

Polimorfisme Genetik Gen β -Laktoglobulin pada Sapi *Friesian Holstein*

Nury HS¹, Anggraeni A²

¹Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor

²Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor

E-mail: ria.anneke@yahoo.co.id

(Diterima 21 Desember 2013 ; disetujui 13 Maret 2014)

ABSTRACT

Nury HS, Anggraeni A. 2014. Genetic polymorphism of the β -lactoglobuline gene in Friesian Holstein cows. JITV 19(1): 35-42. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v19i1.992>

Milk protein in dairy cattle consists of casein and whey. *Whey* in milk of dairy cattle is about 20% with the main component is β -lactoglobulin (7-12%). Polymorphism of the β -lactoglobulin gene affects protein and whey production in milk. Selection at a molecular base to improve whey and protein in milk requires information on genetic diversity of the β -lactoglobulin gene, besides other protein genes. This study was aimed to identify genetic polymorphism of the β -lactoglobulin gene in 88 heads of Friesian Holstein (FH) cows at Cikole Dairy Cattle Breeding and Improvement Station (Cikole DCBIS), Lembang. Genotyping was done using Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) method, and a *Hae*III restriction enzyme. Genotype frequency, allele frequency, and heterozygosity value were calculated by Nei method. Hardy-Weinberg equilibrium was calculated by chi-square test. Result showed that the β -lactoglobulin gene in the observed HF cattle was polymorphic, in which there were two alleles (A and B) and three genotypes (AA, AB and BB). Frequencies of the A and B alleles were 0.40 and 0.60 respectively; while those of the AA, AB, and BB genotypes were successively 0.10; 0.60 and 0.30. Heterozygosity value was obtained for 0.483. The β -lactoglobulin gene was in Hardy - Weinberg equilibrium ($\chi^2_{cal} < \chi^2_{table}$). It is concluded that polymorphic of the β -lactoglobulin gene can be used as an initial information for molecular selection on milk protein composition in FH cows.

Key Words: HF Cattle, β -lactoglobuline Gene, Genetic Polymorphism, PCR-RFLP

ABSTRAK

Nury HS, Anggraeni A. 2014. Polimorfisme genetik gen β -laktoglobulin pada sapi *Friesian Holstein*. JITV 19(1): 35-42. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v19i1.992>

Protein dari susu sapi perah meliputi kasein dan *whey*. *Whey* dalam susu sapi perah sekitar 20%, dengan komponen utamanya adalah β -laktoglobulin (7-12%). Keragaman gen β -laktoglobulin berpengaruh pada produksi protein dan *whey* susu. Seleksi molekular untuk perbaikan *whey* protein susu memerlukan informasi variasi genetik gen β -laktoglobulin, disamping sejumlah gen protein lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi polimorfisme genetik gen β -laktoglobulin pada sapi Friesian Holstein (FH) induk sejumlah 88 ekor di Balai Pembibitan dan Pengembangan Ternak Sapi Perah (BPPT-SP) Cikole, Lembang. *Genotyping* menerapkan metode *Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP), menggunakan enzim restriksi *Hae*III. Frekuensi genotipe, frekuensi alel, dan nilai heterozigositas dihitung dengan metode Nei. Kesetimbangan Hardy-Weinberg dihitung dengan uji chi-square. *Genotyping* gen β -laktoglobulin pada sapi FH pengamatan bersifat polimorfik, yang menghasilkan dua tipe alel (A dan B); serta tiga genotipe (AA, AB dan BB). Frekuensi alel A dan B diperoleh sebesar 0,40 dan 0,60; sedangkan frekuensi genotipe AA, AB dan BB berurutan 0,10; 0,60 dan 0,30. Nilai heterozigositas diperoleh sebesar 0,483. Gen β -laktoglobulin sapi FH pengamatan berada pada keseimbangan Hardy-Weinberg ($\chi^2_{hit} < \chi^2_{tabel}$). Disimpulkan bahwa sifat polimorfik gen β -laktoglobulin dapat dijadikan informasi awal untuk keperluan seleksi *whey* protein susu sapi FH.

Kata Kunci: Sapi FH, Gen β -laktoglobulin, Polimorfisme Genetik, PCR-RFLP

PENDAHULUAN

Sapi perah Friesian Holstein (FH) merupakan rumpun sapi perah yang paling dominan dalam menghasilkan susu segar di dalam negeri. Sapi perah sangat efisien dalam mengubah pakan berupa hijauan

dan konsentrat menjadi susu dengan substansi gizi yang lengkap. Sapi FH merupakan salah satu rumpun sapi perah dengan kemampuan menghasilkan produksi susu cukup tinggi. Namun pada sisi lain, diperlukan perhatian dalam upaya peningkatan kualitas susunya, seperti misalnya pada kandungan dan komposisi protein

susu yang dihasilkan, yang relatif masih rendah jika dibandingkan dengan sejumlah rumpun sapi perah *Bos taurus* lainnya.

Protein susu pada sapi perah dapat diklasifikasikan kedalam dua kelompok utama, yaitu kasein dan *whey*. Kedua protein ini memiliki komponen penyusun yang berbeda-beda. Kasein merupakan komponen protein yang terbesar dengan proporsi sekitar 80% dalam susu, sedangkan 20% lainnya berupa *whey* (Yahyaoui et al. 2003). *Whey* merupakan protein butiran atau globular. Kadar *whey* dalam susu sapi perah mencapai sekitar 20%, dengan komponen penyusunnya terdiri dari β -laktoglobulin, α -laktalbumin, Bovine Serum Albumin (BSA), Immunoglobulin, dan Laktoferin (Kontopidis et al. 2004). β -laktoglobulin adalah protein *whey* pada susu sapi perah yang utama yang meliputi sekitar 7-12% dari total protein susu (Meza et al. 2007).

Kandungan dan komposisi dari komponen penyusun protein susu sapi perah dapat ditingkatkan melalui kegiatan seleksi. Salah satu metode seleksi adalah menggunakan penciri genetik ataupun identifikasi gen-gen mayor pengontrol pada sifat yang diperbaiki. Perkembangan aplikasi teknologi pemuliaan yang terjadi secara intensif selama dekade terakhir telah memberikan banyak informasi mengenai pemetaan gen pada genom sapi sampai pada tingkat keragaman sekuens *Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA). Banyak mutasi nukleotida dari fragmen-fragmen tertentu sejumlah gen teridentifikasi mempunyai potensi sebagai penciri genetik atau *Marked Assisted Selection* (MAS), ataupun sejumlah gen berpengaruh besar pada sifat bernilai penting (Berry et al. 2010). Sebagai ilustrasi seleksi terhadap gen-gen major pengontrol protein susu, akan bermanfaat dalam mempercepat respon seleksi pada produksi susu, komposisi susu, dan sifat ekonomis yang terkait dengan sifat laktasi lainnya (Sumantri et al. 2007). Seleksi keunggulan genetik melalui identifikasi gen yang diprediksi berasosiasi kuat dengan sifat produksi dan kualitas susu akan sangat mendukung bagi program perbaikan genetik sapi perah (Bovenhuis et al. 1992).

β -laktoglobulin merupakan salah satu mayor protein susu yang terdapat pada susu ruminansia. β -laktoglobulin termasuk kelompok protein *lipocalin* yang dapat mengikat molekul-molekul yang bersifat hidrofobik dan berperan penting dalam metabolisme lemak (Kontopidis et al. 2004). Manfaat dari β -laktoglobulin adalah sebagai pengangkut retinol, asam

palmitat, asam lemak, vitamin D dan kolesterol. Selain itu protein ini berfungsi untuk membantu regulasi metabolisme fosfor pada kelenjar susu (Madureira et al. 2007).

Keragaman gen β -laktoglobulin dapat meningkatkan persentase protein susu (Kumar et al. 2006). Pada ternak sapi dilaporkan terdapat dua varian untuk gen β -laktoglobulin yaitu A dan B (Yahyaoui et al. 2003). Beberapa studi tentang keragaman gen β -laktoglobulin telah mengidentifikasi sejumlah alel-alelnya berasosiasi signifikan terhadap kadar dan komposisi protein susu. Gen tersebut diharapkan dapat digunakan sebagai penanda gen-gen mayor untuk dipakai dalam program seleksi ternak terhadap perbaikan produksi susu, komposisi susu, dan kadar komponen susu, khususnya kadar *whey* protein ternak sapi perah. Seperti diuraikan sebelumnya karena β -laktoglobulin menduduki proporsi terbesar dari *whey* protein susu, sehingga dikatakan sebagai protein mayor dari *whey*. Lunden et al. (1997) menyatakan bahwa β -laktoglobulin yang merupakan komponen utama protein *whey* dapat memberikan dampak positif terhadap komposisi protein susu.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi polimorfisme genetik gen β -laktoglobulin sebagai informasi awal untuk melakukan seleksi molekular bagi perbaikan genetik khususnya pada sifat kadar *whey* protein susu sapi perah FH.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2009 sampai Mei 2010 di Laboratorium Genetika Molekular Ternak, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Sampel DNA merupakan hasil ekstraksi dari Laboratorium Genetika Molekular Ternak, Fak. Peternakan, IPB diperoleh dari 88 ekor sapi FH betina laktasi berasal dari BPPT-SP Cikole, Lembang.

Primer

Primer adalah DNA utas tunggal dengan ukuran pendek, biasanya 18 sampai 25 pb (pasang basa) yang akan menempel pada DNA cetakan ditempat yang spesifik. Primer yang digunakan adalah EA3 dan EA4. Amplifikasi gen β -laktoglobulin pada ekson 4 mengikuti Karimi et al. (2009) seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Sekuens primer EA3 dan EA4 untuk amplifikasi gen β -laktoglobulin

Gen	Sekuen Primer	Produk PCR	Enzim Restriksi
β -LG	5'TGTGCTGGACACCGACTACAAAAA3' (forward)	247 pb	<i>HaeIII</i>
	5'GCTCCCGGTATATGACCACCCTCT-3' (reverse).		

Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)

Reaksi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan memasukkan pada tabung volume 25 μ l bahan reaksi terdiri dari sampel sebanyak 2 μ l, air destilata 16,7 μ l; 0,5 μ l masing-masing primer, 10 \times buffer sebanyak 2,5 μ l; 2,5 mM MgCl₂ 2 μ l, dan 2 mM dNTP 0,3 μ l, BSA 1 μ l dan enzim taq 0,1 μ l. Tabung PCR dihomogenkan dengan menggunakan vortex, kemudian diendapkan dengan menggunakan centrifuge pada kecepatan 5.000 rpm selama setengah menit.

Amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus dengan mengikuti beberapa tahapan. Tahapan pertama adalah denaturasi awal pada suhu 95°C selama lima menit. Tahap kedua yaitu denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, annealing (penempelan primer) pada suhu 60°C selama 45 detik, pemanjangan molekul DNA pada suhu 72°C selama satu menit. Tahap ketiga adalah pemanjangan akhir molekul DNA pada suhu 72°C selama lima menit. Produk PCR sebanyak 5 μ l dipindahkan ke tabung baru dan ditambahkan 0,3 μ l enzim restriksi *HaeIII* 10 unit, 0,7 buffer R dan 1 μ l air destilata, dan diinkubasi selama 1 malam pada suhu 37°C.

Elektroforesis

Elektroforesis DNA produk PCR dilakukan pada gel agarose 2,5% dengan mencampurkan 0,75 g agarose dan 30 ml 0,5 x TBE dipanaskan selama empat menit di dalam microwave, didinginkan di atas stirrer yang sudah ada magnet stir, dan ditambahkan ethidium bromide (EtBr) sebanyak 2,5 μ l. Gel dipindahkan ke dalam cetakan agar dan didinginkan kurang lebih 30 menit. Produk PCR sebanyak 7 μ l yang dihomogenkan dengan loading dye dimasukkan ke dalam sumur-sumur gel agarose yang sudah digenangi larutan 0,5 x TBE buffer kemudian elektroforesis dilakukan selama 45 menit. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan mengamatinya di atas UV-transilluminator.

Analisis data

Frekuensi genotipe dan frekuensi alel

Keragaman genotipe masing-masing sampel dilihat dari pita-pita yang ditemukan. Frekuensi genotipe dan frekuensi alel dihitung dengan rumus Nei & Kumar (2000). Frekuensi genotipe (x_{ii}) diperoleh dengan menghitung perbandingan jumlah genotipe tertentu

pada sampel setiap lokasi pengamatan, dengan rumus berikut:

$$x_{ii} = \frac{n_{ii}}{N}$$

Frekuensi alel (x_i) merupakan rasio relatif suatu alel terhadap keseluruhan alel pada suatu lokus dalam populasi, dengan rumus sebagai berikut:

$$x_i = \frac{2n_{ii} + \sum n_{ij}}{2N}$$

Keterangan:

x_{ii} = frekuensi genotipe ke-ii

x_i = frekuensi alel ke-i

n_{ii} = jumlah individu bergenotipe ii

n_{ij} = jumlah individu bergenotipe ij

N = jumlah individu sampel

Keseimbangan Hardy-Weinberg

Keseimbangan Hardy-Weinberg diuji dengan menggunakan perhitungan Chi-Kuadrat (Hartl & Clark 1997):

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Keterangan:

χ^2 = uji Chi-kuadrat

O = jumlah pengamatan genotipe ke-i

E = jumlah harapan genotipe ke-i

Heterozigositas

Keragaman genetik diketahui melalui estimasi frekuensi heterozigositas pengamatan yang diperoleh dari setiap lokasi, dengan menggunakan rumus Weir (1996) berikut:

$$H_o = \sum_{i \neq j} \frac{n_{ij}}{N}$$

Keterangan:

H_o = heterozigositas pengamatan

n_{ij} = jumlah individu heterozigot

N = jumlah individu yang diamati

Heterozigositas harapan (H_e) berdasarkan frekuensi alel dihitung menggunakan rumus Nei & Kumar (2000):

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^q x_i^2$$

Keterangan:

H_e = nilai heterozigositas harapan

x_i = frekuensi alel

Q = jumlah alel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi gen β -laktoglobulin

Gen β -laktoglobulin pada ternak sapi perah FH laktasi yang berasal dari BPPT-SP Cikole telah berhasil diidentifikasi 100% melalui proses amplifikasi DNA menerapkan metode PCR dengan menggunakan pasangan primer dari studi Karimi et al. (2009). Perkiraan Panjang fragmen yang diamplifikasi dapat diketahui dengan menyesuaikan sekuens gen β -laktoglobulin pada ekson 4 yang diperoleh dari *GeneBank* no.akses X14710. Hasil amplifikasi gen β -laktoglobulin tersebut diperlihatkan pada Gambar 1.

Amplifikasi DNA dengan menggunakan primer yang ditetapkan menghasilkan produk PCR atau amplicon sepanjang 247 pb (pasang basa). Keberhasilan dalam mengamplifikasi DNA bergantung pada interaksi komponen PCR dalam konsentrasi yang tepat. Beberapa hal yang umum dilakukan untuk optimasi PCR diantaranya adalah suhu *annealing* (penempelan primer), konsentrasi Mg^{2+} , konsentrasi primer dan konsentrasi DNA target (Viljoen et al. 2005).

Suhu *annealing* merupakan kisaran suhu yang membuat pasangan primer menempel dengan komplemennya pada fragmen DNA target saat proses PCR dilakukan. Suhu *annealing* sangat menentukan keberhasilan amplifikasi karena proses perpanjangan DNA dimulai dari primer. Biasanya suhu yang digunakan agar terjadinya penempelan adalah 50-65°C, sedangkan pada penelitian ini suhu *annealing* yang digunakan adalah 60°C sesuai dengan Karimi et al. (2009).

Keragaman gen β -laktoglobulin

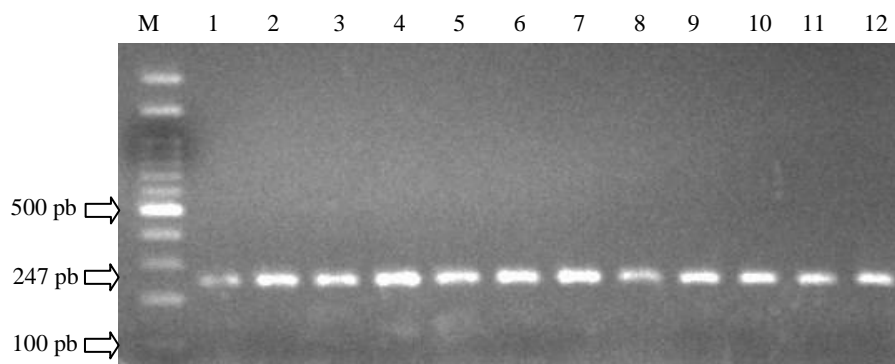
Amplifikasi gen β -laktoglobulin menghasilkan panjang fragmen 247 pb. Proses pemotongan gen

dilakukan dengan menggunakan enzim restriksi *HaeIII* yang mengenali situs pemotongan empat basa pada posisi 5'...GGCC...3'. Karimi et al. (2009) menginformasikan bahwa genotipe AA memiliki potongan dua fragmen, yaitu 148 pb dan 99 pb; genotipe BB memiliki tiga fragmen, yaitu 74 pb, 74 pb dan 99 pb; sedangkan genotipe AB terdiri dari 3 fragmen, yaitu 148 pb, 99 pb, dan 74 pb. Hasil penelitian sesuai dengan acuan yang dipakai. Enzim *HaeIII* berhasil memotong di dua titik yaitu pada posisi basa ke 74 dan 148 dari produk PCR. Pemotongan tersebut menghasilkan tiga fragmen yang panjangnya berturut-turut adalah 74 pb, 74 pb dan 99 pb. Ketiga fragmen tersebut menunjukkan genotipe dengan homozigot BB yang berarti alel B.

Alel A akan terbentuk jika terdapat mutasi pada salah satu basa dari ke empat basa sebagai situs pengenalan enzim restriksi *Hae III*. Situs tersebut tidak dikenali oleh enzim, sehingga tidak terjadi pemotongan. Alel yang muncul pada populasi sapi FH di Cikole adalah A dan B sedangkan genotipe yang ditemukan adalah AA, AB dan BB. Genotipe AA terdiri dari 2 fragmen dengan panjang 148 pb dan 99 pb, genotipe AB menunjukkan adanya tiga fragmen dengan panjang 148 pb, 99 pb, dan 74 pb, sedangkan genotipe BB terdiri dari tiga fragmen yaitu dengan panjang 74 pb, 74 pb, dan 99 pb.

Asumsi yang mendukung dalam penentuan tipe genotipe, yaitu semua pita yang memiliki laju migrasi yang sama, merupakan alel yang homolog (Nei, 1987). Keragaman genotipe gen β -laktoglobulin hasil genotyping dengan PCR-RFLP menggunakan enzim *HaeIII* disajikan pada Gambar 3.

Keragaman alel pada sapi FH pengamatan ditunjukkan dengan sekuens basa di ekson 4 dari gen β -laktoglobulin, seperti pada Gambar 2.

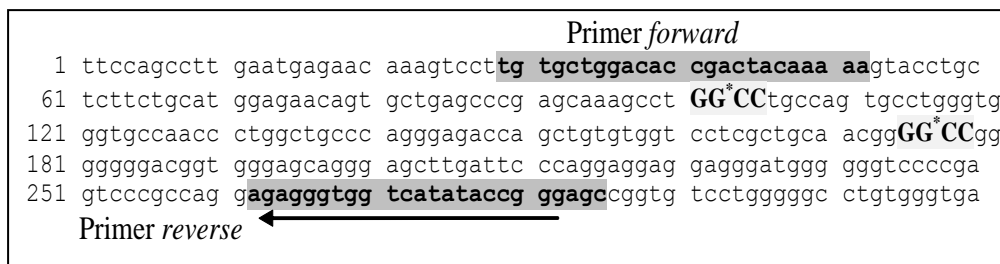


Keterangan :

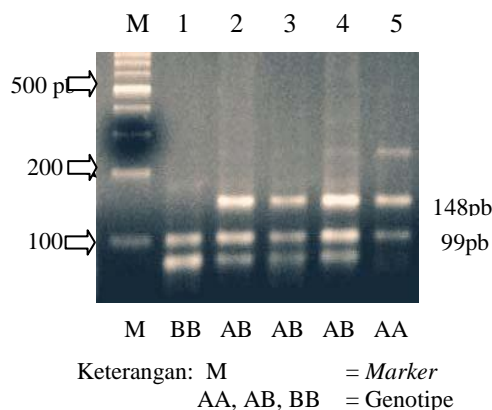
M = Marker

1-12 = Sampel sapi FH

Gambar 1. Pita DNA hasil amplifikasi Gen β -laktoglobulin pada Gel Agarose 2,5%



Gambar 2. Posisi penempelan primer (cetak tebal) pada sekuen gen β -laktoglobulin berdasarkan nomor akses genbank X14710. Mutasi terjadi pada situs pemotongan *HaeIII* (GG|CC) pada posisi 102



Gambar 3. Pola pita gen β -laktoglobulin pada gel agarose 2,5 %

Keragaman terjadi akibat adanya mutasi. Mutasi adalah suatu perubahan struktur kimia gen yang berakibat berubahnya fungsi gen. Keragaman DNA adalah salah satu akibat dari mutasi (Toland 2008). *Point mutations* atau mutasi titik adalah mutasi yang terjadi hanya pada satu nukleotida atau bagian kecil dari gen. Mutasi titik dapat dibedakan berdasarkan tipe perubahan runutan nukleotida, yaitu delesi, insersi, substitusi (transisi dan transversi), kesalahan pembacaan (proofreading errors), dan perubahan struktur kimia pada basa (Paolella 1998).

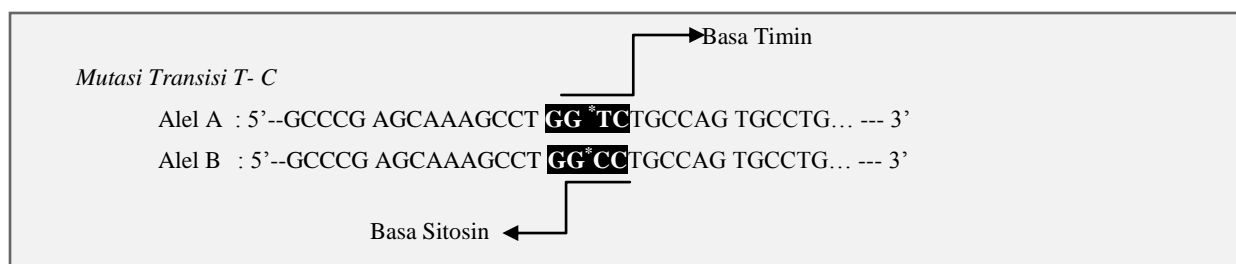
Seperti yang terlihat pada Gambar 4, mutasi yang terjadi pada penelitian ini adalah mutasi substitusi tipe transisi, yaitu perubahan basa antar basa purin (A-G) atau basa pirimidin (T-C). Basa sitosin menjadi timin menyebabkan perubahan ekspresi asam amino pada proses translasi. Asam amino yang diterjemahkan yaitu dari valine menjadi alanin.

Frekuensi gen β -laktoglobulin pada sapi Friesian Holstein

Dari sejumlah total 88 ekor sapi FH yang digenotyping dengan teknik PCR-RFLP, diperoleh sapi dengan genotipe AA, AB dan BB berturut-turut sebanyak 9, 53 dan 26 ekor. Penelitian ini menghasilkan frekuensi alel dan genotipe berbeda. Diperoleh frekuensi alel A

sebesar 0,40 dan alel B 0,60; sedangkan frekuensi genotipe AA, AB, dan BB berturut-turut 0,10; 0,60 dan 0,30. Hal ini menunjukkan bahwa gen β -laktoglobulin bersifat polimorfik (beragam), yang bersesuaian dengan pendapat Nei (1987) yang menyatakan bahwa suatu alel dikatakan polimorfik jika memiliki frekuensi alel sama dengan atau kurang dari 0,99. Nilai frekuensi alel dan genotipe sapi FH pengamatan dapat dilihat pada Tabel 2.

Keragaman genotipe gen β -laktoglobulin sapi perah FH berdasarkan hasil dari studi ini dapat dibandingkan dengan beberapa penelitian sebelumnya. Hasil penelitian ini sesuai dengan studi Bobe et al. (1999) yang melaporkan bahwa sapi FH di beberapa wilayah di Amerika memiliki tiga variasi genotip, yaitu AA, AB, dan BB; dengan dua alel, yaitu A dan B. Frekuensi genotipe AA, AB, dan BB dilaporkan berurutan sebesar 0,125, 0,476, dan 0,399. Lunden et. al. (1997) yang mengamati pada sapi FH Swedia, menemukan alel A dan B dengan frekuensi masing-masing 0,498 dan 0,502; sedangkan frekuensi genotipe diperoleh berurutan 0,235, 0,525 dan 0,240 untuk genotipe AA, AB, dan BB. Namun hasil penelitian ini berbeda dengan studi Heck et al. (2009) pada sapi sapi FH Belanda yang melaporkan frekuensi alel A lebih tinggi terhadap alel B, yaitu 0,583 vs. 0,471.



Gambar 4. Mutasi substitusi tipe transisi

Karimi et al. (2009) pada studi polimorfisme genetik gen β -laktoglobulin pada sapi Nadji India mendapatkan alel B (0,9125) sangat tinggi dibandingkan terhadap alel A (0,0875); sehingga ditemukan dalam jumlah sangat besar sapi bergenotipe AB (0,825), diikuti dalam jumlah kecil bergenotipe BB (0,175), tetapi tidak ditemukan sapi bergenotipe AA (0,000). Rachagani et al. (2006) juga memperoleh hasil hampir sama untuk sapi Sahiwal, dimana frekuensi alel B jauh lebih tinggi terhadap alel A (alel A = 0,17; alel B = 0,83); namun pada sapi Tharparkar meskipun diperoleh alel B lebih tinggi terhadap alel A, tetapi frekuensi keduanya mendekati sapi FH dalam studi ini (alel A = 0,39; alel B = 0,61). Maskur et al. (2005) pada sapi Hissar memperoleh frekuensi alel A dan B berturut-turut sebesar 0,19 dan 0,81. Hasil penelitian ini juga tidak berbeda dengan hasil penelitian Curi et al. (2005) yang menyatakan bahwa keragaman β -laktoglobulin pada sapi Angus, dan Nelore dengan enzim *HaeIII* memiliki frekuensi alel B yang lebih tinggi dibandingkan dengan alel A.

Distribusi genotipe gen β -laktoglobulin

Keseimbangan variasi genotipe yang muncul pada populasi sapi FH dapat diukur dengan menggunakan uji signifikansi *chi-square test* (χ^2). Hasil uji χ^2 tertera pada Tabel 3.

Berdasarkan uji signifikansi tersebut diperoleh χ^2 Hitung < χ^2 Tabel, artinya bahwa distribusi genotipe β -laktoglobulin pada populasi sapi FH berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg. Keseimbangan genotipe pada sapi FH Cikole dapat disebabkan tidak terjadinya seleksi pada ternak. Populasi tersebut tidak mengalami pertukaran atau pergantian ternak, artinya pihak BPPT-SP Cikole masih mempertahankan ternak yang ada.

Heterozigositas disebut juga sebagai keragaman genetik. Nilai heterozigositas merupakan cara yang paling akurat untuk mengukur keragaman suatu populasi (Nei 1987). Nilai heterozigositas dapat dipengaruhi oleh jumlah sampel, jumlah alel dan frekuensi alel. Populasi sapi perah di Cikole memiliki

Tabel 2. Frekuensi genotipe, frekuensi alel dan nilai heterozigositas gen β -laktoglobulin

N	Frekuensi Genotipe			Frekuensi Alel		Heterozigositas (\hat{h})
	AA	AB	BB	A	B	
88	0,10	0,60	0,30	0,40	0,60	0,483
88	(9)	(53)	(26)	(62)	(79)	

N = Jumlah sampel (ekor), angka dalam kurung menunjukkan jumlah sampel (ekor)

Tabel 3. Distribusi genotipe dari Gen β -laktoglobulin pada sapi FH

Genotipe	Frekuensi genotipe	Nilai observasi	Nilai ekspektasi	χ^2 Hitung	χ^2 Tabel
AA	0,10	9	14,08	1,83	
AB	0,60	53	42,24	2,74	5,99
BB	0,30	26	31,68	1,02	
Total	1	88	88	5,59	

nilai heterozigositas sebesar 0,483, ini berarti bahwa berbanding lurus dengan keragaman genetik yang tinggi pula.

Hubungan antara keragaman gen β -laktoglobulin dengan susu dan komposisi susu dapat ditemukan pada beberapa penelitian. β -laktoglobulin berasosiasi dengan produksi dan komposisi susu, dimana sapi perah dengan alel B berpengaruh terhadap meningkatkan kandungan *whey* protein susu (Bobe et al. 2009). Ojala et al. (1997) yang mempelajari efek keragaman genotipe dari sejumlah gen protein susu sapi FH dan Jersey melaporkan bahwa varian genotipe β -laktoglobulin dapat memberikan kontribusi terhadap variasi fenotipik produksi protein susu, selain berpengaruh pula terhadap persentase lemak susu.

KESIMPULAN

Identifikasi keragaman gen β -laktoglobulin pada ekson 4 menggunakan metode PCR-RFLP menghasilkan produk amplikon sepanjang 247 pb. *Genotyping* gen β -laktoglobulin bersifat polimorfik yang menghasilkan dua tipe alel, yaitu A dan B; sehingga diperoleh tiga variasi genotipe, yaitu: AA, AB dan BB. Genotipe BB memiliki nilai frekuensi lebih tinggi dibandingkan genotipe AA (0,30 vs 0,10). Keragaman gen β -laktoglobulin cukup tinggi (He = 0,483). Sifat polimorfik gen β -laktoglobulin dapat dijadikan informasi awal untuk keperluan seleksi protein susu sapi FH di dalam negeri.

DAFTAR PUSTAKA

- Berry SD, Lopez-Villalobos N, Beattie EM, Davis SR, Adams LF, Thomas NL, Ankersmit-Udy AE, Stanfield AM, Lehnert K, Ward HE, Arias JA, Spelman RJ, Snell RG. 2010. Mapping a quantitative trait locus for the concentration of beta-lactoglobulin in milk, and the effect of beta-lactoglobulin genetic variants on the composition of milk from Holstein-Friesian x Jersey crossbred cows. *J Vet NZ*. 58:1-5.
- Bobe G, Beitz DC, Freeman AE, Lindberg GL. 1999. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *J Dairy Sci*. 82:2797-2804.
- Bobe G, Lindberg GL, Reutzel LF, Hanigan MD. 2009. Effects of lipid supplementation on the yield and composition of milk from cows with different β -lactoglobulin phenotypes. *J Dairy Sci*. 92:197-203.
- Bovenhuis H, Van Arendonk JAM, Kerver S. 1992. Associations between milk protein polymorphism and milk production traits. *J Dairy Sci*. 75:2549-2559.
- Curi RA, Oliveira HN, Gimenes MA, Silveira AC Lopes CR. 2005. Effects of CSN3 and LGB gene polymorphisms on production traits in beef cattle. *Gene Molec Bio*. 28:262-266.
- Hartl DL, Clark AG. 1997. *Principle of Population Genetic*. Sunderland (MA): Sinauer Associates.
- Heck JML, Schennink A, van Valenberg HJF, Bovenhuis H, Visker MHPW, van Arendonk JAM, van Hooijdonk ACM. 2009. Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *J Dairy Sci*. 92:1192-1202.
- Karimi K, Nassiry MTB, Mirzadeh K, Ashayerizadeh A, Roushanfekr H, Fayyazi F. 2009. Polymorphism of the β -lactoglobulin gene and its association with milk production traits in Iranian Nadji cattle. *Iran J Biotechnol*. 7:2.
- Kontopidis, Hold GC, Sawyer L. 2004. Invited review: β -lactoglobulin: binding properties, structure, and function. *J Dairy Sci*. 87:785-796.
- Kumar A, Rout PK, Roy R. 2006. Polymorphism of β -lactoglobulin gene in Indian goats and its effect on milk yield. *J Appl Genet*. 47:1.
- Lunden A, Nilson M, Janson L. 1997. Marked effect of β -lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. *J Dairy Sci*. 80:2996-3005.
- Madureira AR, Pereira CL, Gomes AMP, Pintado ME, Malcata FX. 2007. Bovine *whey* proteins : Overview on their main biological properties. *Food Res Int*. 40:1197-1211.
- Maskur, Sumantri C, Muladno. 2005. Karakterisasi gen β -laktoglobulin dan hubungannya dengan sifat produksi susu pada sapi Hissar. *Zuriat*. 16:2.
- Meza NMA, Cordoba VB, Cordova AFG, Felix F, Goycoolea M. 2007. Effect of β -lactoglobulin A and B *whey* protein variants on the rennet-induced gelation of skim milk gels in a model reconstituted skim milk system. *J Dairy Sci*. 90:582-593.
- Nei M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. New York (NY): Columbia University Press.
- Nei M, Kumar S. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. New York (NY): Oxford University Press.
- Ojala M, Famula TR, Medrano JF. 1997. Effects of milk protein genotypes on the variation for milk production traits of Holstein and Jersey Cows in California. *J Dairy Sci*. 80:1776-1785.
- Paoletta P. 1998. *Introduction to molecular biology*. McGraw Hill Companies, Inc. Massachusetts. p. 121-143.
- Rachagani S, Gupta ID, Gupta N, Gupta SC. 2006. Genotyping of β -Lactoglobulin gene by PCR-RFLP in Sahiwal and Tharparkar cattle breeds. *BMC Genet*. 7:31-34.
- Sambrook J, Fritsch F, Maniatis T. 1989. *Molecular cloning laboratory manual*. 3rd ed. New York (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Sumantri C, Anggraeni A, Farajallah A, Perwitasari D. 2007. Keragaman mikrosatelit DNA sapi perah FH di balai pembibitan ternak unggul Baturraden. *JITV*. 12:124-133.
- Toland AE. 2001. DNA mutations. [diakses pada 21 Juni 2010]. http://genetichealth.com/G101_Changes_in_DNA.shtm.
- Viljoen GJ, Nel LH, Crowther JR. 2005. *Molecular diagnostic PCR handbook*. Springer, Dordrecht, Netherland.
- Weir BS. 1996. *Genetic data analysis : Method for discrete population genetic data*. 2nd ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates.
- Yahyaoui MH, Angoilillo A, Pila F, Sanchez A, Folch JM. 2003. Charaterization and genotyping of the caprine κ -Casein variants. *J Dairy Sci*. 86:s2715-2720.