



**Laporan Pelaksanaan Kegiatan Hibah Kompetensi**

**JUDUL KEGIATAN:**

**APLIKASI GEN CALPASTATIN, MYOSTATIN DAN CALPAIN SEBAGAI  
MARKA DALAM SELEKSI PENINGKATAN BOBOT POTONG DAN  
KUALITAS KARKAS PADA DOMBA DI UP3J FAPET-IPB**

**Prof. Dr. Ir. Cece Sumantri, M.Agr.Sc**

**Dr. Jakaria, S.Pt, M.Si**

**Dr. Ir. M. Yamin M.Agr.Sc**

**Dr. Ir. Henny Nuraini, M.Si**

**Bramada Winiar, S.Pt**

**Eryk Andreas, S.Pt**

**Angkatan II untuk pendanaan tahun 2009**

**Dibiayai oleh Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi**

**Departemen Pendidikan Nasional**

**Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Kompetensi**

**Nomor: 219/SP2H/PP/DP2M/V/2009, tanggal 30 Mei 2009**

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

**2009**

**Lembar Pengesahan**  
**HIBAH KOMPETENSI**

1. Judul Kegiatan : Aplikasi Gen Capastatin, Myostatin dan Calpain Sebagai Marka dalam Seleksi Peningkatan Bobot Potong dan Kualitas Karkas pada Domba di UP3J Fapet -IPB
2. Jenis Kegiatan : Penelitian
3. Nama Ketua Tim Pengusul : Prof. Dr.Ir. Cece Sumantri, M.Agr.Sc
4. Jurusan : Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan  
Fakultas : Peternakan  
Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor
5. Alamat : Jl. Rasamala Kampus IPB Darmaga Bogor  
Kode Pos: 16680  
No. Telepon/Faks : (0251) 8628379  
E-mail : cece\_sumantri12@yahoo.com  
No. Telepon Rumah : 0251-8342397
6. Lamanya Kegiatan : 3 Tahun

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Peternakan  
Institut Pertanian Bogor

Bogor, 17 Nopember 2009  
Ketua Peneliti,

(Dr. Ir. Luki Abdullah, M.Sc.Agr)  
NIP. 19670107 199103 1 003

(Prof. Dr. Ir. Cece Sumantri, M.Agr.Sc)  
NIP. 19591212 198603 1 004

Menyetujui;  
Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat  
Institut Pertanian Bogor

(Prof. Dr.Ir. Bambang Pramudya, M.Eng)  
NIP. 19500301 197603 1 001

## I. RINGKASAN

Domba lokal mempunyai keunggulan tersendiri untuk dilindungi dan dikembangkan karena mempunyai beberapa keunggulan, seperti mampu beradaptasi dengan baik pada lingkungan tropis, mampu beranak sepanjang tahun, kebal terhadap beberapa macam penyakit dan parasit. Beberapa kelemahan pada domba lokal diantaranya bobot tubuh dan ukuran-ukuran tubuh lainnya mempunyai keragaman yang sangat tinggi dan kualitas daging masih belum memenuhi standar pasar Internasional. Perbaikan mutu genetik domba lokal melalui seleksi kearah produktivitas tinggi dan domba pedaging berkualitas perlu dikembangkan secara nasional karena kontribusi daging domba terhadap produksi daging nasional hanya 66.500 ton (3,15%) dari total produksi daging dalam negeri (DJBPP, 2005). Kemajuan dalam bidang biologi molekuler memungkinkan upaya seleksi dapat dilakukan pada tingkat DNA, yaitu dengan cara mencari keragaman gen yang mengontrol sifat ekonomis. Salah satu marka gen yang ada hubungannya dengan bobot badan pada domba lokal yaitu gen calpastatin (Sumantri *et al.* 2008), gen calpastatin sangat berpengaruh terhadap kualitas daging terutama keempukan daging (Koochmaraie *et al.*, 1995). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi pengaruh genotipe calpastatin, myostatin dan calpain terhadap parameter produktivitas (bobot lahir anak, pertumbuhan prasapih dan setelah sapih, bobot dewasa kelamin dan bobot potong), dan kualitas karkas secara fisik maupun komposisi kimia daging. Manfaat hasil yang diharapkan dari penelitian ini adalah (1) untuk mendapatkan data dasar tentang pengaruh genotipe calpastatin, myostatin dan calpain terhadap parameter produktivitas (bobot lahir anak, pertumbuhan pra-sapih dan setelah sapih, bobot dewasa kelamin dan bobot potong), dan kualitas karkas secara fisik maupun keempukan daging. (2) untuk mendapatkan galur domba lokal dengan sifat produktivitas tinggi dan karkas berkualitas terutama keempukan dagingnya spesifik.

Penelitian pada tahun ke-1 (2009) melakukan kegiatan (1) isolasi sampel DNA dari darah domba lokal indukan dan pejantan, (2) genotyping gen calpastatin (NN, MN dan MM), myostatin (AA) dan calpain (GG,GT dan TT), (3) melakukan pengamatan pertumbuhan anak dari induk bergenotipe calpastatin (NN, MN dan MM), myostatin (AA) dan calpain (GG,GT dan TT) dan (4) melakukan penelitian pendahuluan tentang karkas (kualitas karkas potongan komersil) pada sampel

individu terbatas (5) menganalisis hubungan genotipe gen calpastatin, myostatin dan calpain dengan bobot badan dan pertumbuhan.

Penelitian pada tahun ke-2 (2010) melakukan kegiatan (1) perbanyak populasi dengan mengawinkan individu bergenotipe (MMGG x MMGG, MMGT x MMGT, MMTT x MMTT, MNGG x MNGG, MNGT x MNGT, MNNT x MNNT), jadi totalnya ada 6 macam tipe genotipe, (2) menganalisis asosiasi genotipe gen calpastatin, myostatin dan calpain dengan produktivitas pada keturunan hasil persilangannya.

Penelitian pada tahun ke-3 (2011) menganalisis asosiasi genotipe gen calpastatin, myostatin dan calpain dengan kualitas karkas dan kimia daging. Semua kegiatan penelitian direncanakan pelaksanaannya selesai dalam 3 tahun.

## II. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Domba lokal di Unit Pendidikan dan Penelitian Peternakan Jonggol (UP3J) Jonggol merupakan domba ekor tipis silangan dengan domba Garut. Domba ini telah dipelihara dengan sistem manajemen penggembalaan sejak tahun 1980 di UP3J dan terseleksi secara alami untuk lingkungan panas dan kering (UP3J, 1992). Sumantri *et al.*, (2007) melaporkan domba Jonggol jantan dewasa mempunyai bobot badan sebesar 34,9 kg, sedangkan bobot badan domba betina sebesar 26,11 kg. Bobot badan domba Jonggol lebih tinggi bila dibandingkan sejumlah domba lokal lainnya misalnya bila dibandingkan dengan bobot badan dewasa jantan dan betina dari domba Donggala (24,0 dan 25,3 kg), Kisar (25,8 dan 18,9 kg), dan Rote (27,9 dan 20,3 kg), akan tetapi hampir sama dengan bobot dewasa domba jantan dan betina dari Sumbawa (33,8 dan 26,9 kg). Selanjutnya Sumantri *et al.*, (2007) melaporkan berdasarkan hasil pohon fenogram domba lokal di UP3J Jonggol merupakan domba unik dan berbeda dengan dengan lokal lainnya di Indonesia. Berdasarkan hasil kajian molekuler seperti DNA mikrosatelit (Sumantri *et al.*, 2008a), gen calpastatin (Sumantri *et al.*, 2008b), gen Pit-1 (Sumantri *et al.*, 2008c), gen  $\kappa$ -kasein (Sumantri *et al.*, 2008d) menunjukkan keragaman genetik pada domba di UP3J Fapet-IPB cukup tinggi, sehingga seleksi sangat mungkin untuk dilakukan.

Penelitian ini merupakan penelitian aplikasi berbasis marka gen calpastatin dari penemuan sebelumnya pada domba lokal di Unit lapangan yang terkontrol (UP3J Jonggol), kemudian dikombinasikan dengan gen myostatin dan calpain. Rancangan riset dapat dilihat pada (Tabel.1) dan diagram alir (Gambar.1). Aspek produktivitas yang diamati meliputi: bobot lahir, pertumbuhan periode menyusui (pra sapih), bobot sapih, pertumbuhan lepas sapih, bobot dewasa kelamin dan bobot potong. Aspek kualitas karkas meliputi: bobot karkas, warna daging, lemak intramuscular, profil asam lemak, ketebalan dan luas otot keempukan, pH, Flavour dan bau. Pengembangan selanjutnya dilakukan perbanyakan populasi melalui perkawinan berdasarkan genotipe kombinasi calpastatin dengan calpain (MMGG x MMGG, MMGT x MMGT, MMTT x MMTT, MNGG x MNGG, MNGT x MNGT, MNNT x MNNT), jadi totalnya ada 6 macam tipe genotipe, untuk selanjutnya dikombinasikan dengan gen myostatin. Selanjutnya akan di uji pengaruh genotipe

terhadap aspek produktivitas dan kualitas karkas. Berdasarkan hasil uji sementara pada sampel domba yang relatif sedikit ada hubungan yang positif antara genotipe MM dengan bobot badan, tetapi untuk kualitas karkas pada domba lokal belum ada informasi.

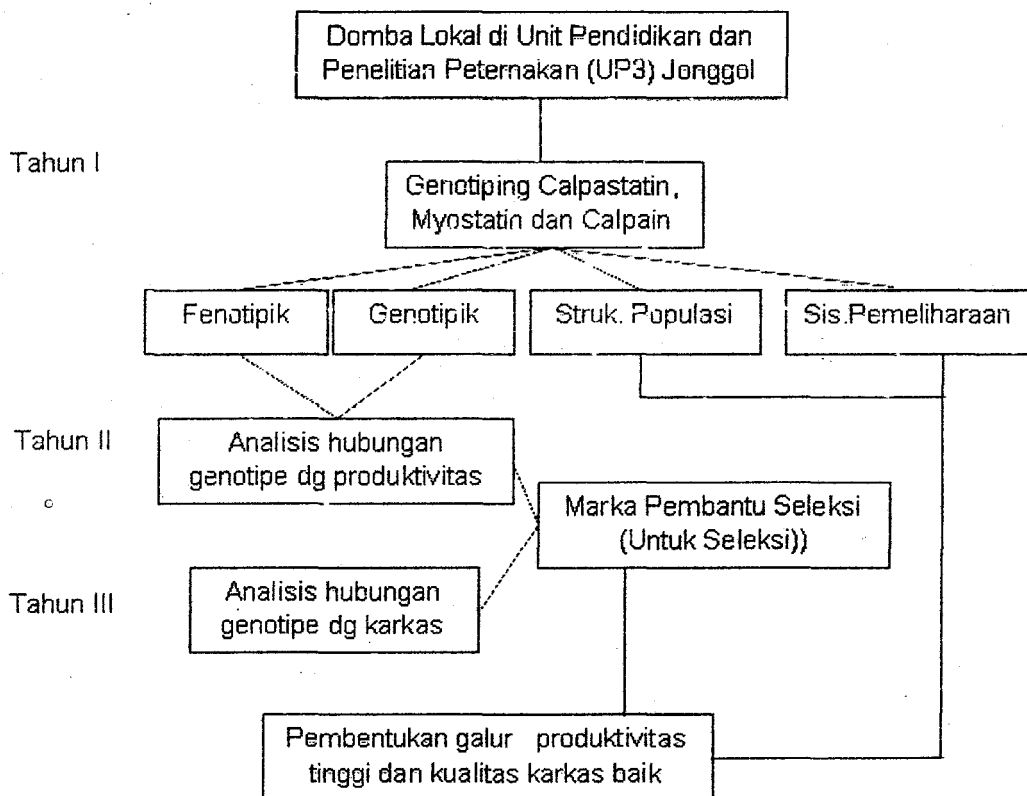
### B. Roadmap dan Tujuan Kegiatan

Tujuan penelitian ini untuk mengobservasi bagaimana pengaruh genotipe gen calpastatin secara tunggal dan kombinasi dengan gen myostatin dan calpain terhadap produktivitas dan kualitas karkas domba lokal ekor tipis yang berkembang di wilayah Jawa Barat. Diharapkan dalam jangka panjang gen ini akan diintroduksi melalui persilangan pada domba lokal ekor gemuk unggul (berproduktivitas tinggi kualitas karkas baik) untuk kondisi lingkungan kering berkembang di wilayah Indonesia Timur.

Tabel 1. Rancangan (Design) Riset

No	Aspek Kegiatan	Tahapan Kemajuan Pelaksanaan		
		Tahun I	Tahun II	Tahun III
1.	Masalah penelitian	Mendeteksi keragaman gen calpastatin, myostatin dan calpain di UP3J Fapet IPB	Pengaruh genotipe gen calpastatin, myostatin dan calpain terhadap produktivitas pada generasi I	Pengaruh genotipe gen calpastatin, myostatin dan calpain terhadap kualitas karkas dan daging pada generasi I
2	Model dan Variabel Penelitian	Isolasi DNA, PCR-RFLP dan Genotiping, individu bergenotipe gen calpastatin (NN, MN dan MM) myostatin (AA) dan calpain (GG, GT dan TT)	Mengamati produktivitas domba (Bobot lahir, pertumbuhan pra-sapih dan pre-sapih, bobot dewasa kelamin dan bobot potong) setiap genotipe pada generasi I	Mengamati kualitas karkas (bobot karkas, perlemakan, ketebalan dan luas otot, fisik dan kimia karkas pada generasi I
3	Teknik Pengumpulan Data	Perbanyakkan populasi dengan persilangan antar genotipe calpastatin (NN x NN), (MN x MN) dan (MM x MM), myostatin dan calpain (GG,GT dan TT) untuk menghasilkan generasi I	Pengukuran pertumbuhan morfometri tubuh dan penimbangan bobot badan berdasarkan genotipe pada generasi I	Pengukuran kualitas karkas melalui uji fisik dan kimia daging pada generasi I

4	Teknik Pengolahan Data	Untuk data sifat kuantitatif dilakukan analisis morfometrik (keragaman)	Analisis hubungan data genotipe dengan aspek produktivitas	Analisis hubungan data genotipe dengan kualitas karkas
5	Hasil Analisis dan Interpretasi Data	mendapatkan karakteristik dan tingkat keragaman fenotipik	Mengobservasi pengaruh genotipe terhadap produktivitas	Mengobservasi pengaruh genotipe terhadap kualitas karkas
6	Generalisasi dan Rekomendasi	Karakteristik fenotipik ternak berdasarkan genotype calpastatin, myostatin dan calpain untuk perbaikan mutu genetik ternak. lokal.	Rekomendasi peningkatan produktivitas melalui seleksi berdasarkan genotipe.	Rekomendasi peningkatan kualitas karkas melalui seleksi berdasarkan genotipe.



Gambar 1. Diagram alir penelitian di Unit Pendidikan dan Penelitian Peternakan Jonggol-IPB (UP3J)

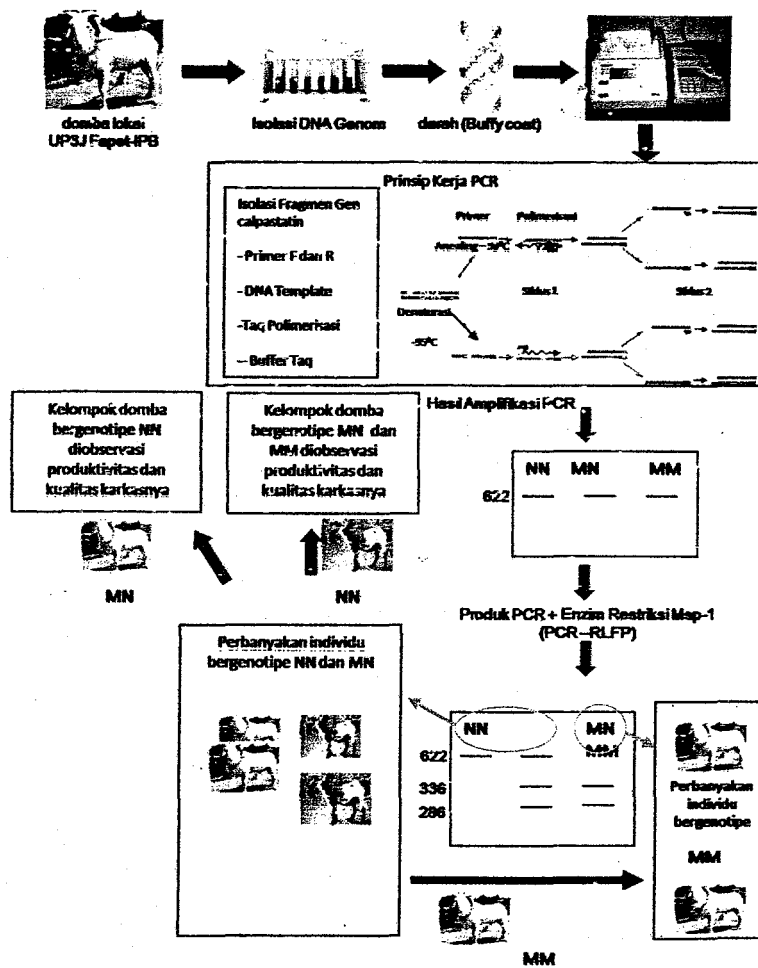
### C. Penerapan Hasil Kegiatan

Nilai ekonomis karkas tergantung dari beberapa faktor diantaranya umur, proporsi jaringan utama (otot, lemak dan tulang) dan distribusinya, ketebalan otot, komposisi kimia daging, penampilan fisik daging dan kualitas daging (Kemster, *et al.*, 1982 ). Beberapa faktor yang mempengaruhi bau dan rasa dari daging domba (Young *et al.*, 1994) diantaranya umur, pakan, bangsa, jenis kelamin dan penanganan pasca pemotongan. Calpain merupakan sebuah enzim *proteolytic* terkait dengan ion kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), calpain terbagi dalam dua bentuk, yaitu  $\mu$ -calpain dan m-calpain,  $\mu$ -calpain merupakan calpain yang memerlukan ion  $\text{Ca}^{2+}$  dalam konsentrasi rendah, sedangkan m-calpain merupakan calpain yang memerlukan ion  $\text{Ca}^{2+}$  dalam konsentrasi tinggi. Calpain berfungsi untuk mendegradasi protein sel-sel otot (myofibril) di dalam jaringan otot (Goll *et al.*, 1992). Selanjutnya dinyatakan oleh Killefer dan Koohmaraie (1993) bahwa aktivitas calpain dalam jaringan otot *postmortem* dapat menyebabkan struktur protein sel otot menjadi lemah. Hal ini berakibat pada kualitas daging yang menjadi lebih empuk. Selain  $\mu$ -calpain dan m-calpain, dalam sistem calpain juga terdapat calpastatin. Calpastatin ini merupakan inhibitor spesifik terhadap fungsi  $\mu$ -calpain dan m-calpain. Morgan *et al.* (1993) melaporkan bahwa ketika aktivitas degradasi protein pada jaringan otot hewan hidup menurun, maka aktivitas calpastatin meningkat. Gen calpastatin terletak pada kromosom domba nomer 5 (Hediger *et al.*, 1991) sedangkan pada ternak sapi (*Bos taurus*) terletak pada kromosom nomer 7 (Bishop *et al.*, 1993; Kappes *et al.*, 1997). Palmer *et al.* (1998) melaporkan bahwa terdapat keragaman gen calpastatin domba Dorset. Hasil pemotongan produk PCR dengan enzim restriksi *MspI* dan *NcoI* menghasilkan dua alel, yaitu alel M dan N. Enzim restriksi *MspI* menghasilkan produk 336 dan 286 pasang basa (pb) sedangkan dengan *NcoI* menghasilkan potongan produk 374 dan 248 bp. Chung *et al.* (1999) menemukan dua alel, yaitu alel A dan B. Keragaman gen calpastatin tersebut terkait erat dengan sifat pertumbuhan sapi Angus jantan. Sapi Angus dengan genotipe BB mempunyai bobot badan lebih tinggi dari pada sapi dengan genotipe AB dan AA.

Hasil analisis *Quantitative Traits Loci* (QTL) menunjukkan bahwa gen *calpastatin* berasosiasi kuat dengan sifat pertumbuhan pada domba silang balik antara domba ekor tipis/DET dengan domba Merino (Margawati, 2005). Sumantri *et*



*al.*, (2007) melaporkan adanya hubungan yang kuat antara gen calpastatin dengan bobot badan pada domba lokal, individu bergenotipe MN mempunyai bobot badan lebih besar daripada individu bergenotipe NN. Frekuensi gen (M) sangat bervariasi tertinggi pada domba Garut tangkas Ciomas/Bogor (0,29), Garut Margawati (0,24), Domba Ekor Tipis Jonggol/Bogor (0,16) terendah pada domba Madura dan Sumbawa (0,04). Lebih lanjut Sumantri *et al.*, (2007) melaporkan meskipun frekuensi gen M di tiga populasi berkisar 0,16-0,29, tetapi individu bergenotipe MM tidak ditemukan pada domba lokal yang diobservasi. Fenomena ini kemungkinan disebabkan oleh seleksi negatif, domba domba berbobot badan besar kemungkinan besar bergenotipe MM banyak dipotong. Penelitian ini dirancang untuk mendapatkan galur domba lokal dengan sifat produktivitas tinggi dan karkas berkualitas terutama keempukan dagingnya spesifik.



Gambar 2. Diagram genotyping berbasis gen calpastatin-calpain dan pola perbanyakannya

### III. LUARAN KEGIATAN

Pada akhir penelitian akan diperoleh beberapa keluaran, yaitu:

1. Didapatkan data keragaman fenotipik berdasarkan genotipe calpastatin (NN, MN, dan MM), kombinasi dua gen (calpstatin/myostatin, calpastatin/calpain, myostatin/calpain) atau tiga gen (calpastatin/myostatin/calpain).
2. Perbanyak galur domba berdasarkan bergenotipe calpastatin (NN, MN dan MM) dan kombinasi dengan calpain (GG,GT dan TT)
3. Didapatkan sistem pengelolaan domba lokal berproduktivitas tinggi dengan kualitas karkas baik (potongan komersil dan kualitas dagingnya)
4. Hasil yang diperoleh akan menjadi dasar pembuatan kebijakan perbaikan mutu genetik domba lokal secara lebih tepat, terarah, terpadu dan berkelanjutan.

Untuk publikasi direncanakan akan diajukan pemuatan pada jurnal nasional maupun internasional. Adapun jurnal nasional (terakreditasi Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional) antara lain *Jurnal Hayati F-MIPA Biologi IPB*, *Media Peternakan*, *Fapet IPB*, *J. Ilmu Ternak dan Veteriner* (terakreditasi Deptan) dan untuk internasional yaitu *Jurnal of Animal Genetics* dan *Jurnal of Animal Science*.

Disamping upaya pemuatan ke jurnal-jurnal ilmiah, maka apabila ada bertepatan dengan acara-acara seminar maupun workshop tentang bioteknologi, konservasi genetik, maupun pemuliaan ternak, diusahakan pula publikasi hasil-hasil penelitian ini dibukukan sebagai bahan pegangan untuk mata kuliah Aplikasi genetika molekuler dalam peningkatan produktivitas, kualitas karkas dan keempukan daging.

#### IV. METODE PELAKSANAAN

##### a. Isolasi dan Deteksi Keragaman Gen Calpastatin, Myostatin dan Calpain

DNA genom dari 170 ekor domba di UP3J diisolasi dari sel darah utuh (*Whole blood*). Darah ditampung dengan menggunakan tabung *vaccumtainer* dari vena jugularis (sekitar 10 ml). Prosedur ekstraksi DNA darah didasarkan pada metode standar fenol-kloroform (Sambrook *et al.*, 1989). Metode *Restriction Fragment Length Polymorphisms* (RFLP) digunakan untuk mengidentifikasi keragaman gen. Reaksi PCR dilakukan dengan volume total 25  $\mu$ l dari campuran larutan yang terdiri dari DNA *Taq* Polimerase dan 10X buffer *Taq* Polimerase (100 mM tris-Cl, pH 8.3; 500mM KCL; 15mM MgCl<sub>2</sub>; 0.01 % gelatin); dNTP'S mix (dGTP, dATP, dTTP dan dCTP) (Pharmacia); dan dH<sub>2</sub>O steril. Sedangkan kondisi untuk reaksi PCR dalam mesin *thermocycler* dirancang dengan suhu pra-denaturasi 93<sup>0</sup>C, denaturasi 94<sup>0</sup>C, annealing 58-60<sup>0</sup>C, perpanjangan 72<sup>0</sup>C dan pasca PCR 4<sup>0</sup>C. Untuk perbanyak, siklus diulang sebanyak 30 kali.

##### b. Analisis Keragaman Genetik

Keragaman genetik pada domba diukur dengan nilai rata-rata heterozigositas (H) pada semua lokus, baik lokus polimorfik maupun monomorfik. Tahapan perhitungan keragaman genetik berdasarkan petunjuk Nei (1987).

##### c. Pengukuran Sifat Fisik Daging

1. Pengukuran pH daging dilakukan pada pH 4 dan 7. pH meter dimasukkan kedalam 100 ml aquades yang mengandung 10 gr daging dicincang, dan diblender.
2. Pengukuran tingkat keempukan daging ditunjukkan oleh besarnya kekuatan ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ ) yang diperlukan untuk memotong core daging yang ditunjukkan oleh jarum penunjuk alat pemotong daging Warner Bratzler Device yang bergerak diatas skala dengan kepekaan pengukuran 0,1  $\text{kg}/\text{cm}^2$ .
3. Pengukuran daya mengikat air (Water Holding Capacity) diukur dengan planimeter dengan cara mencari jumlah air yang keluar ( $\text{mgH}_2\text{O}$ ).
4. Pengukuran susut masak (Cooking Loss) diukur berat awal dikurangi berat setelah masak.

Pengukuran persentase lemak (Metode Hobart) diukur dengan menghitung cairan lemak yang keluar dari pemanasan sebanyak 56,7 gr daging pada cakram pemanas selama 15 menit.

**d. Analisis Data**

Untuk melihat pengaruh beberapa ukuran linear tubuh terhadap kualitas daging digunakan model terbaik (*Best Regression*) dari Analisis Regresi Berganda dengan model sebagai berikut :

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_6 X_6 + \varepsilon$$

dimana: Y = Kualitas daging,  $\beta_0 - \beta_6$  = Koefisien regresi,  $X_1$  = bobot potong,  $X_2$  = bobot karkas

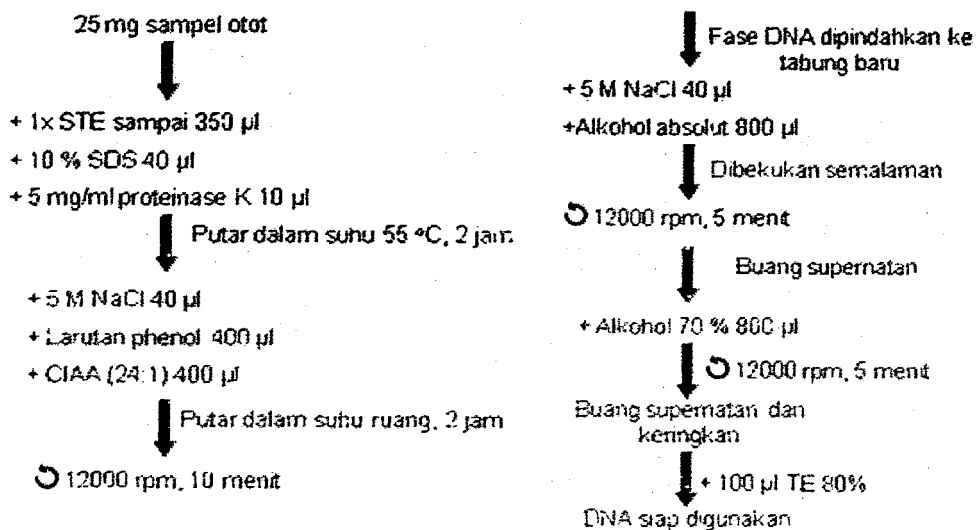
$X_3$  = umur,  $X_4$  = jenis kelamin,  $X_5$  = kualitas karkas,  $X_6$  = genotipe gen

## V. URAIAN KEGIATAN YANG TELAH DILAKSANAKAN

### Isolasi DNA Genom dan Genotiping Gen Myostatin, Calpastatin dan Calpain

#### 1. Ekstraksi DNA

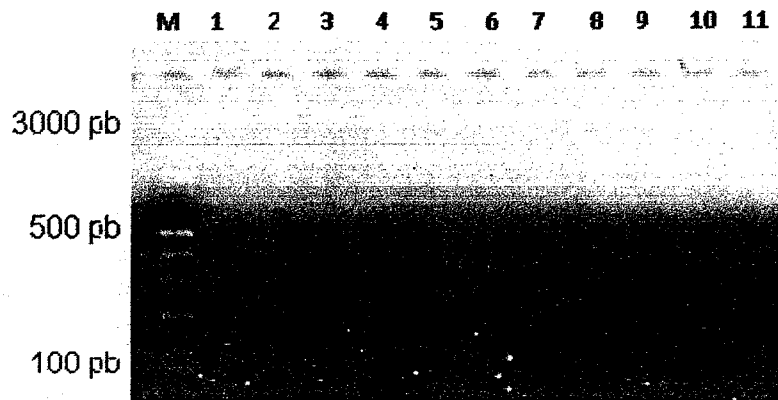
Ekstraksi DNA dilakukan dari sampel darah domba sebanyak 170 sampel yang berasal dari UP3 Jonggol masing-masing terdiri atas 50 ekor jantan muda, 50 ekor betina muda, 48 ekor induk dewasa, 5 ekor jantan dewasa dan 17 karkas. Isolasi dilakukan dengan menggunakan metode Sambrook *et al.*, (1987) yang telah dimodifikasi (Gbr.3)



Gambar 3. Prosedur Ekstraksi DNA (Sambrook *et al.*, 1987)

#### 2. Pengujian DNA Hasil Ekstraksi Secara Kualitatif

Pengujian DNA hasil ekstraksi dilakukan dengan elektroforesis pada gel agarose 1,5% yang dijalankan pada tegangan 100 v selama 40 menit. Hasil visualisasi DNA hasil ekstraksi disajikan pada gambar 4.

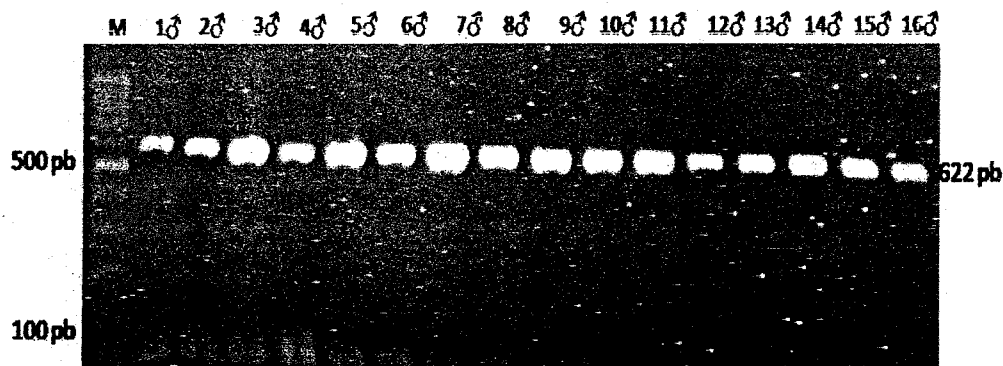


Gambar 4. Visualisasi DNA Hasil Ekstraksi pada Gel Agarose 1%

### 3. Amplifikasi dan Genotyping Ruas Gen Calpastatin

Amplifikasi ruas gen calpastatin dilakukan pada mesin Thermocycler dengan kondisi suhu denaturasi awal 95°C selama 5 menit, 35 siklus dengan suhu denaturasi 95°C selama 45 detik, Annealing 62°C selama 1 menit dan Ekstensi 72°C selama 1 menit °C, dan suhu ekstensi akhir 72°C selama 5 menit. Komposisi pereaksi yang digunakan terdiri atas 2 µl sampel DNA cetakan, primer 1 pmol, dNTPs 200 µM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, dan 0,5 unit *taq polymerase* (Vivantis) dan bufernya dalam larutan total 25 µl.

Produk hasil Amplifikasi divisualisasikan pada gel agarose 1,5% (gambar 5), dan kemudian dilakukan analisis RFLP dengan menambahkan 3 unit enzim restriksi *MspI* (Fermentas) beserta bufernya pada 5 µl produk amplifikasi yang kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama over night. Hasil analisis RFLP divisualisasikan pada gel agarose 1,5% (gambar 6).



Gambar 5. Gel Hasil PCR Ruas Gen Calpastatin. M: Marker 100 pb, 1♂-13♂: Produk PCR Calpastatin, 622 bp.

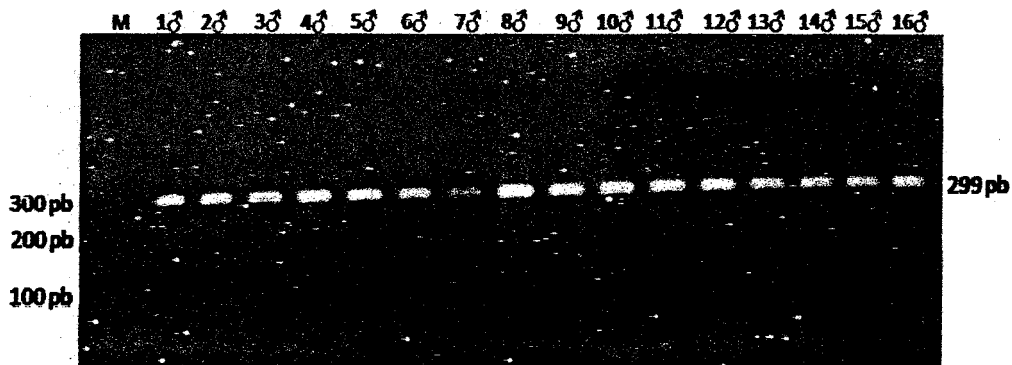


Gambar 6. Gel Hasil RFLP Ruas Gen Calpastatin|MspI. M: Marker 100 bp, MM: 336 dan 286 pb, MN: 622, 336 dan 286 pb, dan NN: 622 pb.

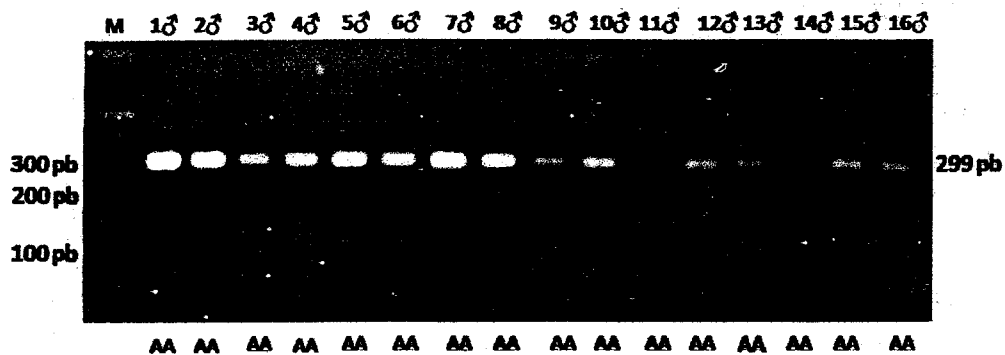
#### 4. Amplifikasi dan Genotyping Ruas Gen Myostatin

Amplifikasi ruas gen calpastatin dilakukan pada mesin Thermocycler dengan kondisi suhu denaturasi awal 95°C selama 5 menit, 35 siklus dengan suhu denaturasi 95°C selama 45 detik, Annealing 60°C selama 45 menit dan Ekstensi 72°C selama 1 menit °C, dan suhu ekstensi akhir 72°C selama 5 menit. Komposisi pereaksi yang digunakan terdiri atas 2 µl sampel DNA cetakan, primer 1 pmol, dNTPs 200 µM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, dan 0,5 unit *taq polymerase* (Vivantis) dan bufernya dalam larutan total 25 µl.

Produk hasil Amplifikasi divisualisasikan pada gel agarose 1,5% (gambar 7), dan kemudian dilakukan analisis RFLP dengan menambahkan 3 unit enzim restriksi MspI (*Fermentas*) beserta bufernya pada 5 µl produk amplifikasi yang kemudian diikubasikan pada suhu 37°C selama over night. Hasil analisis RFLP divisualisasikan pada gel agarose 1,5% (gambar 8).



Gambar 7. Gel Hasil PCR Ruas Gen Myostatin. M: Marker 100 pb, 1♂-16♂: Produk PCR Myostatin, 299 bp.

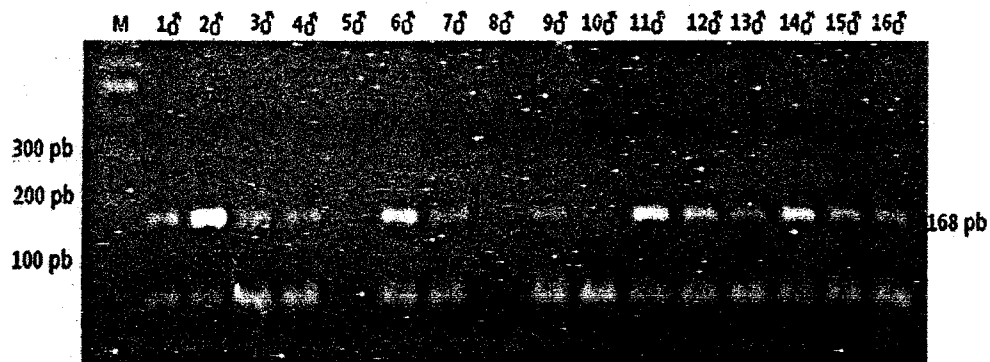


Gambar 8. Gel Hasil RFLP Ruas Gen Myostatin|MspI. M: Marker 100 bp, AA: 299 bp

### 5. Amplifikasi dan Genotyping Ruas Gen Calpain

Amplifikasi ruas gen calpastatin dilakukan pada mesin Thermocycler dengan kondisi suhu denaturasi awal 95°C selama 5 menit, 35 siklus dengan suhu denaturasi 95°C selama 45 detik, Annealing 60°C selama 45 menit dan Ekstensi 72°C selama 1 menit °C, dan suhu ekstensi akhir 72°C selama 5 menit. Komposisi pereaksi yang digunakan terdiri atas 2 µl sampel DNA cetakan, primer 1 pmol, dNTPs 200 µM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, dan 0,5 unit *taq* polymerase (*Vivantis*) dan bufernya dalam larutan total 25 µl.

Produk hasil Amplifikasi divisualisasikan pada gel agarose 1,5% (gambar 9), dan kemudian dilakukan analisis RFLP dengan menambahkan 3 unit enzim restriksi MaeII (*Fermentas*) beserta bufernya pada 5 µl produk amplifikasi yang kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama over night. Hasil analisis RFLP divisualisasikan pada gel agarose 1,5% (gambar 10).



Gambar 9. Gel Hasil PCR Ruas Gen Calpain. M: Marker 100 pb, 1♂-16♂: Produk PCR Myostatin, 168 pb.



0,194. Pada Lokus Calpain|Maell, domba betina memiliki nilai heterozigositas yang lebih rendah dari jantan dengan rata-rata heterozigositas sebesar 0,247.

Keragaman genetik dalam populasi diukur dengan rata-rata heterozigositas ( $H$ ) jika lokus yang diamati lebih dari satu lokus (Nei dan Kumar 2000). Nilai rata-rata heterozigositas pada populasi total dalam penelitian diperoleh sebesar 0,1471. Ibeagha-Awemu dan Erhardt (2005) melaporkan rendahnya nilai heterozigositas (0,117) pada sapi di Kamerun dan Nigeria kemungkinan disebabkan oleh adanya faktor biak dalam. Rendahnya nilai rata-rata heterozigositas pada populasi domba jonggol dalam penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh rendahnya jumlah pejantan dewasa dalam populasi.

Tabel 3. Nilai Heterozigositas masing-masing dan keseluruhan lokus

Jumlah sampel dan Jenis Kelamin	Myostatin	Calpastatin	Calpain	Rataan
Betina (96)	0	0,2285	0,2105	0,1464
Jantan (71)	0	0,1448	0,2948	0,1465
<b>Total ( )</b>	<b>0</b>	<b>0,1944</b>	<b>0,2469</b>	<b>0,1471</b>

#### Hubungan Genotipe Calpastatin dan Calpain dengan Bobot Badan Domba

Hubungan genotipe dengan bobot badan pada domba muda ditampilkan pada Tabel 4. Gen Myostatin lokus Msp1 tidak bisa dipergunakan sebagai marka karena monomorfik semua bergenotipe (AA), yang bisa digunakan sebagai marka yaitu calpastatin dan calpain karena sangat polimorfik. Individu bergenotipe calpastatin MM dan calpain TT mempunyai kecenderungan bobot badan lebih tinggi dari pada genotipe lainnya.

Tabel 4. Hubungan Genotipe dengan Bobot Badan Domba Umur I<sub>0</sub>

Jenis Kelamin	Calpastatin			Calpain	
	MM	MN	GG	GT	TT
Betina	14.5 ± 1.77 (37)	14.1 ± 2.2 (12)	14.3 ± 0.6 (3)	14.3 ± 2.5 (6)	14.5 ± 1.9 (39)
Jantan	16.6 ± 3.0 (54)	15.9 ± 1.2 (10)	14.9 ± 1.6 <sup>a</sup> (2)	15.1 ± 2.1 <sup>b</sup> (16)	16.9 ± 2.7 <sup>b</sup> (40)

Pengaruh kombinasi dua gen antara calpastatin dan calpain terhadap bobot badan ditampilkan pada Tabel 5. Individu bergenotipe MMTT mempunyai kecenderungan lebih tinggi dari pada kombinasi genotipe lainnya.

Tabel 5. Hubungan Genotipe (Calpastatin+Calpain) dengan Bobot Badan Domba umur I<sub>0</sub>

Jenis Kelamin	Genotipe					
	MMGG	MMGT	MMTT	MNGG	MNGT	MNTT
Betina	14.0 ± 0.0 (2)	14.6 ± 2.7 (5)	14.6 ± 1.7 (28)	15.0 (1)	13.0 (1)	14.1 ± 2.4 (10)
Jantan	14.9 ± 1.6 (2)	14.8 ± 2.1 (13)	17.1 ± 2.9 (33)	-	16.3 ± 1.6 (3)	15.8 ± 1.1 (7)

(..) = Jumlah sampel

Hubungan genotipe dengan bobot badan belum terlihat secara signifikan, kemungkinan besar disebabkan terbatasnya genotipe tertentu dan variasi didalam genotipe tersebut masih tinggi.

#### Hubungan Induk Bergenotipe Calpain dengan Perporma Anak

Dari 48 ekor induk yang diamati baru 22 yang melahirkan, sehingga data yang diperoleh belum merata dan didominasi oleh genotipe TT, untuk sementara genotipe GT mempunyai Bobot lahir dan pertumbuhan per 2 minggu lebih baik dari genotipe TT (Tabel 6).

Tabel 6. Hubungan Induk bergenotipe Calpain (GG, GT dan GG) dengan Perporma Anak

Parameter	Genotipe Induk		
	GG (1)	GT (3)	TT (19)
Bobot Lahir	3.0	2.3 ± 0.2	2.1 ± 0.4
Bobot Umur 0-2 Minggu	4.4	3.6 ± 0.7	3.2 ± 0.8
Bobot Umur 2-4 Minggu	6.2	5.3 ± 0.8	4.1 ± 1.2
Bobot Umur 4-6 Minggu	8.6 <sup>a</sup>	6.5 ± 0.7 <sup>ab</sup>	5.4 ± 1.2 <sup>b</sup>
PBB/Minggu	0.7	0.5 ± 0.1	0.4 ± 0.2

### Hubungan Genotipe dengan Kualitas Karkas Potongan Komersil.

Data yang tersedia masih sangat sedikit, karena merupakan penelitian pendahuluán. Untuk sementara individu bergenotipe calpain TT mempunyai kecenderungan potongan komersil lebih tinggi dibandingkan genotipe lainnya.

Tabel 7. Potongan Komersil Domba Jantan Umur I<sub>0</sub>

Parameter	GG (1)	GT (5)	TT (11)
Shoulder	636.30	633.2 ± 123.9	873.9 ± 189.4
Brisket	230.30	219.7 ± 25.3	300.7 ± 79.9
Shank	283.00	229.5 ± 32.4	292.5 ± 71.1
Rack	208.40	184.0 ± 39.1	257.6 ± 79.6
Loin	237.50	215.0 ± 29.4	256.6 ± 52.8
Flank	110.00	109.88 ± 19.99	144.5 ± 45.2
Leg	912.70	815.4 ± 75.0	1072.4 ± 218.5

## **VI. URAIAN KEGIATAN YANG AKAN DILAKSANAKAN PADA TAHUN 2010**

Penelitian pada tahun ke-1 (2009) melakukan kegiatan (1) isolasi sampel DNA dari darah domba lokal indukan dan pejantan, (2) genotyping gen calpastatin (NN, MN dan MM), myostatin (AA) dan calpain (GG,GT dan TT), (3) melakukan pengamatan pertumbuhan anak dari induk bergenotipe calpastatin (NN, MN dan MM), myostatin (AA) dan calpain (GG,GT dan TT) dan (4) melakukan penelitian pendahuluan tentang karkas (kualitas karkas potongan komersil) pada sampel individu terbatas (5) menganalisis hubungan genotipe gen calpastatin, myostatin dan calpain dengan bobot badan dan pertumbuhan.

Penelitian pada tahun ke-2 (2010) melakukan kegiatan (1) perbanyak populasi dengan mengawinkan individu bergenotipe (MMGG x MMGG, MMGT x MMGT, MMTT x MMTT, MNGG x MNGG, MNGT x MNGT, MNNTT x MNNTT), jadi totalnya ada 6 macam tipe genotipe, (2) menganalisis asosiasi genotipe gen calpastatin, myostatin dan calpain dengan produktivitas pada keturunan hasil persilangannya.

Penelitian pada tahun ke-3 (2011) menganalisis asosiasi genotipe gen calpastatin, myostatin dan calpain dengan kualitas karkas dan kimia daging. Semua kegiatan penelitian direncanakan pelaksanaannya selesai dalam 3 tahun.

## VII. PUSTAKA ACUAN

- Bishop, M.D., M. Koohmaraie, J.Killefer, and S. Kappes. 1993. Restriction fragment length polymorphisms of the bovine calpastatin gene. *J. Anim. Sci.* 71:2277.
- Chung, H.Y., M.E Davis, H.C. Hines, D.M. Wulf. 1999. Effect of the calpain proteolysis and calpain genotype on meat tenderness of Angus bulls. *J. Anim. Sci.* 77: 31-38
- DJBPP. 2005. Buku Statistik Peternakan. Departemen Pertanian RI.
- Goll, D.E., V.F. Thompson, R.G. Taylor, and J. A. Christiansen. 1992. Role of the calpain system in muscle growth. *Biochimie.* 74:225-237.
- Hediger, R., H. A. Ansari, and G. F. Stranzinger. 1991. Chromosome banding and gene localizations support extensive conservation of chromosome structure between cattle and sheep. *Cytogenet. Cell Genet.* 57:127.
- Kappes, S.M., J.W. Keele, R.T. Stone, T.S.Sonstegard, T.P.L. Smith, R.A. Mcgraw, N.L.Lopezcorrales, and C.W.Beattie. 1997. A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Res.* 7:235.
- Kempster, T., A. Cuthbertson, A. and G. Harrington. 1982 *Carcase Evaluation in Livestock Breeding, Production and Marketing.* Granada Publishing Limited. UK
- Killefer, J., and M. Koohmaraie. 1994. Bovine skeletal muscle calpastatin : cloning, squence analysis, and stady-state mRNA expression. *J. Anim. Sci.* 72 : 606
- Koohmaraie, M., S.D. Shackelford, T.L. Wheeler, S.M. Lonergan, and M.E. Doumit. 1995. A muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. *J. Anim. Sci.* 73:3596-3607.
- Margawati, E.T. 2005. Pemetaan quantitative traits loci (QTL) sifat pertumbuhan pada populasi domba silang balik ekor tipis dan merino. Disertasi, Fakultas Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Morgan, J.B., T.L.Wheeler, M. Koohmaraie, J. W. Savell, and J. D. Crouse. 1993. Meat tenderness and the calpain proteolytic system in the longissimus muscle of young bulls and steers. *J. Anim. Sci.* 71:1471.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics.* Columbia University Press, new York.
- Palmer, B.R., N. Roberts, J.G.H. Hickford, and R. Bickerstaffe. 1998. Rapid Communication : PCR- RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene. *American Society of Animal Science*
- Sambrok, J., F. Fritsch and T. Miniatis. 1989. *Molecular Cloning Laboratory manual.* 3rd Edition. Cold Spring Harbor laboratory press, New York
- Sumantri, C., A. Farajallah, U. Fauzi dan J.F. Salamena. 2008a. keragaman genetik DNA mikrosatelit dan hubungannya dengan performa bobot badan pada dpmba lokal. *Media Peternakan.* 31(1):1-13.

- Sumantri, C..R. Diyono 1, A. Farajallah, dan I. Inounu. 2008b. Polimorfisme gen calpastatin (CAST-Msp1) dan pengaruhnya terhadap bobot badan pada domba lokal JITV. Inpress
- Sumantri , C., D. Herdiana, A. Farajallah, D. Rahmat dan A. Anggraeni. 2008c. Keragaman Gen (Pit-1-Hinf 1) dan Pengaruhnya terhadap Bobot Badan Induk dan Produksi Susu pada Domba Lokal di Unit Pendidikan, Penelitian Peternakan Jonggol (UP3J) . JITV. Inpress
- Sumantri, C., E. Andreas, A. Farajallah dan Jarmuji. 2008d. Keragaman gen  $\kappa$ -kasein dan hubungannya dengan produksi dan kualitas susu pada domba di Unit Pendidikan dan Penelitian Peternakan (UP3) Jonggol. J.Ilmua Pertanian Indonesia. Inpress
- Young, O.A., D.H. Reid, M.E. Smith and T.J. Braggins. 1994. Sheepmeat odour and flavor. In : Flavor of Meat and Meat Products. Edited by F. Shahidi. Blackie Academic & Professional. London. UK.