

Polimorfisme Gen Diasilgliserol Asiltransferase1 dan Asosiasinya dengan Komponen Asam Lemak Susu Sapi Perah Friesian Holstein

Asmarasari SA¹, Sumantri C², Mathius IW¹, Anggraeni A¹

¹Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002

²Jurusan Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

E-mail: santi_ananda@yahoo.com

(Diterima 23 Juni 2014 ; disetujui 9 September 2014)

ABSTRACT

Asmarasari SA, Sumantri C, Mathius IW, Anggraeni A. 2014. *Diacylglycerol Acyltransferase1* gene polymorphism and its association with milk fatty acid components in Holstein Friesian dairy cattle. *JITV*. 19(3): 159-167. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v19i3.1078>

Diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) gene is one of the major genes that has an important role in milk fat synthesis. This research was aimed at to identifying genetic polymorphism of the DGAT1 gene by PCR-RFLP method and its association to milk fatty acid components. Animals studied were Holstein Friesian (HF) cattle from BBPTU Baturraden (123 cows) and BPPT SP Cikole (36 cows). The length of PCR product of the DGAT1 gene was 411 bp. Genotyping resulted in two types of alleles, namely K (411 bp) and A (203 and 208 bp); and two genotypes, namely KK (411 bp) and AK (203, 208 and 411 bp). For both locations, genotype frequency of AK (0.75) was higher than KK (0.25). The allele frequency of K (0.64) was higher than A (0.36). Heterozygosity of HF cattles at both locations was relatively high ($H_o > H_e$). The DGAT1 gene of the observed HF cattle was polymorphic. Result showed that there was an association between the DGAT1 polymorphism with unsaturated fatty acids especially in nervonat acid. The AK cows had a significant effect on unsaturated fatty acid content of which having a higher nervonat content (0.05%) ($P < 0.05$) than that of the KK cows (0.03%). From the results, it is concluded that the DGAT1 gene can be functioned as a marker of selection for milk fatty acids.

Key Words: DGAT1, PCR-RFLP, Holstein Friesian, Fatty Acids

ABSTRAK

Asmarasari SA, Sumantri C, Mathius IW, Anggraeni A. 2014. Polimorfisme gen *Diasilgliserol asiltransferase1* dan asosiasinya dengan komponen asam lemak susu sapi perah Friesian Holstein. *JITV* 19(3): 159-167. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v19i3.1078>

Gen Diasilgliserol Asiltransferase 1 (DGAT1) merupakan salah satu dari gen-gen major yang berperan penting dalam mengontrol sintesis lemak susu. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keragaman gen *DGAT1* dengan metode *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) serta mengetahui asosiasinya dengan komponen asam lemak susu. Ternak yang dipelajari adalah sapi Friesian Holstein (FH) dari BBPTU SP Baturraden (123 ekor betina) dan BPPT Cikole (36 ekor betina). Panjang produk PCR dari gen DGAT1 diperoleh 411 pb. *Genotyping* menghasilkan dua tipe alel, yaitu K (411 pb) dan A (203 dan 208 pb); serta dua genotipe, yaitu KK (411 pb), AK (203, 208 dan 411 pb). Untuk kedua lokasi, frekuensi genotipe AK (0.75) lebih tinggi dari KK (0.25). Frekuensi alel K (0.64) lebih tinggi dari alel A (0.36). Derajat heterozigositas sapi FH pada kedua populasi relatif tinggi ($H_o > H_e$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada hubungan antara polimorfisme gen DGAT1 dengan komponen asam lemak susu terutama pada asam nervonat. Sapi dengan genotipe AK memiliki kandungan asam nervonat (0,05%) ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan sapi bergenotipe KK (0,03%). Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa gen DGAT1 bisa difungsikan sebagai marka seleksi pada sifat komposisi asam lemak susu.

Kata Kunci: DGAT1, PCR-RFLP, Friesian Holstein, Asam Lemak Susu

PENDAHULUAN

Susu sapi dikenal sebagai komponen penting dari diet manusia. Nilai gizi susu sapi sering dipromosikan sebagai minuman kesehatan dan terbukti memberikan pengaruh yang positif bagi kesehatan tubuh manusia. Susu sebagai makanan *pharmaceutical* bermanfaat untuk mencegah penyakit terkait dengan sistem

kekebalan tubuh, sistem endokrin, sistem saraf, sistem pencernaan dan sistem sirkulasi darah. Susu sapi juga berperan penting pada aktivitas anti-hipertensi, antivirus, antibakteri, antioksidatif, dan untuk kesehatan tulang (Cashman 2006). Meskipun susu sapi memiliki banyak fungsi bagi kesehatan, namun komposisi asam lemak susu yang terkandung di dalamnya sering pula menjadi perhatian karena susu sapi memiliki proporsi

asam lemak jenuh (*saturated fatty acid/SFA*) yang relatif tinggi, tetapi rendah proporsi asam lemak tak jenuh ganda atau (*polyunsaturated fatty acid/PUFA*).

Studi mengenai asam lemak ditemukan bahwa asupan asam lemak jenuh yang relatif tinggi (SFA) berpotensi meningkatkan kolesterol *low density lipoprotein* (LDL) dalam darah manusia, sedangkan asupan asam lemak tak jenuh ganda dapat menurunkan kolesterol LDL (Mensink et al. 2003). Komposisi asam lemak susu sangat dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Meskipun persentase dari asam lemak tak jenuh susu sapi sangat dipengaruhi oleh faktor nutrisi dari pakan ternak (Salter et al. 2007), namun terdapat variasi yang cukup jelas antara individu dalam rumpun maupun antara rumpun sapi perah (Soyeurt et al. 2006). Beberapa penelitian berkaitan dengan usaha untuk mengubah komposisi asam lemak telah dilakukan melalui pakan (Mansoori et al. 2011). Pada tingkat molekuler, identifikasi keragaman gen penyandi enzim yang berperan dalam pembentukan lemak dan asam lemak juga telah dilaporkan. Schennink et al. (2007) menyatakan bahwa nilai heritabilitas asam lemak susu tinggi untuk asam lemak jenuh rantai pendek sampai sedang (C4:0-C16:0) $h^2 = 0,43-0,59$, heritabilitas sedang untuk asam lemak tidak jenuh rantai panjang (C18) $h^2 = 0,23-0,26$. Garnsworthy et al. (2010) melaporkan heritabilitas asam lemak jenuh (SFA) bernilai sedang ($h^2 = 0,14 \pm 0,081$), untuk asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA) rendah ($h^2 = 0,09 \pm 0,069$), sedangkan untuk asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) rendah ($h^2 = 0,03 \pm 0,069$). Demikian pula, sebuah studi dari 1.167 sapi Holstein di Belgia melaporkan heritabilitas yang lebih besar untuk konsentrasi lemak susu dari SFA ($h^2 = 0,24$) dan MUFA ($h^2 = 0,27$) (Soyeurt et al. 2008). Dengan demikian seleksi langsung berdasarkan komposisi asam lemak sangat mungkin dilakukan dalam program pemuliaan masa depan untuk meningkatkan profil asam lemak susu dengan meningkatnya konsentrasi MUFA dan penurunan konsentrasi SFA.

Suatu studi pemetaan lokus sifat kuantitatif (QTL) pada sapi menghasilkan identifikasi polimorfisme dalam pengkodean gen untuk *diacylglycerol acyltransferase1* (DGAT1), yang merupakan kunci enzim dalam sintesis trigliserida dan diduga memiliki pengaruh yang kuat terhadap persentase lemak susu dan karakteristik produksi susu lainnya (Grisart et al. 2002; Winter et al. 2002). Gen DGAT1 terletak pada kromosom 14, memiliki panjang 14.117 bp, terdiri dari 17 exon dan 16 intron (Grisart et al. 2002). Schennink et al. (2007) menemukan bahwa polimorfisme DGAT K232A memiliki pengaruh yang jelas terhadap komposisi lemak susu. Alel dari Gen DGAT1 yang mengkode lisin (K) pada posisi basa 232 dikaitkan dengan kandungan lemak jenuh dan CLA ($P < 0,001$).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman genetik gen DGAT1 dan menguji hubungan keragaman gen DGAT1 terhadap komponen asam lemak susu.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama delapan bulan, yaitu dari bulan Mei 2012 sampai dengan Januari 2013 di Laboratorium Genetika Molekuler Ternak, bagian Pemuliaan dan Genetika, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor (LGMT-IPB).

Sampel penelitian

Sampel ternak yang digunakan untuk identifikasi polimorfisme gen DGAT1 adalah sapi FH induk dengan jumlah total 159 ekor, berasal dari Balai Besar Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah (BBPTU SP Baturraden) (123 ekor) dan Balai Pengembangan dan Pembibitan Sapi Perah (BPPT SP) Cikole (36 ekor).

Sampel susu

Sampel susu untuk melihat asosiasi polimorfisme gen DGAT1 dengan komponen asam lemak susu digunakan sampel dari BBPTU SP Baturraden (40). Sampel susu dikoleksi berdasarkan uji satu hari dengan menjumlahkan produksi pagi dan sore dari sapi laktasi dalam kisaran periode laktasi 1-6 dan bulan laktasi 1-12.

Primer

Primer untuk mengamplifikasi ruas gen DGAT1 mengikuti (Winter et al. 2002), dengan produk hasil amplifikasi sepanjang 411 pb. Runutan Primer *forward* dan *reverse* gen DGAT1 yaitu *forward* 5'-GCACCATCCTCTTCCTCAAG-3' dan *reverse* 5'-GGAAGCGCTTTCGGATG-3' dengan target amplifikasi pada exon 8.

Prosedur penelitian

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dari sampel darah sapi FH mengikuti metode Sambrook et al. (1989) yang dimodifikasi.

Amplifikasi ruas gen DGAT1

Amplifikasi ruas gen DGAT1 dilakukan dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Pereaksi yang digunakan untuk amplifikasi ruas gen target

adalah 1 µl sampel DNA, 0,5 µl primer DGAT1 (Forward dan Reverse), 0,5 µl dNTPs, 0,5 µl MgCl₂, 1,5 µl 10 x *buffer*, 0,1 µl enzim *taq polymerase*, 10,9 µl *Distillation Water* (DW) dalam larutan total 14 µl. Amplifikasi *in vitro* dengan mesin *thermal cycler* dilakukan dengan kondisi denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, 35 siklus yang terdiri dari denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, penempelan primer (*annealing*) pada suhu 60°C selama 1 menit, pemanjangan primer (*extension*) pada suhu 72°C selama 1 menit, dan pemanjangan akhir (*final extension*) pada suhu 72°C selama 5 menit.

Penentuan genotipe dengan pendekatan PCR-RFLP

Penentuan genotipe masing-masing individu dilakukan dengan pendekatan *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) menggunakan enzim restriksi spesifik *EaeI* yang mengenali situs mutasi. Sebanyak 5 µl produk PCR dipindahkan ke dalam tabung 0,5 ml dan ditambahkan 2 µl enzim restriksi *EaeI* 0,7 µl *buffer* 4 dan 0,8 µl DW. Campuran tersebut kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 detik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam. Hasil PCR-RFLP divisualisasikan pada gel agarose 2% dengan bufer 0,5x TBE (tris borat EDTA) yang difungsikan pada tegangan 100 V selama 45 menit yang diwarnai dengan etidium bromida (*EtBr*) diatas UV trans iluminator.

Analisis data

Frekuensi alel dan genotipe

Frekuensi alel (X_i) merupakan rasio suatu alel terhadap keseluruhan alel pada suatu lokus dalam populasi. Frekuensi alel dapat diperkirakan menggunakan rumus Nei & Kumar (2000), sebagai berikut:

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

Keterangan:

- χ_i = Frekuensi alel ke-i;
- n_{ii} = Jumlah individu yang bergenotipe ii;
- n_{ij} = Jumlah individu yang bergenotipe ij;
- n = Jumlah sampel

Frekuensi genotipe dapat diperkirakan dengan menghitung perbandingan jumlah genotipe pada populasi. Frekuensi genotipe (χ_{ii}) dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\chi_{ii} = \frac{n_{ii}}{n}$$

Keterangan:

- χ_{ii} = frekuensi genotipe ke-ii;
- n_{ii} = jumlah sampel bergenotipe ii;

n_{ij} = jumlah sampel bergenotipe ij;

n = jumlah sampel.

Heterozigositas

Heterozigositas merupakan salah satu indikator keragaman gen dalam populasi yang menunjukkan proporsi heterozigot pada individu yang diambil secara acak. Derajat heterozigositas lokus DGAT1 diuji dengan menggunakan *software PopGene32 versi 1.31*.

Kandungan asam lemak susu

Pengukuran kandungan asam lemak pada sampel susu dilakukan menggunakan metode *Gas Chromatography* (AOAC 2005). Sampel susu diambil dari 40 ekor sapi FH betina laktasi yang dipelihara secara intensif di BBPTU SP Baturraden.

Analisis hubungan genotipe dengan komponen asam lemak susu

Analisis hubungan antara genotipe gen DGAT1 dengan kandungan asam lemak tidak jenuh dilakukan dengan metode analisis *General Linear Model* (GLM) menggunakan *software SAS 9.1* dengan model linear mengikuti Mattjik & Sumertawijaya (2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi gen *Diasilgliserol Asiltransferase1* (DGAT1)

Ruas gen DGAT1 sapi perah FH yang berasal dari BBPTU SP Baturraden, dan BPPT SP Cikole telah berhasil diamplifikasi dengan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Panjang produk hasil amplifikasi ruas gen DGAT1 adalah 411 bp yang terletak di exon 8. Persentase keberhasilan amplifikasi gen DGAT1 dalam penelitian ini adalah 100%. Hasil amplifikasi gen DGAT1 dikonfirmasi pada gel agarose 1,5% (Gambar 1).

Keragaman genotipe gen DGAT1 sapi FH dengan pendekatan PCR-RFLP

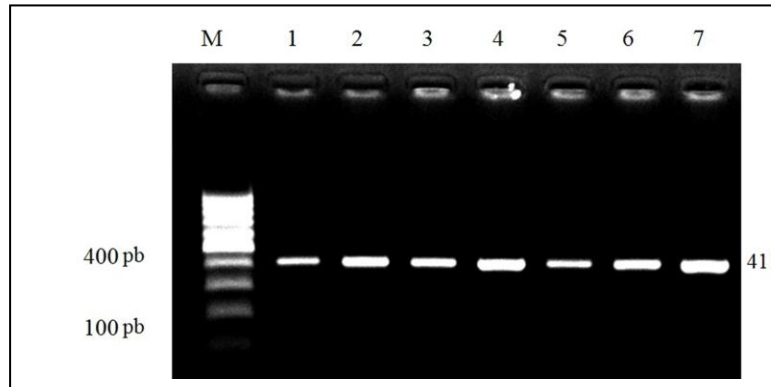
Berdasarkan referensi GenBank nomor akses AY065621, didapatkan produk PCR hasil amplifikasi berukuran 411 pb (Gambar 1). Produk kemudian dipotong dengan metode RFLP menggunakan enzim *EaeI* untuk mendeteksi adanya mutasi (titik) pada exon 8 gen DGAT1. Keragaman pada ekson 8 disebabkan oleh terjadinya substitusi dua nukleotida (AA → GC), yang mengubah lysin menjadi alanin pada posisi asam amino ke 232 (mutasi K232A) (Grisart et al. 2002). Situs pemotongan enzim *EaeI* disajikan pada Gambar 2.

Hasil *genotyping* pada ruas gen DGAT1 pada sapi perah FH menghasilkan dua varian genotipe yaitu genotipe KK dan AK (Gambar 3). Genotipe AA tidak ditemukan pada semua lokasi yang diamati. Bila pita DNA tidak terpotong sehingga hanya diperoleh satu pita berukuran 411 pb, maka diperoleh genotipe homozigot KK. Jika diperoleh tiga pita DNA berukuran 411, 203 dan 208 pb, diidentifikasi sebagai genotipe AK dan jika dihasilkan dua pita DNA berukuran 203

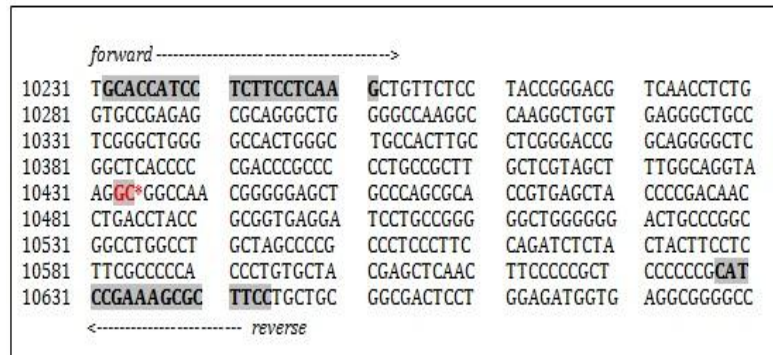
dan 208 pb, maka sapi diidentifikasi memiliki genotipe homozygote AA (Lacorte et al. 2006)

Frekuensi genotipe dan Alel Gen DGAT1

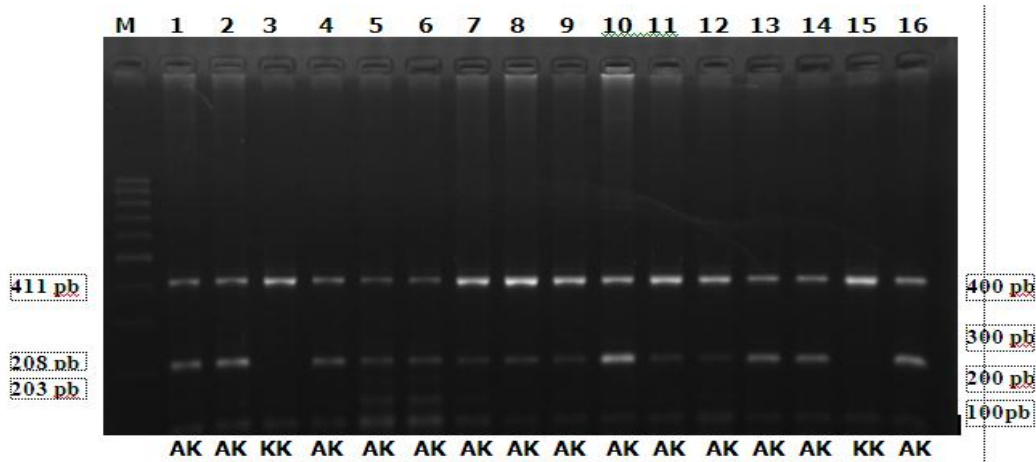
Hasil analisis frekuensi genotipe dan alel sapi FH dari kedua lokasi disajikan pada Tabel 1.



Gambar 1. Visualisasi pita DNA hasil amplifikasi ruas Gen DGAT1 pada gel agarose 1,5%. M: marker 100 bp, 1-8 = nomor sampel



Gambar 2. Posisi penempelan *primer forward* dan *reverse* serta situs pemotongan enzim *EaeI* (GenBank nomor akses AY065621)



Gambar 3. Visualisasi pita DNA dari Gen DGAT1 pada gel agarose 2%. M: marker 100 bp, 1-16 = nomor sampel

Sumber: Asmarasari (2013)

Berdasarkan hasil analisis keragaman menggunakan frekuensi genotipe, ditemukan bahwa frekuensi genotipe AK (75%) pada dua populasi sapi perah FH lebih tinggi dibanding dengan frekuensi genotip KK (25%) dan AA (0%). Fenomena tidak adanya genotipe AA dari sapi betina FH, baik di peternakan rakyat maupun di stasiun bibit salah satunya adalah dipengaruhi oleh sumber pejantan inseminasi buatan (IB) yang digunakan. Pejantan yang digunakan untuk IB pada betina laktasi umumnya berasal dari BIB Lembang dan BBIB Singosari. Berdasarkan hasil analisis pada sapi pejantan IB yang berasal dari BIB Lembang dan BBIB Singasari tidak ditemukan genotipe AA dan frekuensi alel A rendah pada pejantan yang diamati (Asmarasari 2013).

Frekuensi alel sapi FH dari populasi di BBPTU Baturraden dan Cikole diperoleh alel K (64%) lebih tinggi dibanding alel A (36%) (Tabel 1). Frekuensi alel adalah frekuensi relatif dari suatu alel dalam populasi atau jumlah suatu alel terhadap jumlah total yang terdapat dalam suatu populasi (Nei & Kumar 2000). Dari hasil penelitian ini, gen DGAT1 pada sapi FH dari dua populasi yang diamati bersifat polimorfik karena ditemukan dua tipe alel, yaitu alel K dan alel A. Menurut Nei & Kumar (2000) menyatakan bahwa suatu alel dapat dikatakan polimorfik jika memiliki frekuensi alel sama dengan atau kurang dari 0,99.

Keragaman genotipe gen DGAT1 sapi FH dari dua populasi dapat dibandingkan dengan beberapa penelitian sebelumnya. Lacorte et al. (2006) melaporkan bahwa sapi Holstein di Brazil memiliki tiga varian genotipe yaitu KK (14%), AK (26%) dan AA (60%). Frekuensi alel yang didapatkan yaitu alel K (27%) lebih rendah daripada alel A (73%). Perbedaan hasil *genotyping* ini disebabkan perbedaan rumpun yang diamati dan kemungkinan perbedaan sistem *breeding* yang digunakan oleh Negara tersebut. Perbedaan jumlah sampel juga mempengaruhi peluang untuk mendapatkan genotipe yang berbeda. Lacorte et al. (2006) menyatakan tingginya frekuensi genotipe AA kemungkinan disebabkan karena semen pejantan pada sapi Holstein Brazil berasal dari semen yang diimpor dari Amerika Serikat yang berasal dari *gene pool* yang sudah mengalami adanya seleksi tidak langsung, yang dilakukan secara intensif ke arah produksi susu. Frekuensi alel dan genotipe pada beberapa rumpun sapi perah menurut penelitian Lacorte et al. (2006) Tabel 2.

Polimorfisme gen DGAT1 beberapa rumpun sapi perah menurut penelitian sebelumnya berasosiasi dengan sifat produksi susu (kg), produksi lemak (kg), produksi protein (kg), persentase lemak susu dalam suatu volume (%), dan persentase protein dalam suatu volume (%). Polimorfisme gen DGAT1 pada beberapa rumpun sapi perah dan asosiasinya terhadap sifat kualitas susu ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 1. Frekuensi genotipe dan alel gen DGAT1 pada sapi Friesian Holstein

Populasi	Jenis kelamin	Frekuensi genotipe			Alel	
		KK	AK	AA	K	A
BBPTU SP Baturraden (123)	Betina	0,24 (28)	0,76 (95)	0,000 (0)	0,61	0,39
BPPT SP Cikole (36)	Betina	0,31 (11)	0,69 (25)	0,000 (0)	0,65	0,35
Total (159)		0,25 (39)	0,75 (120)	0,000 (0)	0,64	0,36

(...) = Jumlah sampel

Tabel 2. Frekuensi genotipe dan frekuensi alel pada beberapa rumpun sapi perah

Rumpun	Frekuensi genotipe (%)			Frekuensi alel (%)	
	KK	AK	AA	K	A
Gyr	94,00	4,00	2,00	96,00	4,00
Guzerat	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00
Nellore	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00
Red Sindhi	95,00	5,00	0,00	97,50	2,50
Holstein	14,00	26,00	60,00	27,00	73,00
Gyr x Holstein	30,00	62,00	8,00	61,00	39,00

Sumber: Lacorte et al. (2006)

Heterozigositas

Pendugaan nilai heterozigositas memiliki arti penting untuk diketahui, yaitu untuk mendapatkan gambaran variabilitas genetik (Marson et al. 2005). Heterozigositas disebut juga sebagai keragaman genetik. Nilai heterozigositas dipengaruhi oleh jumlah sampel, jumlah alel dan frekuensi alel. Hasil analisis heterozigositas populasi sapi FH pada lokasi yang berbeda ditampilkan pada Tabel 4.

Nilai heterozigositas pengamatan (H₀) populasi sapi FH dari dua lokasi berbeda berkisar antara 0,69-0,77 dan nilai heterozigositas harapan (H_e) berkisar antara 0,45-0,47. Nilai heterozigositas pengamatan (H_o) di BBPTU SP Baturraden sebesar 0,77 dan nilai heterozigositas pengamatan (H_o) di BPPT Cikole adalah 0,69. Menurut Javanmard et al. (2005) nilai heterozigositas kurang dari 0,5 mengindikasikan rendahnya variasi gen dalam suatu populasi. Nilai H_o yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai H_e pada suatu populasi menunjukkan bahwa nilai respon seleksi yang didapatkan pada lokasi tersebut relatif tinggi (Machado et al. 2003).

Asosiasi Polimorfisme Gen Diasilgliserol Asiltransferase1 (DGAT1) dengan Komponen Asam Lemak Susu Sapi Perah Friesian Holstein (FH)

Pengujian pengaruh genotipe gen DGAT1 terhadap komponen asam lemak susu sapi perah Friesian Holstein disajikan pada Tabel 5 Pengamatan komposisi asam lemak susu dilakukan di BBPTU SP Baturraden yang menerapkan pola pemeliharaan intensif. Hal ini bertujuan untuk meminimalkan pengaruh lingkungan dan manajemen pemeliharaan terhadap komponen asam lemak.

Berdasarkan analisis kualitatif menggunakan *Gas Chromatography* (GC), asam lemak susu yang teridentifikasi ada 22 jenis asam lemak, yang terdiri dari 13 jenis asam lemak jenuh (SFA), 5 jenis asam lemak tidak jenuh tunggal (MUFA), dan 4 jenis asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA). Komposisi bruto asam lemak susu dalam penelitian ini berkisar 65,59-67,94% untuk asam lemak jenuh (SFA), 29,19-30,01% untuk asam lemak tidak jenuh tunggal (MUFA) dan 0,94-2,88% untuk asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA).

Tabel 3. Polimorfisme gen DGAT1 pada beberapa rumpun sapi perah

Rumpun (ekor)	Frekuensi alel	Asosiasi	Referensi
New Zealand Holstein-Friesian bulls (1527)	K:0,60	K:Meningkatkan kadar lemak susu total; menurunkan produksi susu dan kadar protein	Spelman et al. 2002
Fleckviech bulls (833)	K:0,07	K: Meningkatkan kadar lemak susu total dan kadar protein	Thaller et al. 2003
German Holstein bulls (858)	K:0,55	K: Meningkatkan kadar lemak susu total dan kadar protein	Thaller et al. 2003
Montbeliarde bulls	K:0,04	K: Meningkatkan kadar lemak total, kadar lemak susu dan kadar protein ;	Gautier et al. 2007
Dutch Holstein Friesian (1762)	K:0,40	K: Meningkatkan kadar lemak total, persentase lemak susu dalam suatu volume dan kadar protein; menurunkan produksi susu dan kadar protein total	Schennink et al. 2007

Tabel 4. Heterozigositas gen DGAT1

Populasi	Jumlah (ekor)	Jenis Kelamin	H _o	H _e
BBPTU SP Baturraden	123	Betina	0,77	0,47
BPPT Cikole	36	Betina	0,69	0,45
Total	159			

H_o=heterozigositas pengamatan; H_e=heterozigositas harapan

Tabel 5. Pengaruh varian genotipe DGAT1 terhadap komponen asam lemak susu sapi Friesian Holstein (FH) di BBPTU SP Baturraden

Asam Lemak	KK (n=6)	AK (n=34)	Probabilitas
Jenuh (<i>Saturated</i>)			
Rantai pendek (C4-C8)			
Butirat (C4:0)	0,47 ^a ±0,14	0,59 ^a ±0,40	0,970 ns
Kaproat (C6:0)	0,34 ^a ±0,09	0,48 ^a ±0,26	0,600 ns
Kaprilat (C8:0)	0,90 ^a ±0,24	1,12 ^a ±0,54	0,893 ns
Sub total	1,71	2,19	
Rantai sedang/medium (C10-C14)			
Kaprat (C10:0)	0,02 ^a ±0,01	0,01 ^a ±0,01	0,196 ns
Laurat (C12:0)	4,00 ^a ±1,55	4,76 ^a ±1,79	0,655 ns
Miristat (C14:0)	11,59 ^a ±2,11	12,47 ^a ±2,38	0,986 ns
Sub total	15,61	17,24	
Rantai panjang (C15-C24)			
Pentadecanoat (C15:0)	1,17 ^a ±0,27	1,12 ^a ±0,21	0,324 ns
Palmitat (C16:0)	34,29 ^a ±8,07	33,73 ^a ±8,08	0,231 ns
Heptadecanoat (C17:0)	0,51 ^a ±0,10	0,52 ^a ±0,09	0,759 ns
Stearat (C18:0)	12,17 ^a ±1,98	13,04 ^a ±4,17	0,501 ns
Arachidat (C20:0)	0,08 ^a ±0,01	0,05 ^a ±0,02	0,765 ns
Behenat (C22:0)	0,02 ^a ±0,01	0,02 ^a ±0,01	0,580 ns
Lignocerat (C24:0)	0,03 ^a ±0,01	0,03 ^a ±0,02	0,461 ns
Sub total	48,27	48,51	
Total	65,59	67,94	
Tak jenuh (<i>Unsaturated</i>)			
Tak jenuh tunggal (C14:1) - (C24:1)			
Miristoleat (C14:1)	1,05 ^a ±0,40	1,02 ^a ±0,38	0,963 ns
Palmitoleat (C16:1)	2,37 ^a ±0,57	1,97 ^a ±0,58	0,215 ns
Oleat (C18:1)	26,52 ^a ±9,14	26,06 ^a ±9,26	0,529 ns
Eurat (C22:1)	0,04 ^a ±0,01	0,09 ^a ±0,26	0,580 ns
Nervonat (C24:1)	0,03 ^a ±0,03	0,05 ^b ±0,03	0,047 s
Total	30,01	29,19	
Tak jenuh ganda (C18:2) - (C22:6) :			
Linoleat (C18:2)	0,75 ^a ±0,24 (6)	0,87 ^a ±0,41 ^a (29)	0,440 ns
Linolenat (C18:3)	0,16 ^a ±0,08	0,20 ^a ±0,06	0,420 ns
Eicosatrinoat (C20:3)	0,03 ^a ±0,01	0,04 ^a ±0,01	0,343 ns
Arachidonat (C20:4)	0,08 ^a ±0,02	0,08 ^a ±0,03	0,528 ns
Total	0,94	2,88	

a,b Angka-angka pada baris yang sama yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji selang berganda Duncan);

ns = non signifikan;

s = signifikan

Hasil ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Mansson (2003), dikatakan bahwa komposisi bruto lemak susu pada sapi Swedish adalah 69,4% asam lemak jenuh dan 30,6% asam lemak tak jenuh. Gen DGAT1 berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap asam nervonat (C24:1) tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap asam lemak tidak jenuh yang lain (miristoleat,

palmitoleat, oleat, eurat, linolenat, eicosatrinoat dan arachidonat).

Trigliserida lemak susu disintesis oleh lebih dari 400 asam lemak yang berbeda, yang menjadikan lemak susu paling kompleks dari semua lemak alami. Hampir semua asam lemak ini ada dalam jumlah kecil dan hanya sekitar 15 jenis asam lemak pada tingkat 1% atau

lebih tinggi. Banyak faktor yang terkait dengan variasi dalam jumlah dan komposisi asam lemak susu sapi. Variasi dalam komposisi asam lemak dapat berasal dari ternak atau spesies, yaitu berhubungan dengan genetika (pemuliaan dan seleksi), tahap laktasi, mastitis dan fermentasi rumen, faktor pakan yang terkait dengan asupan energi, lemak makanan, kandungan serat pakan serta pengaruh musim (Jensen 2002).

Penelitian Schennink et al. (2007) melaporkan bahwa polimorfisme gen DGAT1 (alel K) berpengaruh sangat nyata terhadap kandungan asam miristat (C14), asam stearat (C18) dan CLA (*Conjugated Linoleic Acids*) ($P < 0,001$). Komposisi asam lemak susu sangat dipengaruhi oleh genetik dan lingkungan. Komposisi asam lemak susu yang dihasilkan tiap individu berbeda-beda berdasarkan rumpun (Soyeurt et al. 2006), spesies (Schennink et al. 2007) dan pakan yang diberikan Mansoori (2011).

Penelitian yang mengungkap variasi genetik yang besar dalam komposisi asam lemak susu sapi telah dilaporkan (Soyeurt et al. 2008). Kandidat gen yang mendasari variasi komposisi asam lemak dapat ditemukan dalam sintesis lemak dan jalur metabolisme, yang berada di bawah kendali dari beberapa gen. Namun demikian informasi tentang efek polimorfisme DNA pada komposisi lemak susu masih langka karena komposisi data lemak susu seperti persentase lemak susu dan produksi susu, tidak secara rutin dan lengkap dikumpulkan dalam skema *recording* susu. Polimorfisme dalam gen *diacylglycerol acyltransferase1* (DGAT1) dan *stearoil-CoA desaturase1* (SCD1) telah terbukti mempengaruhi komposisi lemak susu sapi dalam populasi sapi yang berbeda (Mele et al. 2007). Polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) dalam beberapa gen lain yang berperan dalam sintesis lemak atau jalur metabolisme telah terkait dengan persentase lemak susu atau produksi lemak susu. Beberapa gen yang telah dievaluasi mengenai hubungan antara SNP dalam gen dan komposisi lemak susu sapi adalah *ATP-binding cassette G2* (ABCG2), *fatty acid synthase* (FASN), *oxidized low-density lipoprotein receptor 1* (OLR1), peroxysome proliferator-activated receptor- γ *coactivator-1 α* (PPARGC1A), prolactin (PRL), dan *signal transducer and activator of transcription 5A* (STAT5A) (Schennink et al. 2007).

KESIMPULAN

Hasil identifikasi keragaman ruas gen DGAT1 pada penelitian ini menunjukkan bahwa ruas gen DGAT1 bersifat polimorfik karena ditemukan dua tipe alel, yaitu alel K dan A. Frekuensi genotipe AK (75%) pada populasi yang diamati lebih tinggi dibanding dengan frekuensi genotip KK (25%). Frekuensi alel K pada ruas gen DGAT1 tinggi (0,531-0,844) di semua

populasi dibandingkan dengan frekuensi alel A. Sapi dengan genotipe AK menghasilkan asam nervonat lebih tinggi dibanding genotipe KK ($P < 0,05$). Asam nervonat merupakan salah satu jenis dari asam lemak tidak jenuh tunggal (*mono unsaturated fatty acid*), sehingga gen DGAT1 mempunyai peluang untuk dijadikan marka pembantu seleksi (MAS).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pimpinan Balai Besar Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah (BBPTU SP) Baturraden-Purwokerto, yang telah mengizinkan mengambil sampel darah maupun susu, Dr. Polmer Situmorang selaku Penanggung Jawab RPTP Sapi Perah, serta kepada sdr. Eryk Andreas yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan secara teknis analisa DNA di laboratorium LGMT IPB.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2005. Official methods of analysis of the association of official analytical chemist. Edisi ke-18. Washington DC (US): Horwitz William Publisher.
- Asmarasari SA. 2013. Genetic Variation of DGAT1 [EaeI Gene of Holstein Friesian in National Dairy Cattle Stations. Nugrahani EH, Rachmania IN, Kusuma WA, Kusananto A, editors. Proceedings International Seminar on Science. Bogor (Indones): FMIPA-IPB. p. 339-344.
- Cashman KD. 2006. Review milk minerals (including trace elements) and bone health. *Int Dairy J.* 16:1389-1398.
- Garnsworthy PC, Feng S, Lock AL, Royal MD. 2010. Short communication: Heritability of milk fatty acid composition and Stearoyl-CoA desaturate indices in dairy cows. *J Dairy Sci.* 93:1743-1748.
- Gautier M, Capitan A, Fritz S, Eggen A, Boichard D, Druet T. 2007. Characterization of the DGAT1 K232A and variable number of tandem repeat polymorphisms in French dairy cattle. *J Dairy Sci.* 90:2980-2988.
- Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim L, Ford C, Berzi P, Cambisano N, Mni M, Reid S, Simon P, Spelman R, Georges M, Snell R. 2002. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: Identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Gen Res.* 12:222-231.
- Javanmard A, Asadzadeh N, Banabazi MH, Tavakolian J. 2005. The Allele and genotype frequencies of bovine pituitary specific transcription factor and leptin genes in iranian cattle and buffalo populations using PCR-RFLP. *Iranian J Biotechnol.* 3:104-108.
- Jensen RG. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J Dairy Sci.* 85:295-350.

- Lacorte GA, Machado MA, Martinez ML, Campos AL, Maciel RP, Verneque RS, Teodoro RL, Peixoto MGCD, Carvalho MRS, Fonseca CG. 2006. DGAT1 K232A polymorphism in Brazilian cattle breeds. *Gen Mol Res.* 5:475-482.
- Mansson HL. 2003. Composition of Swedish dairy milk 2001. Report Nr 7025-P (In Swedish), Swedish Dairy Association.
- Mansoori H, Aghazadeh A, Nazeradi K. 2011. The changes of milk fatty acids profile and milk performances by using of whole sunflower oil seed (raw or treated) in lactating Holstein cow's diets. *Afr J Agric Res.* 6:4261-4271.
- Machado MA, Schuster I, Martinez ML, Campos AL. 2003. Genetic diversity of four breed using microsatellite markers. *Rev Bras De Zool.* 32:93-98.
- Marson EP, Ferraz JBS, Meirelles FV, Balieiro JCD, Eler JP, Figueiredo LGG, Mourao GB. 2005. Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. *Gen Mol Res.* 4:496-505.
- Mattjik AA, Sumertajaya M. 2006. Perancangan percobaan dengan aplikasi SAS dan Minitab jilid 1. Bogor (Indones): IPB Press.
- Mele M, Conte G, Castiglioni B, Chessa S, Macciota NP, Serra A, Buccioni A, Pagnacco G, Secchioni P. 2007. Stearoyl-coenzyme a desaturate gene polymorphism and milk fatty acid composition in Italian Holsteins. *J Dairy Sci.* 90:4458-4465.
- Mensink RP, Zock PL, Kester ADM, Katan MB. 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 77:1146-1155.
- Nei M, S. Kumar. 2000. Molecular evolutionary genetics. New York (USA): Columbia University Press.
- Salter AM, Lock AL, Garnsworthy PC, Bauman DE. 2007. Milk fatty acids: Implications for human health. Garnsworthy PC, Wiseman J, editors. Nottingham (UK): Recent advances in animal nutrition 2006. 40th University of Nottingham Feed Conference, Sutton Bonington Campus. p. 1-18.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. United State of America: CSH Laboratory Press.
- Schennink A, Stoop WM, Visker MHPW, Heck JML, Bovenhuis H, Van der Poel JJ, Van Valenberg HJF, Van Arendonk JAM. 2007. DGAT1 underlies large genetic variation in milk-fat composition of dairy cows. *Anim Gen.* 38:467-473.
- Soyeurt H, Dardenne P, Gillon A, Croquet C, Vanderick S, Mayeres P, Bertozzi C, Gengler N. 2006. Variation in fatty acid contents of milk and milk fat within and across breeds. *J Dairy Sci.* 89:4858-4865.
- Soyeurt H, Dardenne P, Dehareng F, Bastin C, Gengler N. 2008. Genetic parameters of saturated and monounsaturated fatty acid content and the ratio of saturated to unsaturated fatty acids in bovine milk. *J Dairy Sci.* 91:3611-3626
- Spelman RJ, Ford CA, McElhinney P, Gregory GC, Snell RG. 2002. Characterization of the DGAT1 gene in the New Zealand dairy population. *J Dairy Sci.* 85:3514-3517.
- Thaller G, Kuhn C, Winter A, Ewald G, Bellmann O, Wegner J, Zuhlke H, Fries R. 2003. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Anim Gen.* 34:354-357.
- Winter A, Kramer W, Werner FAO, Kollers S, Kata S, Durstewitz G, Buitkamp J, Womack JE, Thaller G, Fries R. 2002. Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. Womack JE, editor. *Proceeding Natl Academy Sci. USA.* 99:9300-9305.