

## FREKUENSI GEN $\kappa$ -KASEIN FRIESIAN-HOLSTEIN DI WILAYAH SENTRA PRODUKSI SUSU

(The Frequency of  $\kappa$ -Casein Gene of Holstein-Friesian in  
Dairy Central Region)

C. SUMANTRI<sup>1,4</sup>, A. ANGGRAENI<sup>2,4</sup> dan A. FARAJALLAH<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, FAPET IPB

<sup>2</sup>Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002

<sup>3</sup>Departemen Biologi, FMIPA. IPB

<sup>4</sup>Pusat Studi Hewan Tropika/CENTRAS, LPPM IPB

### ABSTRACT

The objective of this research was to observe frequency of  $\kappa$ -casein gene of Holstein-Friesian (HF) in dairy center region and the effect of sire on frequency of  $\kappa$ -casein gene in offspring. Cows were observed at small dairy holders from some dairy center area respectively Pondok Ranggon, Jakarta (52 heads), Kebon Pedes, Bogor (20 heads), Faculty of Animal Science of IPB (6 heads), Baturraden Breeding Center (BPTU), Purwokerto (249 heads). Holstein-Friesian bulls tested in transferring the  $\kappa$ -casein gene were for a number of 25 heads collected from Lembang IA Center (BIBB Lembang) consisting of imported active bulls (10 heads) and young males of progeny tested bulls (15 heads). Research were carried out through some steps: collecting blood sample as DNA sources, extracting DNA following the work of SAMBROOK, amplifying  $\kappa$ -casein DNA by PCR method (*Polymerase Chain Reaction*), identifying alleles by cutting PCR product with Pst I (PCR-RFLP) enzyme, calculating frequencies of  $\kappa$ -casein gene by NEI method. The result showed that the frequencies of A allele from the highest to the lowest were respectively Kebon Pedes and Faculty of Animal Science of IPB (1,00), BIBB Lembang (0,74), Pondok Ranggon (0,66) and BPTU Baturraden (0,47). It was proved that the gene frequencies were closely related to the utilized sires.

**Key Words:** Holstein-Friesian Bull,  $\kappa$ -Casein Gene, Gene Frequency

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengobservasi frekuensi gen  $\kappa$ -kasein sapi Friesian-Holstein (FH) di sejumlah daerah sentra produksi susu dan mempelajari pengaruh penggunaan pejantan terhadap frekuensi gen  $\kappa$ -kasein pada anaknya. Sapi betina diamati pada peternakan rakyat dari sejumlah daerah sentra produksi susu berurutan Pondok Ranggon, Jakarta (52 ekor), Kebon Pedes, Bogor (20 ekor), Fakultas Peternakan IPB (6 ekor), BPTU Baturraden, Purwokerto (249 ekor). Pejantan FH yang diuji pewarisan gen  $\kappa$ -kaseinnya sebanyak 25 ekor yang ada di Balai Besar Inseminasi Buatan (BIBB) Lembang, terdiri dari pejantan impor aktif IB (10 ekor) dan jantan muda keturunan pejantan *progeny test* (15 ekor). Sejumlah tahapan kegiatan penelitian meliputi: pengambilan sampel darah sapi sebagai sumber DNA, ekstraksi DNA sesuai dengan petunjuk SAMBROOK, amplifikasi fragmen  $\kappa$ -kasein DNA dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*), identifikasi alel dengan memotong produknya PCR dengan enzim Pst I (PCR-RFLP), menghitung frekuensi gen  $\kappa$ -kasein menggunakan metode NEI. Hasil menunjukkan frekuensi alel A berurutan dari yang tertinggi sampai terendah adalah Kebon Pedes dan Fapet IPB (1,00), BIBB Lembang (0,74), Pondok Ranggon (0,66) dan BPTU Baturraden (0,47). Frekuensi alel A sangat ditentukan oleh faktor pejantan yang digunakan.

**Kata Kunci:** Pejantan Friesian-Holstein, Gen  $\kappa$ -Kasein, Frekuensi Gen

### PENDAHULUAN

Seleksi keunggulan genetik melalui identifikasi gen yang diprediksi berasosiasi kuat dengan sifat produksi dan kualitas susu akan sangat mendukung dalam program

perbaikan mutu genetik sapi FH (BOVENHUIS *et al.*, 1992). Kasein yang merupakan fraksi terbanyak (sekitar 80%) dari protein susu sapi, diketahui berada di bawah kontrol empat lokus dengan runutan genom  $\alpha_{s1}$ -,  $\beta$ -,  $\alpha_{s2}$ -, dan  $\kappa$ -

kasein dengan panjang 250 kb pada kromosom 6/BTA 6q31. (FERRETTI *et al.*, 1990; THREADGILL dan WOMACK, 1990; RIJNKELS *et al.*, 1997). Sejauh ini diketahui ada enam alel dari gen  $\kappa$ -kasein yakni alel A, B, C, E, F, dan G (MALIK *et al.*, 2000). Protein  $\kappa$ -kasein sendiri memiliki 169 asam amino dengan variasi terjadi pada kodon 136 dan 148. Alel A mempunyai treonin (ACC) pada kodon 136 dan asam aspartat (GAT) pada kodon 148, sedangkan alel B memiliki masing-masing isoleusin (ATC) dan alanin (GTC) pada kedua kodon tersebut. Alel A dan B dari  $\kappa$ -kasein sangat umum ditemukan pada rumpun sapi perah *Bos Taurus* seperti FH, Guernsey, Jersey, Ayrshire dan Brown Swiss (SWAISGOOD, 1992).

NG-KWAI-HANG *et al.* (1986) melaporkan adanya pengaruh yang nyata ( $p < 0,01$ ) varian genetik  $\alpha$ ,  $S_1$ -,  $\beta$ -,  $\kappa$ -kasein dan  $\beta$  lactoglobulin terhadap ujian harian untuk produksi susu dan komposisi susu sapi FH. Genotipe protein susu sangat berpengaruh terhadap komposisi protein dan parameter genetik lainnya (BOBE *et al.*, 1999). Hasil penelitian SUMANTRI *et al.* (2004) mendapatkan frekuensi gen  $\kappa$ -kasein A dan B pada sapi FH di BPTU Baturraden hampir sama (0,47 vs 0,53). Sapi FH bergenotipe AA mempunyai proporsi yang hampir sama pada klasifikasi produksi tinggi dan sedang (0,34 dan 0,37), sedangkan BB mempunyai frekuensi genotipe lebih kecil yaitu untuk klasifikasi produksi susu tinggi, sedang dan rendah masing-masing 0,22, 0,19 dan 0,03. Informasi frekuensi gen  $\kappa$ -kasein berdasarkan wilayah sentra produksi dan faktor pengaruh penggunaan pejantan masih sangatlah kurang, oleh karena itu penelitian ini bertujuan: (1) mengobservasi distribusi frekuensi gen  $\kappa$ -kasein di berbagai wilayah sentra produksi terutama di wilayah Jawa Barat dan Jakarta (2) mempelajari pengaruh faktor penggunaan pejantan seperti lama penggunaan pejantan terhadap frekuensi gen  $\kappa$ -kasein pada anak betinanya.

## MATERI DAN METODE

### Sapi pengamatan

Sejumlah 248 ekor sapi betina FH yang sedang laktasi di BPTU Baturraden diambil

sampel darahnya untuk dianalisis genotipe DNA mikrosatelitnya. Sapi tersebut sudah dievaluasi nilai pemuliaan produksi susunya selama pengamatan produksi 10 tahun (1988 – 1998) oleh Tim Peneliti Puslit Peternakan (ANGGRAENI, 2000). Penelitian menggunakan sapi FH betina yang dipelihara di peternakan rakyat Pondok Rangun, DKI Jakarta (52 ekor), Kebon Pedes, Bogor (20 ekor), Fapet-IPB (6 ekor), dan BPTU Baturraden, Purwokerto (249 ekor). Penelitian ini juga menggunakan 25 ekor pejantan FH dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BIBB) Lembang, terdiri dari 10 ekor pejantan aktif IB eks impor dan 15 ekor anak pejantan hasil *progeny test*.

### Ekstraksi DNA

Sampel yang digunakan sebagai sumber DNA diambil dari sel darah. Ekstraksi DNA dilakukan menurut SAMBROOK *et al.* (1989) yang dimodifikasi. Kurang lebih 5 ml sampel darah diekstraksi untuk diambil DNA-nya. Setiap sampel darah dimasukkan ke dalam tabung *falcon*, disentrifugasi 3500 rpm selama 10 menit sehingga terbentuk tiga lapisan yaitu plasma darah, *buffy coat* (lapisan sel darah putih berinti) dan sel darah merah.

### Analisis PCR-RFLP

Analisis PCR dilakukan dengan cara sebagai berikut: 2  $\mu$ l 50 ng sampel DNA, 0,25  $\mu$ l 50 ng primer kappa-kasein ( $\kappa$ -kasein), primer *forward* (F) dengan runutan DNA 5' AAA TCC CTA CCA TCA ATA CC dan 0,25  $\mu$ l primer *reverse* (R) dengan runutan DNA 5' CTT CTT TGA TGT CTC CTT AG, 1,25  $\mu$ l 15 mM  $MgCl_2$ , 1  $\mu$ l 2 mM dNTPs dan 0,25  $\mu$ l 4 Unit AmpliTaq gold DNA polimerase dan ditambah 7,75  $\mu$ l milique water steril sampai total volume 12,75  $\mu$ l. Tabung tersebut dimasukkan ke dalam mesin PCR dengan program sebagai berikut. tahap 1, proses denaturasi 94°C selama 10 menit. Tahap 2, proses denaturasi pada 94°C selama 30 detik, diikuti dengan proses *annealing* (penggabungan kembali) pada suhu 55°C selama 30 detik dan proses ekstensi pada suhu 72°C selama 1 menit. Seluruh proses pada tahap 2 dilakukan dengan 40 X ulangan. Tahap 3, ekstensi tambahan pada suhu 72°C selama 5 menit.

Analisis PCR-RFLP dilakukan dengan cara produk PCR, dipotong dengan enzim restriksi Pst I. Sebanyak 4 µl DNA produk PCR, 0,5 µl 5 Unit Pst I, 0,5 µl 10x low buffer dimasukkan ke dalam 0,5 ml *eppendorf*, ditambah milique water steril sampai volume total 10 µl, dan inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Elektroforesis dilakukan pada gel PAGE 1% dengan 200 Volt, selama 60 menit dan pewarnaan dengan perak nitrat selama 20 menit.

### Analisis data

Frekuensi genotipe  $\kappa$ -kasein dihitung dengan cara menisbahkan jumlah sapi dengan genotipe tertentu terhadap jumlah total ketiga genotipe (AA, AB, dan BB). Frekuensi gen  $\kappa$ -kasein masing-masing alel dihitung berdasarkan rumus NEI (1987):

$$X_i = \frac{2n_{ii} + \sum_{j \neq i} n_{ij}}{(2N)}$$

dimana:

$X_i$  = frekuensi alel lokus ke- $i$

$n_{ij}$  = jumlah individu untuk genotipe  $A_iA_j$

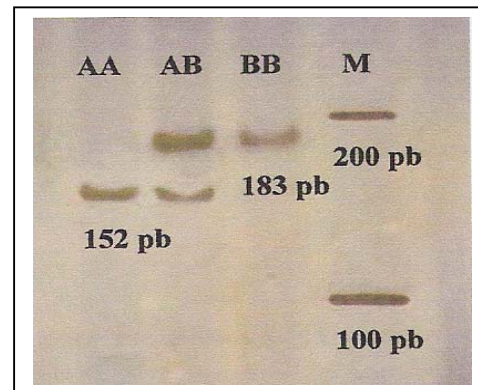
$n_{ii}$  = jumlah individu untuk genotip  $A_iA_i$

$N$  = jumlah sampel

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pola elektroforesis kappa kasein diperlihatkan pada Gambar 1. Genotipe homozigot AA dan BB ditunjukkan pola monomerik (pita tunggal) dengan alel B berukuran 200 pb (pasangan basa), sedangkan A lebih kecil dari 200 pb dan genotipe heterozigot AB ditunjukkan oleh pola dimerik (dua pita).

Genotipe dan distribusi frekuensi di beberapa lokasi diperlihatkan pada Tabel 1. Frekuensi alel A  $\kappa$ -kasein tertinggi (1,0) terdapat di peternakan rakyat Kebon Pedes Bogor dan Fapet IPB, BIBB Lembang (0,74), Pondok Rangon (0,66) dan BPTU Baturraden (0,47). Adanya alel A dengan frekuensi yang sangat tinggi di Kebon Pedes kemungkinan disebabkan oleh intensifnya penggunaan pejantan tertentu yang bergenotip AA, sedangkan di Fapet IPB selain sampel terlalu kecil sejumlah 6 ekor, jantan yang dipergunakan juga hanya 1 ekor tetapi digunakan secara terus menerus. Secara umum frekuensi alel A di beberapa lokasi yang di uji masih lebih rendah bila dibandingkan dengan sapi-sapi di negara Amerika, Eropah dan Jepang yang mempunyai frekuensi alel A (0,8 – 0,9) (SWAISGOOD, 1992). Hal ini disebabkan oleh karena tujuan seleksi ke arah produksi, dimana alel A mempunyai kecenderungan ke arah produksi susu, sedangkan alel B ke kualitas protein susu (SUMANTRI *et al.*, 2005).



**Gambar 1.** Hasil elektroforesis gen  $\kappa$ -kasein produk (PCR-RFLP) Pst 1 pada 1% akrilamida No. 1 AA, 2 AB, 3 BB dan N0.4. Marker 100 pb ladder (M)

**Tabel 1.** Genotipe dan frekuensi gen kappa kasein ( $\kappa$ -kasein) berdasarkan lokasi

| Lokasi (jumlah sampel) | Genotipe gen kappa kasein ( $\kappa$ -kasein) % |            |           | Frekuensi alel ( $\kappa$ -kasein) |      |
|------------------------|-------------------------------------------------|------------|-----------|------------------------------------|------|
|                        | AA                                              | AB         | BB        | A                                  | B    |
| Pondok Rangon (52)     | 34,21 (18)                                      | 63,16 (33) | 2,63 (1)  | 0,66                               | 0,34 |
| Kebon Pedes (20)       | 100 (20)                                        | 0,00       | 0,00      | 1,00                               | 0,00 |
| Fapet IPB (6)          | 100 (6)                                         | 0,00       | 0,00      | 1,00                               | 0,00 |
| BPTU Baturraden (249)  | 21,0 (51)                                       | 53,0 (133) | 26,0 (65) | 0,47                               | 0,53 |
| BBIB Lembang (25)      | 56,0 (14)                                       | 36,0 (9)   | 8 (2)     | 0,74                               | 0,26 |

**Tabel 2.** Frekuensi gen pejantan aktif dan calon pejantan hasil uji progeni

| Lokasi (jumlah ternak)    | Genotipe (%) |           |           | Frekuensi gen |      |
|---------------------------|--------------|-----------|-----------|---------------|------|
|                           | AA           | AB        | BB        | A             | B    |
| Pejantan aktif (10)       | 6 (60,00)    | 4 (40,00) | 0 (0,00)  | 0,75          | 0,25 |
| Pejantan uji progeni (15) | 8 (53,33)    | 5 (33,33) | 2 (13,33) | 0,70          | 0,30 |

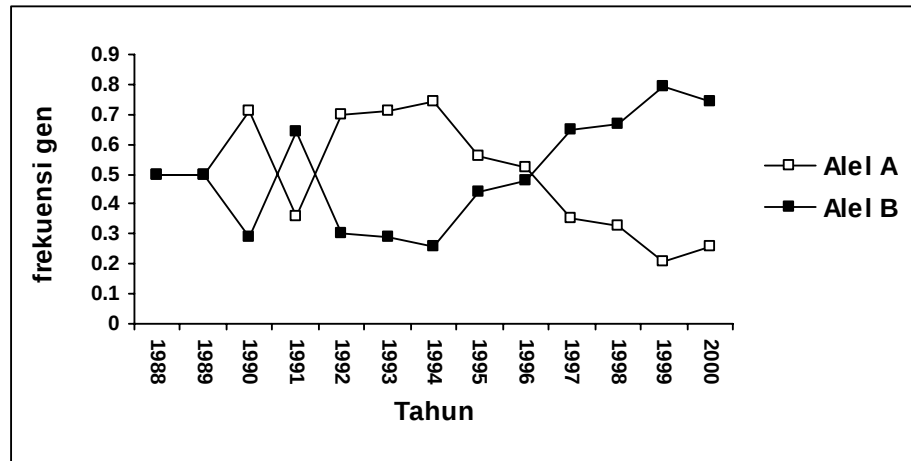
Di BIBB Lembang frekuensi alel A antara pejantan aktif yang sering dikoleksi semennya untuk dibekukan dan calon pejantan hasil uji progeni test tidak memperlihatkan adanya perbedaan. Pada kelompok pejantan aktif tidak ditemukan individu bergenotipe BB (0%), individu bergenotipe AB ada 4 ekor (40,0%) dan bergenotipe AA 6 ekor (60%). Pada kelompok calon pejantan IB ditemukan individu bergenotipe BB ada 2 ekor (13,33%), individu bergenotipe AB ada 5 ekor (33,33%) dan individu bergenotipe AA ada 8 ekor (53,33%).

Salah satu faktor yang mempengaruhi bervariasinya frekuensi alel dari  $\kappa$ -kasein diantaranya berhubungan dengan penggunaan pejantannya. Tabel 2, menunjukkan di BPTU sapi perah Baturraden selama 12 tahun telah terjadi fluktuatif frekuensi alel A tertinggi (0.74) pada tahun 1994 dan terendah (0.21) pada tahun 1999. Dari tahun 1988 sampai 1993 terjadi fluktuatif, tetapi ada kecenderungan sejak tahun 1994 frekuensi alel A terus menerus menurun dan mencapai titik terendah pada 1999, pada tahun 2000 naik sedikit menjadi 0,26.

**Tabel 3.** Pengaruh pejantan FH pada genotipe  $\kappa$ -kasein Anak Betinanya di BPTU Baturraden

| Nomor Pejantan | Asal negara | Semen beku    | NP    | Jumlah anak | (%)  | Genotipe |    |    | Frekuensi Alel |      |
|----------------|-------------|---------------|-------|-------------|------|----------|----|----|----------------|------|
|                |             |               |       |             |      | AA       | AB | BB | A              | B    |
| 3711           | NZ          | BIB Lembang   | TT    | 3           | 2,2  | -        | 3  | -  | 0,50           | 0,50 |
| 38413          | USA         | BIB Singosari | -     | 2           | 1,4  | -        | 2  | -  | 0,50           | 0,50 |
| 46548          | TT          | TT            | TT    | 3           | 2,2  | 2        | 1  | -  | 0,83           | 0,17 |
| 38518          | TT          | TT            | TT    | 2           | 1,4  | -        | 2  | -  | 0,50           | 0,50 |
| P183           | Jepang      | Impor         | +1444 | 20          | 14,4 | 12       | 7  | 1  | 0,78           | 0,22 |
| P237           | Jepang      | Impor         | +205  | 1           | 0,7  | -        | 1  | -  | 0,50           | 0,50 |
| 38619          | TT          | TT            | TT    | 2           | 1,4  | 1        | 1  | -  | 0,75           | 0,25 |
| FB2998         | Jerman      | Impor         | +220  | 1           | 0,7  | -        | -  | 1  | 0,00           | 1,00 |
| 15H297         | TT          | TT            | TT    | 5           | 3,6  | 2        | 3  | -  | 0,70           | 0,30 |
| 21H530         | TT          | TT            | TT    | 9           | 6,5  | 6        | 3  | -  | 0,83           | 0,17 |
| 9H628          | TT          | TT            | TT    | 5           | 3,6  | 2        | 3  | -  | 0,70           | 0,30 |
| P145           | Jepang      | Impor         | +757  | 3           | 2,2  | -        | 3  | -  | 0,50           | 0,50 |
| P543           | Jepang      | Impor         | +990  | 37          | 26,6 | 3        | 24 | 10 | 0,41           | 0,59 |
| P142           | Jepang      | Impor         | +747  | 3           | 2,2  | 1        | 2  | -  | 0,67           | 0,33 |
| P248           | Jepang      | Impor         | +631  | 8           | 5,7  | 2        | 5  | 1  | 0,56           | 0,44 |
| P521           | Jepang      | Impor         | +1484 | 3           | 2,2  | 1        | 1  | 1  | 0,50           | 0,50 |
| 58-18N         | Jepang      | Impor         | +1048 | 10          | 7,2  | -        | 5  | 5  | 0,25           | 0,75 |
| 29H6539        | TT          | TT            | TT    | 8           | 5,7  | 3        | 2  | 3  | 0,50           | 0,50 |
| P1078          | TT          | TT            | TT    | 5           | 3,6  | -        | 2  | 3  | 0,20           | 0,80 |
| P542           | TT          | TT            | TT    | 7           | 5,0  | -        | 4  | 3  | 0,29           | 0,71 |
| 29H8280        | TT          | TT            | TT    | 2           | 1,4  | -        | 2  | -  | 0,50           | 0,50 |
| Total          |             |               |       | 139         |      | 35       | 76 | 28 |                |      |

TT = Informasi tidak tersedia



Gambar 2. Frekuensi gen  $\kappa$ -kasein berdasarkan tahun kelahiran sapi FH di BPTU Baturraden (1988 – 2000)

Tabel 3, menunjukkan seringnya penggunaan pejantan yang sama menjadi salah satu penyebab terjadinya fluktuatif alel A  $\kappa$ -kasein, sebagai contoh dari 21 ekor pejantan yang dipakai selama di BPTU Baturraden periode (1988 – 2000) hanya dua ekor yaitu pejantan No. P 543 merupakan pejantan yang paling sering dipakai (26,6%) dengan jumlah anak betinanya 37 ekor dengan frekuensi alel A (0,41) dan B (0,59). Pejantan yang kedua P 183 (14,4%) dengan jumlah anak 20 ekor mempunyai frekuensi alel A (0,78) dan B (0,22). Hal ini disebabkan kedua pejantan tersebut mempunyai nilai pemuliaan/NP cukup tinggi (+ 1444) untuk pejantan P 183 dan pejantan P 543 mempunyai NP + 990. Berdasarkan genotipe anak-anaknya meskipun pejantan tersebut tidak dianalisis DNANYA, tetapi dapat dipastikan kedua jantan tersebut bergenotipe AB.

### KESIMPULAN

Frekuensi alel A  $\kappa$ -kasein sangat bervariasi tertinggi di Kebon Pedes dan Fapet IPB (1,00), BIBB Lembang (0,74), Pondok Ranggon (0,66) dan terendah di BPTU Baturraden (0,47). Frekuensi alel A  $\kappa$ -kasein pada anak betina pejantan P 543 sebesar (0,41), lebih rendah dari pejantan P 183 (0,78), tetapi lebih tinggi dari pejantan 58-18N (0,25).

### DAFTAR PUSTAKA

- ANGGRAENI, A. 2000. Identifikasi Keunggulan Genetik Produksi Susu Sapi Perah Fries Holland sebagai Penghasil Sapi Perah Bibit. Laporan Puslitnak tahun 1999 dan 2000. Bogor.
- BOBE, G., D.C. BEITZ, A.E. FREEMAN and G.L. LINDERBERG. 1999. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *J. Dairy Sci.* 82: 2797 – 2804.
- BOVENHUIS, H., J.A.M. VAN ARENDONK and S. KERVER. 1992. Associations between milk protein polymorphism and milk production traits. *J. Dairy Sci.* 75: 2549 – 2559.
- FERRETTI, L., P. LEONE and V. SGARAMELLA. 1990. Long range restriction analysis of the bovine casein genes. *Nucleic Acids Research.* 18: 6829 – 6833.
- MALIK, S., S. KUMAR and R. RANI. 2000.  $\kappa$ -Casein and  $\beta$ -casein alleles in crossbred Zebu cattle from India using polymerase chain reaction and sequence-specific oligonucleotide probes. *J. Dairy Res.* 67: 295 – 300.
- NEI, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.
- NG-KWAI-HANG, K.F., J.F. HAYES, J.E. MOXLEY and H.G. MONARDES. 1986. Relationships between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 69: 22 – 26.

- RUNKELS, M., P.M. KOOIMAN, H.A. DEBOER and F.R. PIEPER. 1997. Organization of the bovine casein gene locus. *Mammalian Genome*. 8: 148 – 152.
- SAMBROOK, J., E.F. FRITSCH and T. MANIATIS. 1989. *Molecular Cloning Laboratory Manual* 3<sup>rd</sup> Ed. Cold Spring Harbour Lab. Press, New York.
- SUMANTRI, C., A. ANGGRAENI, R.R.A. MAHESWARI, K. DIWYANTO, A. FARAJALLAH dan B. BRAHMANTIYO. 2004. Frekuensi gen kappa kasein ( $\kappa$ -kasein) pada sapi perah FH berdasarkan produksi susu di BPTU Baturraden. Pros. Seminar Nasional. Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 4 – 5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan, Bogor.
- SUMANTRI, C., R.R.A. MAHESWARI, A. ANGGRAENI, K. DIWYANTO dan A. FARAJALLAH. 2005. Pengaruh genotipe kappa kasein ( $\kappa$ -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.
- SWAISGOOD, H.E. 1992. Chemistry of Caseins. In *Advanced Dairy Chemistry-1 Proteins*. Edited P.F. Fox. Elsevier Applied Science London and New York. pp. 63 – 110.
- THREADGILL, D.W. and J.E. WOMACK. 1990. Genomic analysis of the major bovine milk protein genes. *Nucleic Acids Research*. 18: 6935 – 6942.