

Analisis Molekuler Genotipe Kappa Kasein (K-Kasein) dan Komposisi Susu Kambing Peranakan Etawah, Saanen dan Persilangannya

YAYU ZURRIYATI¹, R.R. NOOR² dan R.R.A. MAHESWARI²

¹Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Riau, Jl. Kaharuddin Nasution KM 10, Pekanbaru

²Departemen IPTP, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor
Jl. Agatis kampus IPB Dermaga, Bogor 16680

(Diterima Dewan Redaksi 21 Januari 2011)

ABSTRACT

ZURRIYATI, Y., R.R. NOOR and R.R.A. MAHESWARI. 2011. Molecular analysis of genotype kappa casein and composition of goat milk Etawah grade, *Saanen and their crossbred*. *JITV* 16(1): 61-70.

Polymorphism of goat casein gene closely linked to the quality of milk protein. κ -casein is one of the casein fractions that influence the shape and stability of grain milk. This study is aimed to identify the variation of genotype κ -casein and related with milk quality from Etawah grade, Saanen and their crossbred (PE-SA). The number of dairy goats used in this study was 150 animals consisted of Etawah grade (48 animals), Saanen (51 animals) and PE-SA (51 animals). Steps of experiment were: blood and milk sampling collection, DNA amplification by PCR and the product digestion using *Pst*I enzyme, κ -casein gene sequencing and analyzing the quality of fresh milk. The results showed that κ -casein gene is monomorphic by PCR-RFLP (*Pst*I) for all the goat breeds, but DNA sequencing indicated 38 point of mutation. Observation on goat milk quality showed that Etawah grade milk had highest ($P < 0.05$) density value (1.033 ± 0.002) and solid non fat ($9.577 \pm 0.704\%$) than those of Saanen and PE-SA fresh milk goat.

Key Words: Dairy Goats, K-Casein Gene, PCR-RFLP, Milk

ABSTRAK

ZURRIYATI, Y., R.R. NOOR, dan R.R.A. MAHESWARI. 2011. Analisis molekuler genotipe kappa kasein (κ -kasein) dan komposisi susu kambing Peranakan Etawah, Saanen dan persilangannya. *JITV* 16(1): 61-70.

Polimorfisme (keragaman) gen kasein kambing perah berhubungan erat dengan kualitas protein susu. Kappa kasein (κ -kasein) merupakan salah satu fraksi kasein yang mempengaruhi stabilitas partikel-partikel kompleks koloid (misel) susu. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi genotipe κ -kasein dan dihubungkan dengan kualitas susu dari kambing Peranakan Etawah (PE), Saanen dan persilangannya. Jumlah kambing perah yang digunakan dalam penelitian ini adalah 150 ekor terdiri atas PE sebanyak 48 ekor, Saanen 51 ekor dan persilangan PE-Saanen 51 ekor. Tahapan kegiatan penelitian meliputi: pengambilan sampel darah dan susu kambing, amplifikasi DNA dengan metode PCR dan produknya dipotong dengan enzim *Pst* I, sekuensing gen κ -kasein serta analisis kualitas kimia susu segar meliputi analisis kadar protein, lemak, berat jenis dan bahan kering tanpa lemak. Hasil identifikasi keragaman molekuler dengan metode PCR-RFLP menggunakan enzim *Pst*I menunjukkan bahwa gen κ -kasein bersifat monomorfik, tetapi dari hasil sekuensing didapatkan 38 lokasi mutasi. Susu kambing PE memiliki nilai berat jenis ($BJ = 1,033 \pm 0,002$) dan bahan kering tanpa lemak ($BKTL = 9,577 \pm 0,704\%$) nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan susu kambing Saanen dan Persilangan PE-Saanen.

Kata Kunci: Kambing Perah, Gen K-Kasein, PCR-RFLP, Susu

PENDAHULUAN

Kualitas susu kambing sangat dipengaruhi oleh kadar protein dan menjadi salah satu kriteria utama dalam penjualan susu kambing di banyak negara. Protein susu dibedakan menjadi dua jenis yaitu kasein dan *whey*. Pada ternak kambing rasio kasein dan *whey* adalah 80:20. Kasein merupakan penyusun terbesar protein susu yang terdiri atas empat jenis polipeptida, yaitu α 1-, β -, α 2- dan κ -kasein. Polimorfisme (keragaman) gen kasein kambing berhubungan erat dengan kualitas protein susu. Gen kasein pada kambing terdapat pada kromosom 6 sekitar 250 kb (MARTIN *et*

al., 2002). Kappa kasein (κ -kasein) merupakan salah satu fraksi kasein yang berpengaruh terhadap bentuk dan kestabilan butiran susu. Gen κ -kasein terdiri dari 5 exon dan 4 intron dengan wilayah pengkodean untuk produksi susu di exon 3 (9 asam amino) dan exon 4 (162 asam amino).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa terdapat keragaman gen κ -kasein pada ternak kambing. YAHYAOU *et al.* (2001) melaporkan adanya keragaman gen κ -kasein pada beberapa bangsa kambing di Eropa akibat adanya mutasi yang menghasilkan alel A, B dan C. CHIATTI *et al.* (2005) juga melaporkan terdapat

hubungan antara keragaman κ -kasein kambing dengan komposisi susu. Hasil penelitian tersebut menunjukkan individu dengan genotipe BB memiliki persentase protein susu yang tinggi, sedangkan individu dengan genotipe AB memiliki persentase lemak susu yang tinggi.

Perbedaan kualitas protein susu kambing antara lain disebabkan karena adanya variasi genetik ternak. Perkembangan teknologi dalam bidang molekuler memungkinkan penggunaan penanda molekuler untuk mengukur status keragaman genetik melalui pemanfaatan gen penciri (*marker-assisted selection/MAS*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi genotipe κ -kasein dan dihubungkan dengan kualitas susu dari kambing Peranakan Etawah (PE), Saanen dan persilangannya.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan September 2009-April 2010. Lokasi pengambilan sampel darah yaitu pada empat peternakan kambing perah di wilayah Kabupaten Bogor yaitu peternakan di Ciapus, Cijeruk, Cariu dan Ciawi. Pengambilan sampel susu dilaksanakan di Cariu. Analisis keragaman molekuler dilaksanakan di laboratorium Genetika Molekuler Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor dan pengujian kualitas susu kambing dilaksanakan di laboratorium Ilmu Produksi dan Teknologi Ternak Perah, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

Jumlah kambing perah yang digunakan dalam penelitian ini adalah 150 ekor (Tabel 1). Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi gen κ -kasein berdasarkan PRINZENBERG *et al.* (2005) dengan runutan *forward* 5'-GGTATCCTAGTTATGG ACTCAAT-3' dan primer *reverse* 5'-GTTG AAGTAACTTGGGTG TGT-3'. Panjang produk amplifikasi ruas gen κ -kasein diperkirakan sepanjang 407 pb. Sampel susu diambil dari tiap bangsa kambing sebanyak 7000 ml. Sebelum

dilakukan pengolahan susu, dilakukan pengujian terhadap kualitas susu segar.

Identifikasi keragaman molekuler

Pengambilan sampel darah kambing dilakukan menggunakan *venoject* pada bagian *vena jugularis* sebanyak 2 ml dan ditampung dalam tabung *vacuttainer*. Selanjutnya sampel darah direndam dalam etanol absolut untuk menghindari kerusakan sel-sel darah. Ekstraksi DNA dari sampel darah menggunakan kit ekstraksi DNA yang dimodifikasi untuk sampel yang disimpan dalam etanol. Amplifikasi gen dilakukan dengan teknik PCR (*Polymerase chain reaction*). Reaksi PCR dilakukan dengan volume total 25 μ l dari campuran larutan yang terdiri atas 2 μ l DNA genom, 0,1 μ l enzim taq polymerase, 2,5 μ l 10X buffer, 0,5 μ l dNTPs, 2 μ l MgCl₂ dan aquades steril. Kondisi reaksi dalam mesin PCR dirancang dengan suhu pradenaturasi 94°C selama 5 menit, selanjutnya 35 siklus reaksi yang terdiri atas denaturasi 94°C selama 30 detik, *annealing* 55°C (suhu spesifik primer) selama 45 detik, perpanjangan 72°C selama 1 menit. Pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Produk PCR selanjutnya dipotong dengan enzim restriksi *Pst*I. Visualisasi pola pita hasil PCR-RFLP (*Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymerase*) menggunakan elektroforesis gel agarose.

Sekuensing DNA

Sekuensing DNA dilakukan untuk mengetahui kesamaan gen κ -kasein pada kambing dengan sekuen yang terdapat pada *GenBank* dan mengetahui titik mutasi yang terjadi pada fragmen gen κ -kasein. Hasil sekuensing berupa kromatogram yang diperoleh kemudian diedit secara manual dan dianalisis menggunakan bantuan *software* MEGA 4 (*Moleculer Evulotinary Genetic Analysis*) dan *BioEdit*.

Tabel 1. Jumlah sampel darah kambing menurut bangsa dan asal ternak

Bangsa kambing	Asal ternak				Jumlah
	Ciapus	Cijeruk	Cariu	Balai Penelitian Ternak-Ciawi	
	----- ekor -----				
Peranakan Etawah	20	-	28	-	48
Saanen	-	20	31	-	51
Persilangan PE-Saanen	-	7	25	19	51
Jumlah					150

Analisis kualitas kimia susu segar

Sampel susu diambil sebanyak 7000 ml, berdasarkan bangsa kambing masing-masing dari 23 ekor PE, 29 ekor Saanen dan 23 ekor persilangan PE-Saanen. Pengujian kualitas susu pada tiga bangsa kambing berbeda adalah untuk mengetahui bangsa kambing perah yang memiliki kualitas susu terbaik dihubungkan dengan hasil *genotyping* gen κ -kasein. Analisis kualitas kimia susu segar meliputi kadar protein, kadar lemak, berat jenis dan bahan kering tanpa lemak (DEWAN STANDARISASI NASIONAL, 1992).

Analisis data

Analisis perbedaan kualitas susu antar bangsa kambing dilakukan menggunakan metode analisis *General Linear Model* (GLM) dengan *software* Minitab versi 14. Frekuensi alel dihitung menggunakan rumus NEI (1987).

$$x_i = \frac{\left(2 n_{ii} + \sum_{j \neq i} n_{ij} \right)}{2 n}$$

X_i = frekuensi alel ke- i

n = jumlah sampel

n_{ii} = jumlah individu yang bergenotipe ii

n_{ij} = jumlah individu yang bergenotipe ij

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi dan *genotyping* gen κ -kasein

Sekuen gen target κ -kasein untuk ternak kambing berdasarkan *GenBank* nomor akses AY428577 (Gambar 1). Hasil amplifikasi fragmen gen κ -kasein kambing PE, Saanen dan Persilangan PE-Saanen pada exon 4 diperoleh dengan panjang 407 pasang basa (Gambar 2). Panjang produk PCR dari gen κ -kasein

pada penelitian ini sama dengan yang dilaporkan oleh PRINZENBERG *et al.* (2005), yang mendapatkan fragmen gen κ -kasein di exon 4 adalah 407 pb.

Metode *Restriction Fragment Length Polymorphisms* (RFLP) digunakan untuk mengidentifikasi genotipe (*genotyping*) gen κ -kasein kambing. Enzim restriksi yang digunakan untuk gen κ -kasein adalah *PstI* yang mengenali situs pemotongan (*restriksi*) diposisi CTGCA | G. Berdasarkan hasil pemotongan fragmen gen κ -kasein menggunakan enzim restriksi *PstI* menunjukkan bahwa pada exon 4 gen κ -kasein dari semua sampel kambing perah adalah bersifat *monomorfik*. Semua produk PCR-RFLP yang diuji menunjukkan tidak terjadi pemotongan (Gambar 3). Hal ini disebabkan karena tidak terdapat situs pemotongan yang dikenal oleh enzim *PstI* pada fragmen gen κ -kasein kambing perah yang diteliti. Perbedaan pola pita hasil pemotongan dengan enzim restriksi dapat terjadi akibat mutasi pada sekuen DNA. Hasil yang didapat dari penelitian ini berbeda dari yang dilaporkan oleh PRINZENBERG *et al.* (2005), yang mendapatkan dua varian gen κ -kasein yang dipotong menggunakan enzim *PstI* yaitu genotipe MM yang terpotong pada 334 bp dan 73 bp dan genotipe FF jika tidak terpotong (407 pb), pada berbagai bangsa kambing lokal di Eropa, Afrika Barat dan Turki. Dengan demikian hasil *genotyping* gen κ -kasein pada kambing PE, Saanen dan persilangan PE-Saanen dapat dikategorikan bergenotipe FF, karena tidak terpotong oleh enzim *PstI*.

CHESA *et al.* (2003) menemukan lima tipe gen κ -kasein pada kambing lokal Italia dengan menggunakan metode PCR-SSCP (*Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism*) dan YAHYAOUI *et al.* (2001) mendapatkan tiga varian gen κ -kasein pada kambing-kambing di Eropa menggunakan metode PCR-RFLP enzim restriksi Alw441 dan BseNI. SUMANTRI *et al.* (2005) juga melaporkan terdapat keragaman gen κ -kasein pada sapi FH yang dipelihara BPTU Baturraden, dengan metode PCR-RFLP enzim restriksi *PstI* sehingga mendapatkan genotipe AA, AB dan BB.

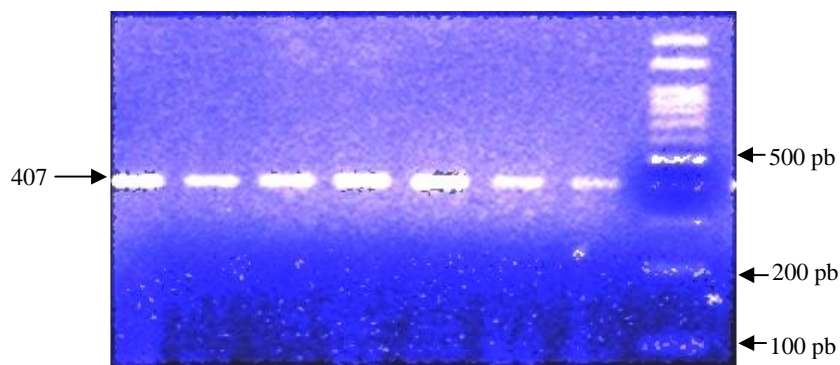
```

1  tgcagtgctg tgagaaagat gaaagattct tcgatgacaa aatagccaaa tatatcccaa
61  ttcagtatgt gctgagtagg tatcctagtt atggactcaa ttactaccaa cagagaccag
121 ttgcactaat taataatcaa tttctgccat acctatatta tgcaaagcca gttgcagtta
181 ggtcacctgc ccaaactctt caatggcaag ttttgccaaa tactgtgcct gccaaagtcct
241 gccaaaacca gccaaactacc ctggcacgtc acccacacc acatttatca tttatggcca
301 ttccacccaaa gaaagatcag gataaaacag aaatccctgc catcaatacc attgctagtg
361 ctgagcctac agtacacagt acacctacca ccgaagcaat agtgaacact gcagataatc
421 cagaagcttc ctcagaatcg attgcgagtg cacctgagac caacacagcc caagttactt
481 caaccgaggt ctaaaaactc taaggagaca tcaaagaaga caaccac
    
```

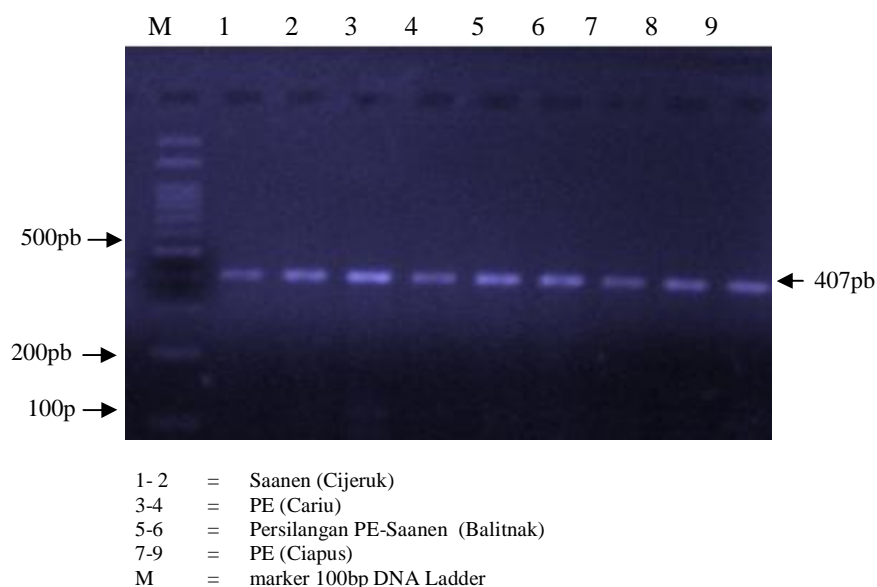
Huruf yang dicetak miring adalah situs pemotongan enzim *PstI* (CTGCA | G)

Sumber: sekuen gen κ -kasein kambing nomor akses *GenBank*: AY428577

Gambar 1. Sekuen gen κ -kasein target



Gambar 2. Hasil elektroforesis produk PCR fragmen gen κ -kasein (M = marker 100bp DNA Ladder)



Gambar 3. Hasil pemotongan produk PCR fragmen gen κ -kasein enzim *PstI*

Genotyping gen κ -kasein yang menunjukkan *monomorfik* pada semua sampel kambing perah yang diteliti (150 ekor) diduga disebabkan adanya efek *inbreeding* yang meningkatkan homosisitas sehingga menghasilkan frekuensi genotipe dan alel masing-masing sebesar 1,00 untuk semua bangsa kambing (Tabel 2)

Tabel 2. Frekuensi genotipe dan alel gen k-kasein

Jenis kambing	Jumlah Sampel (ekor)	Genotipe FF	Alel F
PE	48	1,00	1,00
Saanen	51	1,00	1,00
Persilangan PE-Saanen	51	1,00	1,00

Penelitian terhadap sekuen gen κ -kasein pada kambing perah di Indonesia dapat diuji kembali pada fragmen dan enzim restriksi berbeda serta *design* primer spesifik sehingga didapatkan genotipe dari gen κ -kasein yang dapat dijadikan penanda bagi kambing perah yang memiliki protein susu tinggi.

Sekuen gen κ -kasein

Hasil sekuensing sembilan sampel produk PCR, masing-masing 3 sampel untuk tiap bangsa kambing menunjukkan bahwa terdapat keragaman gen κ -kasein diantara bangsa kambing tersebut (Gambar 4). Data kromatogram hasil sekuensing yang dapat terbaca adalah 347 basa. Hasil sekuensing memperlihatkan terdapat 38 lokasi mutasi (Tabel 3) yang berada mulai dari posisi basa ke 130 hingga 476 bila dibandingkan

#AY428577	TTA	ATA	ATC	AAT	TTC	TGC	CAT	ACC	CAT	ATT	ATG	CAA	AGC	-CA	GTT	GCA
#SC_BALITNAKC	...	-..
#SC_CARIUA.	A..	...
#PE_CARIU-1	-.C
#PE_CARIU-2	-.C
#SC_CIJERUK	..C
#S_CIJERUK-1
#S_CIJERUK-2
#S-CIJERUK-3
#PE_CIAPUS
#AY428577	GTT	AGG	TCA	CCT	GCC	CAA	ACT	CTT	CAA	TGG	CAA	GTT	TTG	CCA	AAT	ACT
#SC_BALITNAKA.
#SC_CARIU
#PE_CARIU-1
#PE_CARIU-2
#SC_CIJERUK
#S_CIJERUK-1
#S_CIJERUK-2
#S-CIJERUK-3
#PE_CIAPUSA.
#AY428577	GTG	CCT	GCC	AAG	TCC	TGC	CAA	AAC	CAG	CCA	ACT	ACC	CTG	GCA	CGT	CAC
#SC_BALITNAK	G..
#SC_CARIU	G..
#PE_CARIU-1	G..
#PE_CARIU-2	G..
#SC_CIJERUK	G..
#S_CIJERUK-1	G..
#S_CIJERUK-2	G..
#S-CIJERUK-3	G..
#PE_CIAPUS	G..
#AY428577	CCA	CAC	CCA	CAT	TTA	TCA	TTT	ATG	GCC	ATT	CCA	CCA	AAG	AAA	GAT	CAG
#SC_BALITNAK
#SC_CARIU
#PE_CARIU-1
#PE_CARIU-2
#SC_CIJERUK
#S_CIJERUK-1
#S_CIJERUK-2
#S-CIJERUK-3
#PE_CIAPUS
#AY428577	GAT	AAA	ACA	GAA	ATC	CCT	GCC	ATC	AAT	ACC	ATT	GCT	AGT	GCT	GAG	CCT
#SC_BALITNAK
#SC_CARIU
#PE_CARIU-1	G.
#PE_CARIU-2
#SC_CIJERUK
#S_CIJERUK-1
#S_CIJERUK-2
#S-CIJERUK-3
#PE_CIAPUS
#AY428577	ACA	GTA	CAC	AGT	ACA	CCT	ACC	ACC	GAA	GCA	ATA	GTG	AAC	<u>ACT</u>	<u>GCA</u>	<u>GAT</u>
#SC_BALITNAKT.	...
#SC_CARIUT.	...
#PE_CARIU-1T.	...
#PE_CARIU-2T.	...
#SC_CIJERUKT.	...
#S_CIJERUK-1T.	...
#S_CIJERUK-2T.	...
#S-CIJERUK-3T.	...
#PE_CIAPUST.	...

#AY428577	AAT CCA GAA GCT TCC TCA GAA TCG ATT GCG AGT GCA CCT GAG ACC AAC
#SC_BALITNAK
#SC_CARIU
#PE_CARIU-1 T..
#PE_CARIU-2 T..
#SC_CIJERUK
#S_CIJERUK-1 T..
#S_CIJERUK-2 T..
#S_CIJERUK-3 T..
#PE_CIAPIUS T..
#AY428577	ACA GCC CAA GT
#SC_BALITNAK
#SC_CARIU
#PE_CARIU-1 T.
#PE_CARIU-2
#SC_CIJERUK
#S_CIJERUK-1
#S_CIJERUK-2
#S_CIJERUK-3
#PE_CIAPIUS

AY428577 = Database *Genbank*
 SC Persilangan PE-Saanen
 PE Peranakan Etawah
 S Saanen
 CTGCA G Situs pemotongan enzim *PstI*

Gambar 4. Hasil sekuensing gen κ -kasein pada kambing perah PE, Saanen dan Persilangan PE-Saanen

dengan *database* dari *GenBank* nomor akses: AY428577.

Pada Gambar 5, ditampilkan mutasi *sustitusi* tipe transisi yang terjadi semua sampel kambing perah yang diteliti diposisi 4 pada s13, yang merupakan situs pemotongan enzim *PstI* (CTGCAG), yaitu perubahan basa C--T menjadi CTGTAG sehingga menghasilkan perubahan asam amino dari Alanin menjadi Valin. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadi pemotongan pada fragmen gen κ -kasein kambing perah penelitian menggunakan enzim restriksi *PstI*, karena mutasi menyebabkan sekuen DNA tidak dikenali oleh enzim restriksi *PstI*. Pada kambing perah yang diteliti, kemungkinan seleksi alam dan adaptasi terhadap lingkungan tropis turut berperan dalam kejadian mutasi, sehingga terdapat perbedaan ternak di wilayah tropis dengan subtropis.

Karakteristik susu kambing

Susu segar menurut DEWAN STANDARISASI NASIONAL (1998) dalam Standar Nasional Indonesia nomor 01-3141-1998 didefinisikan sebagai cairan yang berasal dari kambing ternak sehat yang diperah dengan cara pemerahan yang benar, tidak mengalami penambahan atau pengurangan suatu komponen apapun kecuali proses pendinginan dan tanpa mempengaruhi kemurniannya. Syarat mutu dan kriteria kualitas susu

segar di Indonesia ditentukan berdasarkan SNI 01-3141-1998. Pada penelitian ini kriteria kualitas susu kambing juga berdasarkan THAI AGRICULTURAL STANDARD (2008), yang khusus untuk susu kambing. Kualitas susu segar dipengaruhi oleh faktor bangsa, genetik, umur, tingkat laktasi, pakan yang diberikan, waktu pemerahan dan keadaan iklim.

Kualitas susu segar pada penelitian ini tidak dibedakan berdasarkan keragaman gen κ -kasein, karena dari hasil *genotyping* seluruh sampel kambing perah memberikan hasil *monomorfik*, tetapi dibedakan berdasarkan bangsa (PE, Saanen dan Persilangan PE-Saanen) dan umur laktasi yaitu laktasi ke-3 dan ke-4. Hal ini bertujuan untuk mengetahui bangsa kambing perah yang menghasilkan kualitas susu terbaik. Hasil analisis karakteristik kualitas susu segar meliputi berat jenis, kadar protein, kadar lemak, kadar bahan kering dan bahan kering tanpa lemak ditampilkan pada Tabel 4.

Hasil analisis *General Linear Model (GLM)* terhadap semua parameter komposisi susu segar yang diukur dari ketiga bangsa kambing, tidak dipengaruhi ($P > 0,05$) oleh laktasi ke-3 dan ke-4 dari kambing perah dengan umur yang berbeda. Bangsa kambing nyata berpengaruh ($P < 0,05$) terhadap parameter berat jenis (BJ) dan bahan kering tanpa lemak (BKTL) susu kambing.

Tabel 3. Jenis dan lokasi mutasi pada sekuen gen κ -kasein

Jenis mutasi	Lokasi mutasi berdasarkan data sekuen dari GenBank	Perubahan asam amino	Sampel kambing perah
Delesi T	130	Leusin-delesi	PE Cariu 1 dan PE Cariu 2
Substitusi transversi A-C	132	Leusin-Fenilalanin Sistein-Tirosin	SC Cijeruk
Substitusi transisi G-A	146	Glutamin- Histidin	SC Cariu
Substitusi transversi A-C	165	(-)-Treonin	SC Balitnak
Inseri A	169	Valin-Isoleusin	PE Cariu 1 dan PE Cariu 2
Substitusi transisi G-A	172	Alanin-As. Aspartat Asparagin-	SC Cariu dan SC Cijeruk
Substitusi transversi C-A	191	As. Aspartat	SC Balitnak dan PE Ciapus
Substitusi transisi A-G	247	Isoleusin-Valin Alanin- Valin	Terjadi pada semua kambing (9 sampel) PE Cariu 1
Substitusi transisi A-G	334		Terjadi pada semua kambing
Substitusi transisi C-T	<u>413</u>	Prolin-Serin	(9 sampel) PE Cariu 1
Substitusi transisi C-T	454	PE Cariu 2	S Cijeruk 1 S Cijeruk 2 S Cijeruk 3 dan PE Ciapus
Substitusi transversi G-T	475		PE Cariu 1

#AY428577	ACA	GTA	CAC	AGT	ACA	CCT	ACC	ACC	GAA	GCA	ATA	GTG	AAC	<u>ACT</u>	<u>GCA</u>	<u>GAT</u>
#SC_BALITNAKT. ...
#SC_CARIUT. ...
#PE_CARIU-1T. ...
#PE_CARIU-2T. ...
#SC_CIJERUKT. ...
#S_CIJERUK-1T. ...
#S_CIJERUK-2T. ...
#S_CIJERUK-3T. ...
#PE_CIAPUST. ...

Gambar 5. Mutasi C menjadi T pada sekuen gen κ -kasein yang merupakan situs pemotongan enzim *PstI* (CTGCAG).

Berat jenis (BJ) susu berdasarkan SNI 01-3141-1998 adalah minimal 1.0280 pada suhu 27,5°C lebih berat dari air karena selain air (85-86%) terdapat kandungan bahan kering/padatan (protein, lemak, mineral, vitamin) yaitu 13-14% untuk semua susu

kambing. Rataan hasil analisis BJ terhadap susu kambing PE, Saanen dan persilangan PE-Saanen berturut-turut adalah 1,033, 1,030 dan 1,031. Nilai BJ susu yang diperoleh dari ketiga bangsa kambing telah memenuhi kriteria nilai BJ susu segar minimum yang

Tabel 4. Karakteristik susu segar dari kambing PE, Saanen dan Persilangan PE-Saanen (rata-rata \pm standar deviasi)

Karakteristik	PE (n = 23)	Saanen (n = 29)	PE-Saanen (n = 23)
Fisik			
BJ suhu 27,50C	1,033 ^a \pm 0,002	1,030 ^b \pm 0,002	1,031 ^b \pm 0,002
Kimia (%)			
Kadar protein	4,290 \pm 0,913	3,739 \pm 0,733	3,962 \pm 0,947
Kadar lemak	4,466 \pm 1,887	4,592 \pm 1,720	4,420 \pm 1,490
Berat kering	14,020 \pm 2,368	13,570 \pm 1,756	13,550 \pm 1,839
BKTL	9,577 ^a \pm 0,704	8,985 ^b \pm 0,465	9,132 ^b \pm 0,615

Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata pada taraf 5% ($P < 0,05$)
n = jumlah sampel

ditetapkan oleh DEWAN STANDARISASI NASIONAL (1998) dalam SNI susu segar.

Susu kambing PE memiliki nilai BJ yang lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan susu kambing Saanen dan Persilangan PE-Saanen masing-masing sebesar 0,003 dan 0,002, sedangkan nilai BJ antara susu kambing Saanen dengan Persilangan PE-Saanen tidak berbeda ($P > 0,05$). Berat jenis susu dipengaruhi oleh kandungan bahan kering di dalamnya sehingga kenaikan bahan kering akan meningkatkan berat jenis susu. Pada Tabel 4, dapat dilihat bahwa secara numerik kandungan bahan kering (BK) pada susu kambing PE juga lebih besar dengan rata-rata 14,02% sedangkan rata-rata BK susu kambing Saanen dan Persilangan PE-Saanen masing-masing adalah 13,57 dan 13,55%. Komposisi susu kambing bervariasi, dipengaruhi oleh bangsa (jenis), produksi susu, tingkat laktasi, kualitas dan kuantitas makanannya.

Hasil analisis statistik terhadap kadar protein susu, tidak terdapat perbedaan ($P > 0,05$) pada ketiga bangsa kambing (PE, Saanen dan Persilangan PE-Saanen). CHIATTI *et al.* (2005), melaporkan terdapat hubungan antara kadar protein susu kambing dengan genotipe κ -kasein. Kambing dengan genotipe κ -kasein BB menghasilkan kandungan protein yang lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan genotipe AA. Pada penelitian ini semua kambing perah yang diteliti bergenotipe FF dengan kisaran protein antara 3,7-4,3%. Mutasi pada DNA menyebabkan perubahan pada basa nitrogen (sekuen DNA). Perubahan tersebut dapat menyebabkan perubahan asam amino yang berpengaruh pada genotipe dari gen yang diamati ataupun tidak mengubah susunan asam amino atau dikenal dengan *silent mutation*.

Analisis kadar protein susu dari ketiga bangsa kambing menunjukkan nilai yang telah memenuhi kriteria susu segar berdasarkan SNI 01-3141-1998, yaitu minimal 2,7%. Berdasarkan THAI AGRICULTURAL STANDARD (2008), kadar protein susu kambing PE,

Saanen dan Persilangan PE-Saanen adalah $> 3,7\%$ yang termasuk kategori kualitas *premium*. Kadar protein susu kambing PE, Saanen dan Persilangan PE-Saanen yang diperoleh berturut-turut 4,29; 3,73 dan 3,96%. Terdapat variasi kadar protein susu diantara ketiga bangsa kambing antara 0,23 - 0,56%.

Kadar protein susu juga dipengaruhi oleh jenis pakan yang diberikan pada ternak. Pada penelitian ini jenis pakan yang diberikan pada ketiga bangsa kambing berupa hijauan dan konsentrat (ampas bir, ampas tahu dan dedak). Pemberian pakan hijauan pada ternak kambing sekitar 4-5 kg $e^{-1} h^{-1}$ sementara pemberian konsentrat sekitar 400-500 g $e^{-1} h^{-1}$.

Kombinasi pemberian pakan hijauan dan konsentrat pada ternak kambing PE, Saanen dan Persilangan PE-Saanen menghasilkan kadar protein susu kambing yang tinggi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian SUKARINI (2006) yang melaporkan adanya peningkatan kadar protein susu kambing PE yang diberikan pakan kombinasi hijauan dan konsentrat dibandingkan dengan hanya diberikan hijauan saja yaitu 3,65 vs 2,93%. Pemberian konsentrat dalam pakan ternak kambing menyebabkan energi yang tersedia menjadi lebih banyak untuk pembentukan asam amino yang berasal dari protein mikroba di dalam rumen, sehingga ketersediaan asam amino ini akan memberi kontribusi terhadap peningkatan sintesis protein susu. Kualitas pakan yang baik pada ternak cenderung akan meningkatkan kandungan *solid non fat* dalam susu. Protein adalah salah satu dari komponen *solid non fat* (bahan kering tanpa lemak).

Hasil analisis kadar lemak susu dari ketiga bangsa kambing dalam penelitian ini menunjukkan nilai yang lebih besar dari standar minimal yang ditetapkan oleh DEWAN STANDARISASI NASIONAL (1998) dalam SNI 01-3141-1998, yaitu minimal 3,0%. Berdasarkan THAI AGRICULTURAL STANDARD (2008), kadar lemak susu kambing PE, Saanen dan Persilangan PE-Saanen $> 4\%$ yang termasuk kategori *premium*. Kadar lemak susu

kambing PE, Saanen dan Persilangan PE-Saanen berturut-turut adalah 4,47; 4,59 dan 4,42% dan tidak terdapat perbedaan ($P > 0,05$) kadar lemak susu diantara ketiga bangsa kambing. LJUTOVAC *et al.* (2008) menyatakan, umumnya kadar lemak susu dipengaruhi oleh masa laktasi, musim, bangsa dan pakan.

Kambing perah dalam penelitian ini mendapatkan pakan berupa hijauan antara 4-5 kg/ekor/hari, terdiri atas rumput gajah, rumput alam, daun nangka dan daun singkong. Pemberian pakan hijauan berhubungan dengan kadar lemak susu yang dihasilkan. Kadar lemak yang tinggi di dalam susu kambing dalam penelitian ini disebabkan oleh pemberian hijauan pakan yang optimal untuk pembentukan lemak susu. SUKARINI (2006) melaporkan bahwa dengan pemberian pakan hijauan saja, kadar lemak susu kambing PE didapatkan sebesar 4,86%. Pakan hijauan merupakan sumber serat. Kekurangan pakan serat akan menghasilkan susu dengan kadar lemak rendah. Hal ini disebabkan hijauan di dalam rumen merupakan sumber asam asetat yang merupakan bahan baku pembentuk berbagai asam lemak dari lemak susu yaitu butirrat, kaproat, kaprilat, kaprat, laurat, miristat, palmitat, oleat, stearat, dan linolaet. Semakin banyak produksi asetat, semakin banyak sintesis asam lemak yang kemudian menyebabkan peningkatan kadar lemak susu. Kandungan lemak dalam susu adalah komponen terpenting disamping protein yang mempengaruhi harga jual susu.

Bahan kering (BK) adalah komponen susu selain air yang meliputi lemak, protein, laktosa dan abu, sementara bahan kering tanpa lemak (BKTL) adalah komponen susu selain air dan lemak. Kadar BK susu segar dari kambing PE, Saanen dan Persilangan PE-Saanen berturut-turut adalah 14,05; 13,58 dan 13,54%. Nilai BK yang diperoleh adalah di atas batas minimal SNI susu segar yaitu 11%. Berdasarkan THAI AGRICULTURAL STANDARD (2008), kadar BK dari susu segar ketiga bangsa kambing yang dianalisis adalah >13% yang termasuk kategori kualitas *premium*. Pada ketiga bangsa kambing tidak terdapat perbedaan ($P > 0,05$) terhadap kadar bahan kering susu.

Berdasarkan SNI 01-3141-1998, kandungan BKTL susu segar adalah minimal 8,0%. Hasil analisis kandungan BKTL susu kambing ketiga bangsa kambing yang diteliti didapatkan di atas batas minimal SNI susu segar. Nilai kandungan BKTL susu kambing PE, Saanen dan persilangan PE-Saanen berturut-turut adalah 9,58; 8,99 dan 9,12%. Susu kambing PE secara nyata ($P < 0,05$) memiliki kandungan BKTL lebih tinggi 0,6% dibandingkan dengan susu kambing Saanen dan 0,5% dibandingkan dengan susu persilangan PE-Saanen, sedangkan nilai BKTL antara susu kambing Saanen dengan susu kambing persilangan PE-Saanen

tidak berbeda ($P > 0,05$). Kandungan BKTL yang tinggi pada susu kambing PE disebabkan terutama oleh komposisi protein susu kambing PE yang tinggi dan kadar lemak yang relatif rendah. Kadar lemak yang tinggi akan mengakibatkan kadar komponen lain seperti protein, laktosa dan mineral lebih rendah.

KESIMPULAN

Genotyping gen κ -kasein pada kambing PE, Saanen dan persilangannya menggunakan metode PCR-RFLP dengan enzim restriksi *PstI* bersifat *monomorfik* dan tidak terjadi pemotongan karena terjadi mutasi substitusi tipe transisi sehingga tidak terdapat situs pemotongan yang dikenal oleh enzim *Pst*. *Genotyping* gen κ -kasein metode PCR-RFLP dengan enzim restriksi *PstI* belum dapat dijadikan penanda bagi parameter kualitas susu terutama kadar protein. Hasil sekuensing terhadap gen κ -kasein exon 4 pada masing-masing tiga sampel kambing PE, Saanen dan persilangan PE-Saanen didapatkan 38 lokasi mutasi.

Rataan nilai kualitas susu menunjukkan bahwa susu kambing PE memiliki nilai berat jenis (BJ) dan bahan kering tanpa lemak (BKTL) yang lebih tinggi dibandingkan dengan susu bangsa kambing persilangan PE-Saanen dan Saanen.

DAFTAR PUSTAKA

- CHESSA, S., E. BUDELLI, K. GUTSCHER, A. CAROLI and ERHARDT. 2003. Simultaneous identification of five κ -casein (CSN3) alleles in domestic goat by polymerase chain reaction- single strand conformation polymerase. Short communication. *J. Dairy Sci.* 86: 3726-3729.
- CHIATTI, F., A. CAROLI, S. CHESSA, P. BOLLA and G. PAGNACCO. 2005. Relationship between goat κ -casein (CSN3) polymorphism and milk composition. Proc. The Role of Biotechnology. Villa Gualino Italy, 5-7 Mar 2005. pp. 163-164.
- DEWAN STANDARISASI NASIONAL. 1992. SNI 01-2891-1992. Cara Uji Makanan dan Minuman. Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- DEWAN STANDARISASI NASIONAL. 1998. SNI 01-3141-1998. Susu Segar. Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- LJUTOVAC, K.R., G. LAGTIFFOUL, P. PACCARD, I. GUILLET and Y. CHILLIARD. 2008. Composition of goat and sheep milk product: An update. *J. Small Rum. Res.* 79: 57-72.
- MARTIN, P., M. SZYMANOWSKA, L. ZWIERZCHOWSKI and C. LEROUX. 2002. The impact of genetic polymorphism on the protein composition of ruminant milks. *J. Reprod. Nutr. Dev.* 42: 433-459.
- NEI, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York.

- PRINZENBERG, E.M., K. GUTSCHER, S. CHESSA, A. CAROLI and G. ERHARDT. 2005. Caprine κ -casein (*CSN3*) polymorphism: New developments in molecular knowledge. *J. Dairy Sci.* 88:1490-1498.
- SUKARINI, I.A.M. 2006. Produksi dan komposisi air susu kambing Peranakan Etawah yang diberi tambahan konsentrat pada awal laktasi. *Majalah Ilmiah Petern.* 9: 14-25.
- SUMANTRI, C., A. ANGGRAENI, R.R.A. MAHESWARI, K. DWIYANTO dan A. FARAJALLAH. 2005. Pengaruh genotipe kappa-kasein terhadap kualitas susu pada sapi perah FH di BPTU Baturraden. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 12-13 September 2005. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 358-365.
- THAI AGRICULTURAL STANDARD. 2008. Raw Goat Milk. National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards. Ministry of Agriculture and Cooperatives., Thailand.
- YAHYAOU, M.H., A. COLL, A. SANCHEZ and J.M. FOLCH. 2001. Genetic polymorphism of the caprine kappa casein gene. *J. Dairy Res.* 68: 209-216.