BPTU-HPT Denpasar

2. Laboratorium Molekuler PPSP LPPM UNUD Kampus Bukit Jimbaran, Badung Bali

3 Bagian Anatomi Veteriner, FKH Unud Jl. PB Sudirman, Denpasar Bali

*Corresponding author email: wpatma@gmail.com

ABSTRACT

Genomic selection has a potency for improving the genetic quality of livestock. In effort to find out a molecular marker or DNA segment which is linked with a certain phenotype, we examined the association of the polymorphism of microsatellite DRBP1 with the body size of Bali cattle. A total of 55 blood samples of sires was collected from the Breeding Center of Bali Cattle Improvement Office in District of Jembrana. Total DNA was extracted with QIAamp DNA blood mini kit. The locus was amplified using PCR technique and alleles were separated through PAGE 6%, and visualized with silver staining. We found 5 alleles which their length varied from 108 bp to 136 bp. Allele 122 had the highest frequencies (25.45%). The expected heterozygosity (HE) and observed heterozygosity (HO), and the PIC were 0.783, 0.891 and 0.738 consecutively. Statistic analysis showed that the polymorphism of microsatellite DRBP1 had no significant association ($p > 0.05$) with body size of male Bali cattle. This indicates that the DRBP1 does not play a role in determining the body size.

Key words: Bali cattle, BoLA gene, DRBP1 microsatellite, Body size.

ABSTRAK

Seleksi genomik berpotensi untuk memperbaiki kualitas genetik ternak. Dalam usaha untuk menemukan marka molekuler atau segmen DNA yang berkaitan dengan fenotipe tertentu, penelitian untuk mengkaji asosiasi polimorfisme lokus mikrosatelit DRBP1 gen BoLA dengan ukuran tubuh sapi bali dilakukan. Sebanyak 55 sampel darah sapi pejantan dikoleksi dari pusat pembibitan Balai Pengembangan Ternak Unggul (BPTU) di Kabupaten Jembrana. DNA total diekstraksi dengan QIAamp DNA blood mini kit. Locus mikrosatelit DRBP1 diamplifikasi menggunakan teknik PCR, dan alel dipisahkan melalui elektroforesis gel poliakrilamid 6% serta dimunculkan dengan pewarnaan perak. Penelitian menemukan 5 alel dengan panjang bervariasi antara 108 – 136 bp. Alel 122 mempunyai frekuensi tertinggi yaitu 25,45%. *Expected heterozygosity* (HE), *observed heterozygosity* (HO), dan *polymorphic information content* (PIC) secara berurutan adalah 0,783; 0,891; dan 0,738. Analisis statistik menunjukkan tidak ada asosiasi antara keragaman lokus mikrosatelit DRBP1 dengan ukuran tubuh sapi jantan ($P > 0,05$). Hasil penelitian mengindikasikan bahwa lokus DRBP1 tidak berperan penting dalam penentuan ukuran tubuh.

Kata kunci: sapi bali, gen BoLA, mikrosatelit DRBP1, ukuran tubuh

PENDAHULUAN

Sapi Bali merupakan salah satu plasma nutfah nasional yang perlu dipertahankan kelestariannya (Pane,1990). Sapi Bali memiliki keunggulan karakteristik seperti fertilitas tinggi, lebih tahan terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik, cepat beradaptasi apabila dihadapkan dengan lingkungan yang baru, cepat berkembang biak, dan kandungan lemak karkas rendah (Darmadja,1980).

Seleksi bibit unggul yang telah dilaksanakan adalah seleksi berdasarkan penampilan fenotipe dan catatan silsilah. Pengaruh genetik pada penampilan fenotipe dipelajari dari silsilah dengan cara mengukur penampilan atau fenotipe yang tampak pada seekor ternak. Metode seleksi tersebut memerlukan waktu yang lama dan populasi dasar yang banyak. Kemajuan teknik molekuler di bidang genetika memberikan suatu pengharapan bahwa penampilan suatu fenotipe dimasa mendatang dapat diprediksi lebih awal melalui identifikasi suatu marka molekul (segmen DNA) pada kromosom yang berperan atau terpaut terhadap penampilan fenotipe tersebut. Apabila segmen DNA tersebut dapat diidentifikasi, maka seleksi berbasis marka gen dapat diaplikasikan di dalam program peningkatan mutu genetik ternak (Meuwissen dan Goddard, 1996). Kajian mendalam mengenai berbagai marka molekul (segmen DNA) yang

berperan atau terpaut pada berbagai penampilan produksi perlu dilakukan .

Gen *Bovine Leucocyte Antigen* (BoLA) adalah kompleks gen yang berhubungan dengan sifat ketahanan dan kepekaan terhadap penyakit, produksi, dan reproduksi (Amills *et al.*, 1998). Komplek gen tersebut terletak pada kromosom no 23 yang mirip dengan MHC pada manusia.

Gen BoLA dibedakan menjadi tiga klas yaitu MHC klas I, klas II, dan klas III. Gen klas II mengandung 2 lokus gen yaitu DR dan DQ. Lokus DR terdiri atas tiga jenis lokus DRB yaitu DRB1, DRB2 dan DRB3 (Sachinandan *et al.*, 2011). Beberapa penelitian yang pernah dilakukan menggunakan lokus DRBP1 dan beberapa lokus lainnya, seperti penelitian tentang diversitas genetik dan struktur populasi 20 jenis sapi di Eropa Utara (Kantanen *et al.*, 2000) dan diversitas genetik dan struktur populasi sapi zebu di Malawi (Changadeva *et al.*, 2012). Kusza *et al.* (2004) meneliti tentang asosiasi polimorfisme DRBP1 MHC klas II dengan penyakit arthritis dan encephalitis pada ternak kambing di Hungaria. Ellegren *et al.* (1992) melaporkan bahwa adanya hubungan yang sangat kuat antara keragaman DRB3 exon 2 dan intron 2 serta polimorfisme yang tinggi pada pseudogen DRB1 (DRBP1) pada gen BoLA. Acosta-Rodriguez *et al.* (2005)

telah melaporkan peran mikrosatelit DRBP1 bersama dengan DRB3, BM1815, dan RM185 pada kepekaan terhadap caplak. Mikrosatelit DRBP1 ini juga menampakkan keterpautan (*close genetic linkage*) dengan DRB3.

Penelitian berbasis molekuler yang sudah pernah dilakukan pada sapi Bali antara lain oleh Winaya *et al.* (2000) yang melakukan penelitian untuk mendeteksi polimorfisme dan hubungan filogenetik pada sapi bali, sapi madura, sapi PO, dan sapi Brangus. Penelitian terhadap kemurnian sapi bali melalui protein, struktur bulu, dan kromosom dilakukan oleh Noor *et al.* (2000). Penelitian yang mengungkap mikrosatelit yang terletak dalam gen BoLA belum banyak dilakukan. Penelitian ini ditujukan untuk mengkaji polimorfisme mikrosatelit DRBP1 dan asosiasinya dengan berbagai sifat produksi antara lain tinggi gumba, lingkaran dada, dan panjang badan pada sapi bali.

METODE PENELITIAN

Pengumpulan Sampel darah

Sejumlah 55 sampel darah sapi jantan yang diambil dari Pusat pembibitan BPTU Sapi Bali. Darah diambil dari vena jugularis menggunakan venoject dan ditampung dalam tabung dengan antikoagulan EDTA. Sampel kemudian

disimpan dalam *cool box* dan selanjutnya dilakukan ekstraksi.

Ukuran tubuh

Ukuran tubuh ternak yang diukur meliputi lingkaran dada, panjang badan, dan tinggi gumba.

Ekstraksi DNA dan Amplifikasi DNA

Sampel darah yang diambil diekstraksi menggunakan QIAamp DNA mini Kit sesuai dengan protokol pembuatnya (Qiagen, 2007). Lokus mikrosatelit DRBP1 diamplifikasi melalui teknik *polymerase chain reaction* (PCR). Setiap unit reaksi PCR mengandung 3 mM MgCl₂; dNTP 0,16 mM, sepasang primer masing-masing 0,4 µM; Taq DNA Polimerase sebanyak 0,44 U, ke dalamnya ditambahkan 1,25 µl *buffer* 10x, 1,5 µl *template* DNA, dan sejumlah air deionase sehingga volume akhir 12,5 µl. Urutan pencampuran dilakukan dengan bebas, kecuali Taq DNA polimerase untuk yang terakhir. Campuran divorteks dan dipusingkan (Hillis *et al.*, 1996).

Reaksi amplifikasi pada PCR dilakukan sebanyak 30 siklus dengan program sebagai berikut : Pre PCR, denaturasi pada suhu 94⁰ C selama 3 menit; PCR, denaturasi 94⁰ C selama 45 detik, annealing pada suhu 54⁰C selama 45 detik dan elongasi pada suhu 72⁰C selama

35 detik ; Post PCR, : ekstensi 72⁰ C selama 5 menit. Hasil amplifikasi dipisahkan secara elektroforesis dalam gel poliakrilamid 6% dengan voltase 160 volt selama 75 menit. Sejumlah 1 µl produk PCR dicampur dengan 0,2 µl penyangga pemuat (5x dye), selanjutnya dimasukkan kedalam sumur gel poliakrilamid yang telah disiapkan. Pita dimunculkan dengan pewarnaan perak dan panjang basa diukur dengan membandingkan terhadap penanda standart 100 bp ladder (Hillis *et al.*, 1996).

Analisis Data

Polimorfisme genetik sapi Bali diukur dengan heterozigositas (h), jumlah dan frekuensi alel. menggunakan *Microsatellite Toolkit V.3.1* (Park, 2001). Asosiasi polimorfisme lokus DNA

mikrosatelit DRBP1 gen BoLA dengan ukuran tubuh menggunakan *General Linear Models* (GLM) dengan bantuan program SPSS V.19 (Geldermann *et al.*, 2006)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fenotipe Sapi Bali Jantan

Fenotipe sapi Bali jantan umur 2-4 tahun adalah lingkaran dada terbesar 202 cm, lingkaran dada terkecil 136 cm dengan rata-rata lingkaran dada adalah 161,9 ± 14,37 cm. Ukuran panjang badan terpanjang adalah 157 cm dan terpendek adalah 100 cm dengan rata-rata panjang badan 124,3 ± 9,85 cm. Tinggi gumba tertinggi 138 cm, dan tinggi gumba terendah 107 cm dengan rata-rata 121 ± 5,74 cm (Tabel 1).

Tabel 1. Fenotipe Sapi Bali Jantan di BPTU Sapi Bali

Ukuran tubuh	Maksimum (cm)	Minimum (cm)	Rataan (cm) ± SD
LD	202	136	161,9 ± 14,37
PB	157	100	124,3 ± 9,85
TG	138	107	121 ± 5,74

Keterangan: LD = lingkaran dada
PB = panjang badan
TG = tinggi gumba

Keragaman Lokus Mikrosatelit DRBP1 Gen BoLA

Analisis mikrosatelit DRBP1 gen BoLA pada 55 ekor sapi jantan yang

dipelihara di Pusat pembibitan Balai Pembibitan Ternak Unggul Sapi Bali menemukan 5 alel. Panjang alel bervariasi antara 108-136 bp. Frekuensi alel terendah

adalah alel 128 bp (6,36 %), sedangkan alel terbanyak adalah alel 122 bp dengan frekuensi 25,45% (Tabel 2).

Tabel 2. Distribusi dan frekuensi alel DRBP1 pada populasi sapi Bali jantan

Lokus	Jenis alel	Alel	Frekuensi alel (%)
DRBP1	5	108	21,28
		114	22,73
		122	25,45
		128	6,36
		136	23,64

Polimorfisme suatu lokus bervariasi antar populasi. Pada penelitian ini ditemukan 5 buah alel. Sedangkan, Changadeva *et al.* (2012) yang melakukan penelitian keragaman DNA mikrosatelit pada sapi Zebu menemukan 13 alel, dan Bastos-Silveira *et al.* (2008) menemukan 12 alel pada sapi asli Portugis, serta oleh Acosta-Rodriguez *et al.* (2005) menemukan 10 alel pada jenis sapi yang sama. Hasil penelitian ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Ellegren *et al.* (1992) bahwa pseudogen DRB1 (DRBP1) yang terpaut dengan DRB3 pada gen BoLA juga sifatnya polimorfik. Adanya perbedaan jumlah alel yang ditemukan pada masing-masing penelitian dipengaruhi oleh sejarah evolusi dari ternak tersebut.

Nilai Heterozigositas dan *polymorphic information content* (PIC) ditampilkan pada Tabel 3. Nilai heterozigositas dan

polymorphic information content (PIC) lokus DNA mikrosatelit DRBP1 pada penelitian ini adalah 0,783 dan 0,738, sedangkan hasil penelitian Changadeva (2012) memperoleh heterozigositas 0,849 dan PIC 0,833. Keragaman genetik dapat diukur dari nilai heterozigositas (h) dan *polymorphic information content* (PIC). PIC merupakan suatu nilai yang dapat digunakan sebagai penentu derajat informasi dari suatu marker yang digunakan (Botstein *et al.*, 1980). Nilai PIC erat kaitannya dengan jumlah alel yang ditemukan dalam suatu lokus dalam satu populasi ternak. Semakin tinggi nilai PIC maka semakin informatif lokus tersebut. Nilai PIC yang cukup tinggi memberi indikasi sampel dikategorikan masih heterogen dan terindikasi sedikit terjadi seleksi untuk karakteristik tertentu.

Tabel 3. *Expected Heterozygosity* (HE), *observed heterozygosity* (HO) dan *polymorphic information content* (PIC) pada Sapi Bali jantan

Lokus	HE	HO	(PIC)
DRBP1	0,783	0,891	0,738

Asosiasi Lokus Mikrosatelit DRBP1

Gen BoLA dengan Ukuran Tubuh

Analisis ragam menunjukkan tidak ada hubungan ($P > 0,05$) antara polimorfisme lokus mikrosatelit DRBP1 gen BoLA (*Bovine Leucocyte Antigen*)

dengan lingkar dada, panjang badan, dan tinggi gumba pada sapi Bali jantan (Tabel 4, Tabel 5 dan Tabel 6).

Tabel 4. Analisis Ragam Asosiasi lokus DNA Mikrosatelit DRBP1 gen BoLA (*bovine leucocyte antigen*) dengan Lingkar Dada

Sumber ragam	Db	JK	KT	F	P nyata
Alel	4	544,266	136,066	0,674	0,611
Galat	105	21186,498	201,776		
Total	109	21730,764			

Tabel 5. Analisis Ragam Asosiasi lokus DNA Mikrosatelit DRBP1 Gen BoLA (*Bovine Leucocyte Antigen*) dengan Panjang Badan

Sumber ragam	Db	JK	KT	F	P nyata
Alel	4	430,467	107,617	1,136	0,344
Galat	105	9943,797	94,703		
Total	109	10374,264			

Tabel 6. Analisis Ragam Asosiasi lokus DNA Mikrosatelit DRBP1 Gen BoLA (*Bovine Leucocyte Antigen*) dengan Tinggi Gumba

Sumber ragam	Db	JK	KT	F	P nyata
Alel	4	66,198	16,550	0,539	0,707
Galat	105	3224,520	30,710		
Total	109	3290,718			

Hasil analisis statistik mengindikasikan bahwa walaupun lokus DRBP1 bersifat polimorfik dan terpaut dengan DRB3, DRBP1 bukan merupakan gen yang berperan dalam penentuan sifat ukuran tubuh. Dengan demikian lokus mikrosatelit DRBP1 gen BoLA bukan merupakan salah satu lokus mikrosatelit yang berperan mempengaruhi sifat produksi pada sapi Bali, seperti yang diungkapkan oleh Hiendleder *et al.* (2003) dan Kühn *et al.* (2003) bahwa mikrosatelit digunakan untuk memetakan lokus gen yang berperan mempengaruhi sifat produksi pada hewan. Tidak terjadinya

asosiasi lokus DRBP1 dengan ukuran tubuh sejalan dengan pernyataan Grinola dan Mao (1995), yang menyatakan bahwa dari beberapa penelitian alel yang spesifik pada gen BoLA tidak konsisten terhadap sifat nonimonologi seperti pertumbuhan, berat lahir, berat sapih, karkas, dan fertilitas pada sapi.

KESIMPULAN

Lokus mikrosatelit DRBP1 gen BoLa bersifat polimorfik pada sapi bali namun tidak berasosiasi dengan ukuran tubuh.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Kepala Balai Pembibitan Ternak Unggul Sapi Bali yang telah memberikan ijin untuk penelitian. Apresiasi juga ditujukan kepada seluruh staf yang telah membantu dalam pengambilan sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Acosta-Rodriguez R, Alonso-Morales RR, Balladares S, Flores-Aguilar H, Garcia-Vazques Z, Gorodezky C. 2005. Analysis of BoLA class II Microsatellites in cattle infested with *Boophilus microplus* ticks, Class II is probably associated with susceptibility. *Vet Parasitol.*, 127 : 313-21.
- Amills M, Ramiya V, Nonmine J, Lewin HA. 1998. The major histocompatibility complex of ruminants. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 17 (1), 108-120.
- Bastos-Silveira C, Luís C, Ginja C, Gama LT, Oom MM. 2008. Genetic variation in BoLA microsatellite loci in Portuguese cattle breeds. *Animal Genetic* 40: 101-105.
- Changadeva W, Anggrey JDA, Jhon CN, Mizeck GGC, Emmanuel K. 2012. Genetic Diversity and Population Structure of Malawi Zebu Cattle. *International Journal of Physical and Social Sciences. Http://www.ijmra.us.*
- Darmadja SGND. 1980. Setengah abad peternakan sapi tradisional dalam ekosistem pertanian di Bali (Disertasi). Program Pascasarjana, Universitas Padjajaran. Bandung.
- Ellegren H, Davies CJ, Andersson L. 1992. Strong association between polymorphisms in an intronic microsatellite and in the coding sequence of the BoLA-DRB3 gene: implications for microsatellite stability and PCR-based DRB3 typing. *Anim. Genet.* 24: 269-275.
- Geldermann H, Manzoor R, Andreas WK, Heinz B. 2006. OLA-DRB1 Microsatellite Variants are Associated with Ovine Growth and Reproduction Traits. *Genet. Sel.Evol.*38 : 431- 444.
- Hillis DM, Morits C, Mable BK. 1996. *Molecularr systematic 2nd Edition*, Sinaur Associates inc. Publisehrs, Sunderland, Masschusetts,USA.
- Kantanen J, Olsaker I, Holm LE, Lien S, Vilkki J, Brusgaard K, Eythorsdottir E, Danell B, Adalsteinsson S. 2000. Genetic Diversity and Population Structure of 20 North European Cattle Breeds. *The Journal of Heredity.* 91(6).
- Kusza Sz, Bosze Zs, Kukovicks S, Javor A. 2004. Genetic assay of Caprine Arthritis Encephalitis in the Hungaria

- Goat Herd. *South African Journal of Animal Science*, 34(1).
- Meuwissen THE, Goddard ME. 1996. The use of markers haplotypes in animal breeding schemes. *Genet.Sel.Evol.* 28:161-178.
- Noor RR, Muladno, Benyamin B, Hedah Z, Herliantin. 2000. Uji kemurnian Sapi Bali melalui Protein, DNA Mikrosatelit, Struktur Bulu dan Kromosom, (Laporan Penelitian). Fakultas Peternakan IPB Bogor dan Badan Inseminasi Buatan Singosari.
- Pane, I. 1990. Upaya Peningkatan Mutu Genetik Sapi Bali. Upaya Peningkatan Mutu Genetik Sapi Bali. Dalam :
- Makalah Seminar Nasional Sapi Bali. Denpasar : 20-22 September 1990.
- Qiagen. 2007. QiAamp DNA mini and Blood mini Handbook. Second Edition. Nopember 2007: 27-29.
- Sachinandan D, Singh RK, Brahma D. 2011. Allelic Diversity of Major Histocompatibilty Complex Class II DRB Gene in Indian Cattle and Buffalo. *Molekular Biology Internasional.*
- Winaya A, Muladno, Tappa B. 2000. Panel 16 Lokus Mikroastelit untuk Deteksi Polimorfisme dan Hubungan Filogenetik pada Genom Sapi. *Med.Vet.24:2.*