Kandidat Gen Penyusun Protein Susu untuk Perbaikan Genetik Sapi Perah

(Candidate Gene of Milk Protein for Genetic Improvement of Dairy Cattle)

Santi Ananda Asmarasari¹, C Sumantri², A Gunawan², E Taufik², A Anggraeni³

¹Mahasiswa Pascasarjana Program Studi Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan,
Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor

²Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

³Balai Penelitian Ternak
Kontributor utama: santi_ananda@yahoo.com

(Diterima 11 April 2019 – Direvisi 28 Mei 2019 – Disetujui 11 Juni 2019)

ABSTRACT

The objective of this paper is to explore some efforts to increase milk protein of dairy cows through a milk protein control gene selection approach. Improving the quality of cow's milk has shifted to increase milk protein levels, due to nutritional and economic interest. The breeding process in producing dairy cattle with the advantage of having high milk protein content is more effectively carried out by molecular biotechnology approaches. The content of cow's milk protein is controlled by cow's milk protein control genes. In the process to produce dairy cattle with the advantage of having high milk protein content, it can be done with a selection approach based on milk protein control genes, namely CSN1S1, CSN2, CSN1S2, and CSN3. Once known, the main controller gene that causes high levels of cow's milk protein, it will be easy to identify dairy cattle that have these advantages, so that the selection of dairy cattle can be done since at early age.

Key words: Milk protein, selection, protein control genes

ABSTRAK

Makalah ini ditulis dengan tujuan untuk mengupas upaya peningkatan protein susu sapi perah melalui pendekatan seleksi gen pengontrol protein susu. Peningkatan kualitas susu sapi mulai beralih kepada peningkatan kadar protein susu, karena alasan gizi dan ekonomi. Proses pemuliaan dalam menghasilkan ternak sapi perah yang memiliki keunggulan dengan kandungan protein susu yang tinggi lebih efektif dilakukan dengan pendekatan bioteknologi molekuler. Kandungan protein susu sapi dikontrol oleh gen-gen pengontrol protein susu. Dalam proses, untuk menghasilkan sapi perah dengan keunggulan memiliki kandungan protein susu tinggi, dapat dilakukan dengan pendekatan seleksi berdasarkan gen pengontrol protein susu, yaitu CSN1S1, CSN2, CSN1S2, dan CSN3. Setelah diketahui gen pengontrol utama yang menyebabkan tingginya kadar protein susu sapi, maka dapat diketahui sapi perah yang memiliki keunggulan tersebut, sehingga seleksi pada sapi perah dapat dilakukan dari sejak usia dini.

Kata kunci: Protein susu, seleksi, gen pengontrol protein

PENDAHULUAN

Peningkatan produksi dan komposisi susu selalu menjadi tujuan utama kegiatan pemuliaan ternak sapi perah. Susu sapi dengan kandungan protein tinggi diperlukan sebagai sumber nutrisi yang baik. Kandungan protein tinggi dalam susu juga diperlukan dalam proses pengolahan susu, untuk dapat menghasilkan produk olahan susu dengan kualitas tinggi. Perkembangan bioteknologi molekuler membuka peluang dilakukannya pemuliaan sapi perah yang memiliki kadar protein susu tinggi untuk mendukung kecukupan konsumsi protein di Indonesia. Anggraeni et al. (2017) menyatakan bahwa beberapa gen protein pada sapi perah diidentifikasi memiliki efek langsung terhadap kandungan protein susu, sehingga seleksi berbasis molekuler melalui identifikasi

polimorfisme genetik dari gen protein utama dapat digunakan untuk mendapatkan perbaikan genetik sapi perah dalam menghasilkan susu dengan kadar protein tinggi. Manfaat dari pengembangan sapi perah dengan kadar protein susu tinggi diharapkan mampu meningkatkan harga jual susu segar, sehingga mendukung peningkatan kesejahteraan para pelaku usaha pada industri ternak sapi perah, terutama para peternak.

Pada saat ini, sejumlah negara yang maju pada bidang industri sapi perah, dalam melakukan pengembangan ternak sapi perah, lebih mengutamakan pengembangan sapi perah dengan perbaikan genetik, dengan tujuan untuk meningkatkan kualitas susu berdasarkan kadar protein susu, bukan lagi berdasarkan lemak susu. Hal ini dikarenakan nilai dampak ekonomi yang diakibatkan oleh meningkatnya kadar protein susu

yang lebih berdampak pada peningkatan ekonomi untuk para pelaku industri yang terkait ternak sapi perah.

Botaro et al. (2009) melaporkan bahwa secara global, upaya peningkatan kualitas susu sapi dengan meningkatkan kandungan protein susu, atau bukan peningkatan kandungan lemak susu, dilaporkan telah mulai dilakukan, dengan menggunakan alasan aspek nutrisi dan ekonomi sebagai justifikasi utamanya. Dalam ilmu nutrisi manusia, sudah lama diyakini bahwa protein dalam susu sapi memiliki kualitas yang baik sebagai sumber nutrisi bagi tubuh, dikarenakan protein dari susu sapi mengandung semua asam amino esensial, serta unsur-unsur penting bagi tubuh yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh manusia (Guetouache et al. 2014). Penting untuk diingat bahwa protein adalah zat gizi yang mensuplai terbentuknya bangunan dari semua jaringan makhluk hidup. Terlebih sebelumnya sudah dilaporkan bahwa protein susu mengandung proporsi yang baik dari semua asam amino yang penting untuk pertumbuhan dan pemeliharaan tubuh (Farrel et al. 2004). Hristov & Radoslavov (2015) menyatakan bahwa fokus peningkatan kualitas susu dengan mengutamakan peningkatan komposisi protein susu juga ditujukan untuk meningkatkan nilai ekonomi produk olahan susu, dimana protein menjadi faktor utama sebagai indikator utama penentu kualitasnya, seperti misalnya keju. Oleh karena itu, maka ke depan pengembangan sapi perah dengan kadar protein susu tinggi menjadi topik penelitian pemuliaan ternak perah yang potensial untuk dikembangkan di masa depan.

Komponen susu pada sapi perah dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan genetik (Anggraeni 2012). Secara genetik, pada susu sapi terdapat enam protein spesifik utama, yaitu α 1-casein (CSN1S1), α 2-casein (CSN2), β -casein (CSN1S2), κ -casein (CSN3), α -lactalbumin, dan β -lactoglobulin, yang seluruhnya dikendalikan oleh gen pengontrol (Galila & Darwish 2008). Atas dasar tersebut di atas, untuk mendukung pengembangan sapi perah dengan kadar protein susu tinggi, perlu dikembangkan pemuliaan sapi perah dengan keunggulan memiliki kandungan protein susu tinggi, melalui pendekatan bioteknologi molekuler. Sebagai bagian dalam rangka mendukung hal tersebut, maka makalah ini ditulis, yaitu mengupas upaya peningkatan protein susu sapi perah melalui pendekatan seleksi gen pengontrol protein susu.

KOMPONEN UTAMA PROTEIN SUSU SPI PERAH

Farrel et al. (2004) menerangkan bahwa secara komposisi kimia, susu sapi mengandung 3,5% protein, dimana 78-82% berupa kasein dan 18-22% dalam bentuk *whey* Sebagai komponen protein, Eskin et al. (1990) mengatakan bahwa kasein merupakan senyawa protein yang memiliki kandungan garam kalsium, fosfor dan sejumlah kecil magnesium serta sitrat, yang menjadi agregat makromolekul yang disebut kalsium fosfo-kaseinat atau misel kasein, dimana dengan karakteristik tersebut, akan menyebabkan terjadinya presipitasi oleh pengasaman pada pH 4,6 dengan suhu 20°C. Selain kasein, komponen lain protein adalah *whey*. *Whey* merupakan fraksi protein yang tidak mengalami presipitasi oleh pengasaman pada pH 4,6 dengan suhu 20°C (Eigel et al. 1984). Madureira et al. (2007) mengemukakan bahwa sebagian besar *whey* merupakan protein globular dengan struktur sekunder dan tersier sehingga mudah terdenaturasi pada pemanasan dengan suhu sekitar 60°C. Roginski (2003) dan Farrel et al. (2004) menjelaskan bahwa kasein terdiri atas empat jenis polipeptida, yaitu α 1-kasein, β -kasein, α 2- dan κ -kasein. Sedangkan, *whey* terdiri atas β -laktoglobulin, α -laktalbumin, serum albumin, immunoglobulin, laktoferin, laktoferoksidase dan glikomakropeptida (Farrel et al. 2004). Untuk melihat secara detail terkait komponen protein susu, maka pada Tabel 1 ditunjukkan konsentrasi, berat molekul dan fungsi biologis potensial dari komponen protein bioaktif utama dari kolostrum dan susu sapi.

Edwards et al. (2009) mengatakan bahwa sekitar 95% dari komponen protein susu disintesis dari asam amino, sedangkan 5% lainnya diproduksi dari sumber protein darah, komponen yang diproduksi dari sumber protein darah yaitu serum albumin dan immunoglobulin. Fraksi protein dalam susu yang dilaporkan berfungsi sebagai antimikroba yaitu immunoglobulin, laktoferin, lisozim, laktoperosidase dan glikomakropeptida yang merupakan kompleks protein yang berfungsi sebagai imunitas untuk melawan berbagai macam penyakit (Adlerova 2008). Konsentrasi protein antimikroba dalam kolostrum sangat tinggi yaitu mencapai 100 g/l dan secara cepat turun menjadi 1 g/l selama kurang dari satu minggu setelah sapi melahirkan (Roginski 2003).

Tabel 1. Komponen protein bioaktif utama dari kolostrum dan susu sapi perah

Protein	Konsentrasi (g/L) kolostrum susu		Berat molekul (Dalton)	Jumlah asam amino	% terhadap total protein	Aktivitas biologis
Kasein (α_{s1} -, β -, α_{s2} -, dan κ - kasein)	26	28	14.000- 22.000			Pembawa ion (Ca, PO ₄ , Fe, Zn, Cu), prekursor untuk imunomodulator peptida bioaktif
β -laktoglobulin	8,0	3,3	18.400	162	9,8	Pembawa vitamin, potensial antioksidan, prekursor untuk peptida bioaktif, berikatan dengan asam lemak
α -laktalbumin	3,0	1,2	14.200	123	3,7	Efektor sintesis laktosa pada kelenjar ambing, pembawa kalsium, imunomodulator, prekursor untuk peptida bioaktif.
Imunoglobulin	20- 150	0,5- 1,0	150.000- 1.000.000	0	2,1	Perlindungan kekebalan spesifik melalui antibodi dan sistem pelengkap, prekursor potensial untuk peptida bioaktif.
Glikomakro- peptida	2,5	1,2	8000	64	0	Antimikroba, antitrombotik, prebiotik, regulator hormon lambung
Laktoferrin	1,5	0,1	80.000	700	0,6	Antimikroba, antioksidatif, antikarsinogenik, anti peradangan, transportasi zat besi, regulasi pertumbuhan sel, prekursor peptida bioaktif, imunomodulator, stimulasi proliferasi osteoblas
Laktoperoksidase	0,02	0,03	78.000	612	0	Antimikroba, efek sinergis dengan imunoglobulin, laktoferin, dan lisozim
Lisozim	0,02	0,03	78.000			Antimikroba, efek sinergis dengan imunoglobulin, laktoferin, dan lisozim
Serum albumin	1,3	0,3	66.300	582	1,2	Prekursor untuk peptida bioaktif
Susu protein dasar	TD	NTD	10.000- 17.000			Stimulasi proliferasi osteoblas dan penekanan resorpsi tulang
Faktor pertumbuhan	50 μ g - 40 mg/L	<1 μ g - 2 mg/L	6400-30.000			Stimulasi pertumbuhan sel, perlindungan dan perbaikan sel intestinal, regulasi sistem kekebalan tubuh

TD= Tidak ada data

Sumber: Pihlanto & Korhonen (2003); Farrel et al. (2004)

GEN YANG BERPENGARUH TERHADAP PROTEIN SUSU

Identifikasi QTL (*Quantitative Trait Loci*) merupakan salah satu metode molekuler genetik yang berperan di dalam menemukan suatu wilayah di kromosom yang berpengaruh terhadap fenotipik tertentu dari ternak yang akan dilihat. Dalam hal ini sifat komposisi susu protein. Berdasarkan informasi database QTL pada sapi didapatkan 120.122 posisi lokus yang telah berhasil dipetakan dari 896 publikasi yang dilaporkan (Hu 2019). Pemetaan gen-gen yang berpengaruh terhadap persentase protein susu tersebar di semua kromosom. Letak gen-gen tersebut diperlihatkan pada Gambar 1.

Secara umum sifat komposisi susu memiliki peranan penting. Hal ini terlihat dari jumlah QTL untuk sifat komposisi susu (lemak dan protein) menduduki peringkat kedua dan ketiga pada QTL *database* sapi berdasarkan sifat yang diamati. Sifat komposisi lemak susu yang berhasil dipetakan sebanyak 19.895 *marker* dan 17.677 *marker* untuk komposisi protein susu (Gambar 3). Pemetaan gen-gen pengontrol untuk kandungan persentase kasein (MCASP) tersebar pada kromosom ke-1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 23, 25, dan 26. Letak gen-gen tersebut diperlihatkan pada Gambar 2. Jenis-jenis gen tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Studi QTL untuk sifat komposisi protein sapi telah banyak dilakukan di luar negeri. Sifat ini terbagi lagi ke dalam fraksi-fraksi protein seperti persentase α -kasein, rasio α -kasein dan β -kasein, persentase α -laktalbumin, persentase α s1-kasein, persentase α s2-kasein, persentase β -kasein, persentase β -laktoglobulin, kandungan total kasein susu, kasein index, produksi kasein, persentase κ -kasein, persentase laktoferrin dan

Tabel 2. Kandidat gen yang mempengaruhi sifat produksi susu dan protein susu berdasarkan *in silico analysis*

Gen	Nama Gen	Produksi susu (+)/ Protein susu (#)
ABCG2	<i>ATP-Biding Cassette, sub -family G (white), member 2</i>	+++
CSN1S1	<i>Casein alpha s1</i>	+++/ #
CSN1S2	<i>Casein alpha s2</i>	#
CSN2	<i>Casein beta</i>	#
CSN3	<i>Casein kappa</i>	+++/ #
LALBA	<i>Lactalbumin, alpha</i>	#
LGB	<i>Lactoglobulin, beta</i>	++
DGAT1	<i>Diacylglycerol O-acyltransferase 1</i>	++++++
GHR	<i>Growth Hormone Receptor</i>	++++
LEP	<i>Leptin</i>	+++
PRL	<i>Prolactin</i>	++
STAT	<i>Signal transducer and activator of transcription 5A</i>	++
BoLA-DRB3	<i>Major histocompatibility complex, clas II, DRB 3</i>	+++
CCL2	<i>Chemokine (C-C motif) ligand 20</i>	+
LTF	<i>Lactoferrin</i>	++

Sumber: diolah dari Ogorevc (2009)

Gambar 1. Distribusi QTL untuk persentase protein (PP) pada sapi

Sumber: https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/BT/traitmap?trait_ID=1041

Gambar 2. Distribusi QTL untuk persentase kasein (MCASP)

Gambar 3. Jumlah QTL atau asosiasi berdasarkan sifat-sifat pada sapi

Sumber: <https://www.animalgenome.org>

persentase *whey* protein. Farrell et al. (2004) melaporkan ada 14 major protein pada susu, tetapi sekarang hanya ada 9 variasi protein susu yang diketahui pada sapi perah dan hanya beberapa saja yang berpengaruh sangat nyata terhadap sifat komposisi susu.

POLIMORFISME GEN PROTEIN SUSU DAN ASOSIASINYA TERHADAP SIFAT KOMPONEN SUSU

Laporan studi yang dilaporkan oleh Rijnkels et al. (1997) dan Threadgill & Womack (1990) menjelaskan bahwa kasein susu dari sapi perah terdiri dari empat jenis kasein yang dikontrol oleh empat gen, dengan

lokasi sangat berdekatan sepanjang 250 kb pada kromosom 6, BTA 6q31. Keempat gen memiliki urutan fisik CSN1S1, CSN2, CSN1S2, dan CSN3, yang masing-masing dikodekan sebagai α 1-CN, β -CN, α 2-CN, dan κ -CN. Hasil pengamatan Caroli et al. (2009) dan Azevedo et al. (2008) menunjukkan bahwa adanya keterkaitan lokasi yang sangat dekat dari famili gen kasein, menyebabkan pewarisan sifat sering bersifat sebagai klaster, hampir seperti lokus tunggal. Atas dasar tersebut, maka gen-gen kasein potensial untuk dieksplorasi dalam rangka menyeleksi sifat protein susu serta kualitas susu lainnya. Sementara itu, *whey* sebagai komponen protein lainnya, dilaporkan mengandung jenis protein yang lebih bervariasi, tetapi mempunyai dua jenis protein terbanyak, yaitu β -

laktoglobulin terletak pada kromosom 11 (BTA-11) (Vaiman et al. 1994) dan α -laktalbumin terletak pada kromosom 5 (BTA-5) (Eggen & Fries 1995). Beberapa gen dari *whey*, meskipun mensekresikan *whey* dalam jumlah kecil, dilaporkan penting dalam sistem pertahanan tubuh, seperti imunoglobulin, laktoferin, dan laktoferoksidase (Farrel et al. 2004).

Pengaruh genetik individual dan haplotipe protein susu memiliki pola yang jelas terhadap produksi, kadar, dan komposisi protein susu sapi perah. Heritabilitas dari setiap fraksi individual protein susu menunjukkan bahwa mereka dikontrol oleh faktor genetik yang tinggi, dengan nilai h^2 berkisar antara 0,25-0,80 (Schopen et al. 2009). Adanya perkembangan teknik molekular lebih jauh saat ini, telah menjadi studi menarik untuk melihat varian genetik pada jumlah sangat banyak mutasi nukleotida dari rangkaian sekuen basa, baik di dalam maupun di luar wilayah gen-gen protein susu. Hasil penelitian yang dilaporkan oleh Caroli et al. (2009) dan Huang et al. (2012) menunjukkan bahwa pada gen kasein, sampai saat ini telah diidentifikasi setidaknya terdapat varian genetik sebanyak 8 tipe untuk gen α_1 -CN, 12 tipe untuk β -CN, 4 tipe untuk α_2 -CN, dan 14 tipe untuk κ -CN. Varian genetik yang terjadi dalam jumlah besar dari gen-gen kasein susu (gen α_1 -CN = 8, β -CN = 12, α_2 -CN = 4, dan κ -CN = 11) dari sapi perah, ditabulasi secara lengkap.

Gen α_1 -CN (CSN1S1)

Gen α_1 -CN memiliki panjang sekitar 17,5 kb dengan alel yang paling umum ditemukan untuk sapi B dan C. Adanya varian genotipe dari gen ini menempatkan peringkat sapi dengan protein tinggi (BC>CC>BB), kadar protein (CC>BB>BC), produksi lemak (BC>BB>CC) dan kadar lemak (CC>BB>CC). Pada wilayah *non coding* gen α_1 -CN terdapat alel CSN1S1*G yang dikarakteristikan dengan 137 insersi di wilayah *non coding* ekson 19 (Rando et al. 1998). Gen α_1 -CN menjadi salah satu gen kasein potensial yang diamati varian SNP-nya, karena pengaruhnya paling dominan terhadap kasein susu. Sejumlah ekson dari gen ini diketahui memiliki tingkat polimorfisme genetik tinggi. Seperti misalnya, diperoleh alel CSN1S1*I untuk gen α_1 -CN ketika terjadi substitusi basa A > T pada ekson 11, yang menyebabkan substitusi Glu > Asp pada asam amino posisi 84 pada protein (Farrel et al. 2004). Pada Gambar 4 ditunjukkan struktur Gen CSN1S1.

Gambar 4. Struktur Gen CSN1S1

Sumber: IGEM 2014

Gen β -CN (CSN2)

Laporan studi yang disampaikan oleh Schopen et al. (2011) dan Huang et al. (2012) menunjukkan bahwa gen-gen protein susu bersifat sangat polimorfik, serta mengandung polimorfisme SNP dalam jumlah sangat besar. Sebelumnya, Nilsen et al. (2009) mengatakan bahwa sebuah peta SNP resolusi tinggi telah dibangun pada wilayah kasein sapi untuk mengidentifikasi haplotipe struktur dan studi asosiasi dengan sifat-sifat susu pada sapi Merah Norwegia dimana diperoleh kesimpulan bahwa adanya hubungan langsung terhadap protein dan produksi susu dari kedua SNP tunggal dan haplotipe dalam CSN1S1-CSN2-CSN1S2 haplotipe blok. Sebaliknya, tidak terdapat hubungan signifikan untuk SNP tunggal atau haplotipe dalam blok CSN3. Ini membuktikan bahwa CSN2 (Gambar 5) dan CSN1S2 mengandung lokus paling tinggi dalam menimbulkan varian-varian DNA causative (SNP). Hasil paling signifikan ditemukan untuk CSN2_67 SNP alel C yang secara konsisten terkait dengan keunggulan protein dan produksi susu. SNP CSN2_67, sebagai substitusi C ke A, pada kodon 67 di gen β -CN, menyebabkan histidin menggantikan prolin dalam sekuen asam amino. Polimorfisme ini menentukan protein varian A1 / B (CSN2_67 alel A) vs. A2/A3 (CSN2_67 C alel). Hal tersebut memperlihatkan bahwa gen κ -CN tidak berevolusi apabila dibandingkan dengan ketiga gen kasein lainnya, yaitu α_1 -CN, α_2 -CN, dan β -CN. Atas dasar tersebut, maka disarankan pemisahan kluster CN menjadi 2 blok haplotipe, satu blok terdiri dari CSN1S1, CSN2, dan CSN1S2, dan satu lainnya CSN3 (Gambar 7).

Gambar 5. Struktur Gen CSN2

Sumber: IGEM 2014

Gen α_2 -casein (CSN1S2)

Rando et al. (1998) melaporkan bahwa alel CSN1S2*B terjadi pada gen α_2 -CN ketika terjadi perubahan A > T pada basa ke-17 dari ekson 3 yang menyebabkan substitusi Ser > Phe pada AA posisi 8 dari protein. Ketika AA posisi 136 adalah Thr pada gen κ -CN dinyatakan sebagai alel CSN3*A, sedangkan bila AA posisi 148 menjadi Ala maka diidentifikasi sebagai alel CSN3*B. Alel CSN1S1*G diketahui menyebabkan turunnya kandungan α_1 -CN pada susu sapi perah, disebabkan karena kestabilan mRNA selama bioproses protein susu di dalam tubuh (Rando et al. 1998). Struktur Gen CSN1S2 ditunjukkan pada Gambar 6.

Gambar 6. Struktur Gen CSN1S2

Sumber: IGEM 2014)

Gen K-casein (CSN3)

Gen K-casein (CSN3) berlokasi di kromosom 6q31 dengan panjang kurang lebih 13 kb (Gambar 7). Gen K-casein memiliki 5 ekson dan 4 intron dan kebanyakan sekuens coding pada protein K-casein berlokasi pada ekson 4 (Ferretti et al. 1990). Meskipun 9 varian telah ditemukan pada gen K-casein: A, B, C, E, F, G, H, I dan A1, varian alel yang sering ditemukan adalah A dan B (Deb et al. 2014). Varian A dan B terjadi pada asam amino posisi 136 dan 148 struktur primer. Azevedo et al. (2008) melaporkan bahwa pada asam amino 136 threonin (Thr) digantikan oleh isoleucine (Ile) sedangkan pada posisi asam amino 148 asam aspartat (Asp) digantikan oleh alanin (Ala). Alel CSN1S2*B terjadi pada gen α_2 -CN ketika terjadi perubahan A > T pada basa ke-17 dari ekson 3 yang menyebabkan substitusi Ser > Phe pada asam amino posisi 8 dari protein (Rando et al. 1998).

Varian genetika dari κ -casein gen telah menjadi perhatian serius oleh industri pengolahan susu. Hal ini karena κ -casein gen mempunyai peran penting dalam menentukan kandungan protein (kasein) susu segar yang dibutuhkan sebagai bahan baku untuk memproses dan mengolah susu menjadi produk olahan prima, seperti dalam pembuatan keju. Terdapat pengaruh

langsung genotipe BB (vs genotipe AA) κ -CN terhadap keunggulan kadar protein susu (Molina et al. 2006). Induk genotipe BB (vs genotipe AA) menghasilkan kadar protein susu lebih banyak 0,08% (Bovenhuis et al. 1992). Pengaruh varian gen κ -CN terhadap kadar protein kasar dan kasein susu memiliki urutan genotipe BB > AB > AA, dimana induk BB terhadap AA, unggul kadar protein susu antara 0,1 – 0,2/100 g susu (Ng-Kwai-Hang et al. 1990). Ng-Kwai-Hang et al. (2002) mengatakan bahwa kadar protein meningkat akibat penambahan kadar dan jumlah kasein. Sementara itu, Beata et al. (2008) melaporkan bahwa genotipe BB juga memberi hasil lebih baik bagi proses dan produk olahan susu, seperti pemendekan waktu pembentukan rennet dan kehalusan keju.

Studi yang dilaporkan Sumantri et al. (2005) menunjukkan bahwa konsistensi pengaruh genotipe BB pada gen κ -CN (CSN3) terhadap protein susu tinggi terbukti untuk sapi FH domestik di Indonesia. Frekuensi genotipe κ -CN berbeda pada sapi-sapi dengan perbedaan nilai pemuliaan (NP) protein susu. Genotipe BB dan AB muncul dalam frekuensi tinggi (0,64) pada NP protein tinggi. Sebaliknya, pada NP rendah, frekuensi genotipe AA κ -CN sangat tinggi (0,80). Selain itu, genotipe BB menghasilkan rennet susu lebih baik dibandingkan genotipe AB dan AA.

Gambar 7. Struktur gen CSN3

Sumber: IGEM 2014

Tabel 3. Informasi polimorfisme SNP gen kasein terhadap kandungan protein dan fraksi protein

Fraksi protein (mg/100 μ L)	Signifikan SNP	Tipe III P-value	Genotipe (jumlah)	Estimasi Efek (SE)
α s-kasein	BTA6.88307280	<0,0001	AG (78)	0,0578 $\pm$ 0,0130
			AA (184)	0
β -kasein	BTA6.88426653	<0,0001	GG (31)	0,0650 $\pm$ 0,0300
			AG (114)	0,0817 $\pm$ 0,0184
κ -kasein	BTA6.88528997	<0,0001	AA (50)	0,2655 $\pm$ 0,0287
			AC (150)	0,1013 $\pm$ 0,0119
			CC (68)	0
β -laktoglobulin	BTA11.107169806	<0,0001	CC (44)	- 0,2379 $\pm$ 0,0146
			CT (129)	- 0,1106 $\pm$ 0,0010
			TT (92)	0
Total protein	BTA6.88378199	0,0007	CC (27)	0,2551 $\pm$ 0,0621
			CT (107)	0,1361 $\pm$ 0,0467
			TT (113)	0
	BTA6.88531650	0,0003	GG (43)	0,2551 $\pm$ 0,0621
			AG (143)	0,1361 $\pm$ 0,0467
			AA (61)	0
Rasio α s kasein dan β -kasein	BTA6.88307280	<0,0001	AG (78)	0,0240 $\pm$ 0,0053
			AA (184)	0

Sumber: Huang et al. (2012)

Penelitian yang dilakukan oleh Huang et al. (2012) mengenai asosiasi antara variasi gen protein susu dan komposisi protein susu pada sapi Holstein dan persilangannya menyatakan bahwa asosiasi paling signifikan untuk protein total adalah SNP BTA6.88531650 terletak di dalam gen CSN3. Sedangkan SNP BTA6.88307280 berada dalam gen CSN1S1 dan berasosiasi terhadap rasio α -kasein dan β -kasein serta konsentrasi α -kasein. Informasi polimorfisme SNP gen kasein terhadap kandungan protein dan fraksi protein disajikan pada tabel 3.

SELEKSI GEN UNTUK MENINGKATKAN KANDUNGAN PROTEIN SUSU SAPI PERAH

Anggraeni (2012) telah menjelaskan bahwa upaya dalam meningkatkan kandungan protein susu sapi perah dapat dilakukan melalui seleksi, dengan adanya perkembangan yang pesat di bidang bioteknologi molekuler sekarang ini, telah membuka peluang bagi para pemulia agar dapat melakukan seleksi pada taraf molekular, dengan menggunakan aplikasi *gene(s) assisted selection* (GAS), yaitu menggunakan gen-gen major sebagai gen-gen kandidat dalam proses seleksi. Proses seleksi dalam menghasilkan bibit sapi perah yang memiliki kelebihan dalam kadar protein susu yang tinggi, dapat dilakukan melalui upaya dengan cara mengidentifikasi polimorfisme genotipe dari famili gen protein susu. Diharapkan bahwa upaya ini akan sangat efektif karena kadar protein susu sapi perah dikontrol oleh dua famili gen, yaitu kasein dan *whey*.

Přibyl (1995) mengatakan bahwa gen-gen major tersebut jika dikorelasikan dengan sejumlah parameter produksi dapat menjelaskan sebagian keragaman genetik dan membantu dalam estimasi nilai pemuliaan, sehingga dapat dipakai sebagai pelengkap pada prosedur seleksi konvensional dan juga dapat memberikan perbaikan akurasi seleksi dan memperpendek selang generasi, sehingga respons seleksi diperoleh lebih cepat bila dibandingkan seleksi konvensional (Drögemüller et al. 2001). Pelaksanaan seleksi sapi perah yang memiliki keunggulan pada kadar protein susu dengan cara identifikasi polimorfisme genotipe famili gen protein susu, akan memiliki proses yang lebih sederhana dibandingkan seleksi konvensional terhadap sifat produksi susu. Penggunaan aplikasi seleksi molekuler dan perkawinan secara terarah dalam upaya membentuk galur sapi perah yang memiliki keunggulan pada kadar protein susu yang tinggi, akan dapat dicapai dalam waktu yang lebih singkat, apabila dibandingkan dengan jalan proses seleksi konvensional. Kegiatan seleksi pada sifat unggul protein susu, memungkinkan dapat dilakukan, meskipun program pemuliaan sapi perah di Indonesia, lebih banyak diarahkan pada peningkatan produksi susu. Upaya pemuliaan sapi perah dengan keunggulan memiliki kadar protein susu tinggi ke depan akan menjadi perhatian utama, seiring dengan semakin meningkatnya tingkat konsumsi susu masyarakat sebagai minuman sehat, serta meningkatnya produk-produk olahan susu sebagai "*functional food*".

Gambar 8. Tahapan proses seleksi sapi perah berkadar protein susu tinggi berbasis seleksi gen kasein

APLIKASI PEMANFAATAN GEN KASEIN PADA PROGRAM PEMULIAAN SAPI PERAH BERKADAR PROTEIN SUSU TINGGI

Teknik genetika molekuler dapat memberikan hasil yang lebih menguntungkan untuk program pemuliaan karena dapat menentukan potensi seekor ternak, sebelum fenotipenya diketahui. Polimorfisme gen mayor banyak dipelajari dan dimanfaatkan dalam kaitannya dengan sifat-sifat produksi pada ternak yang diwariskan. Gen penciri indikator sifat produksi dapat dimanfaatkan untuk melakukan seleksi dengan lebih efisien. Seleksi dapat dilakukan pada saat ternak masih belum menunjukkan kemampuan produksinya, sehingga dengan penciri genetik, potensi produksi ternak dapat diketahui secara lebih dini.

Seleksi dengan memanfaatkan penciri genetik yang berhubungan dengan sifat produksi dan komposisi susu akan mempermudah dalam melakukan seleksi pada sapi perah. Dengan kemajuan bioteknologi dan tersedianya fasilitas teknologi DNA maka identifikasi genotipe kasein dalam populasi dapat dilakukan, dan seleksi berdasar genotipe kasein merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan. Seleksi dapat diterapkan pada jantan dan betina, dan identifikasi genotipe kasein pada pedet yang muda memungkinkan, serta bebas dari pengaruh efek lingkungan.

Hasinah & Tiesnamurti (2008) mengatakan bahwa penciri genetik gen kasein pada sapi dapat dipergunakan sebagai alat bantu dalam menseleksi produksi susu dan komposisi susu. Proses seleksi sapi perah berkadar protein susu tinggi berbasis seleksi gen kasein dilakukan dengan beberapa tahapan seperti ditunjukkan pada Gambar 8, yaitu (1) Identifikasi keragaman genetik gen kasein (α_{s1} -, β -, α_{s2} -, dan κ -kasein) pada sapi perah. (2) Menentukan performa fenotipe sapi perah, melalui koleksi data fenotipe meliputi kualitas susu (protein, lemak, SNF, laktosa) dan produksi susu. (3) Pengujian keragaman genetik gen kasein susu terhadap sifat kualitas susu dan produksi susu. Proses seleksi pembentukan sapi perah dengan kandungan protein susu tinggi tidak hanya dilakukan pada sapi betina, tetapi juga pada sapi jantan, untuk menentukan potensi sapi jantan yang digunakan sebagai pejantan, karena gen pengontrol protein susu dibentuk 50% dari jantan dan 50% betina.

Tahapan teknis dalam proses seleksi yang pertama adalah melakukan kajian fenotipik, yaitu melakukan koleksi data produksi susu harian dan kualitas susu bulanan pada periode laktasi I, II dan III untuk mendapatkan *phenotypic database*. Kedua, *genotyping* yaitu identifikasi genotipe gen kasein susu dengan teknik Real-Time PCR pada induk sapi perah di stasiun bibit yang menerapkan pola pemeliharaan intensif. Tujuan pengamatan di stasiun bibit adalah untuk meminimalisasi pengaruh lingkungan dan manajemen

pemeliharaan yang dapat mempengaruhi kualitas susu. Ketiga mengasosiasikan genotipe gen kasein susu dengan sifat kualitas susu, utamanya pada protein susu sapi perah. Dari hasil asosiasi ini akan diperoleh hubungan erat informasi sapi-sapi yang memiliki genotipe terpilih yang memiliki sifat protein susu tinggi. Proses di atas akan menghasilkan kesimpulan tentang sapi mana yang memiliki genotipe pengontrol utama protein susu. Seluruh proses di atas dilakukan pada sapi perah jantan dan betina, sehingga akan diperoleh informasi individu sapi perah jantan dan betina yang memiliki genotipe dengan kandungan protein susu tinggi. Sapi perah jantan dan betina terpilih selanjutnya dikembangkan dengan cara dikawinkan untuk menghasilkan keturunan sapi perah unggul yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan susu sapi dengan kandungan protein tinggi.

KESIMPULAN

Kandungan protein susu sapi dikontrol oleh gen-gen pengontrol protein susu sapi yaitu CSN1S1, CSN2, CSN1S2, dan CSN3. Dalam proses, untuk menghasilkan ternak sapi perah dengan keunggulan memiliki kandungan protein susu tinggi, dapat dilakukan dengan pendekatan seleksi berdasarkan gen-gen pengontrol protein susu. Ada beberapa tahapan teknis dalam proses seleksi meliputi identifikasi keragaman genetik gen kasein, koleksi data fenotipe termasuk kualitas susu, mencari asosiasi antara genotipe gen kasein susu dengan kualitas susu. Kemudian dilanjutkan dengan seleksi pembentukan sapi perah pada genotipe dengan kandungan protein susu tinggi yang dilakukan pada sapi betina, maupun sapi jantan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni A, Nury HS, Andreas E, Sumantri C. 2017. Genetic variants of κ -Casein and β -Lactoglobulin genes and their association with protein and milk components of Holstein Friesian cows at small farmers in Lembang, West Java. In: 2nd International Conference on Sustainable Agriculture and Food Security: A Comprehensive Approach, KnE Life Sciences. p. 86-94. doi: 10.18502/cls.v2i6.1023.
- Anggraeni A. 2012. Perbaikan genetik sifat produksi susu dan kualitas susu sapi Friesian Holstein melalui seleksi. Wartazoa. 22:1-11.
- Adlerova L, Bartoskova, Fadyana M. 2008. Lactoferrin: A review. Vet Med. 53:457-468.
- Azevedo ALS, Nascimento CS, Steinberg RS, Carvalho MRS, Peixoto MGCD, Teodoro RL, Verneque RS, Guimarães SEF, Machado MA. 2008. Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. Gen Mol Res. 7:623-630.

- Beata S, Wojciech N, Ewa W. 2008. Relations between kappa-casein polymorphism (CSN3) and milk performance traits in heifer cows. *J Cent Eur Agric*. 9:641-644.
- Botaro BG, Lima YVR, Cortinhas CS. 2009. Effect of the kappa-casein gene polymorphism, breed and seasonality on physicochemical characteristics, composition and stability of bovine milk. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 38:2447-2454.
- Bovenhuis H, Van Arendonk JAM, Korver S. 1992. Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. *J Dairy Sci*. 75:2549-2559.
- Caroli M, Chessa S, Erhardt GJ. 2009. Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *J Dairy Sci*. 92:5335-5352.
- Deb R, Singh U, Kumar S, Singh R, Sengar G, Sharma A. 2014. Genetic polymorphism and association of kappa-casein gene with milk production traits among Frieswal (HF × Sahiwal) cross breed of Indian origin. *Iranian J Vet Res*. 15:406-408.
- Drögemüller C, Bader A, Kuiper H, Leeb T, Williams JL, Dist O. 2001. Assignment of the bovine runt-related transcription factor 1 gene (RUNX1) to bovine chromosome 23q21 by fluorescence in situ hybridization and radiation hybrid mapping. *Cytogenet Cell Genet*. 94:248-249.
- Edwards PB, Creamer LK, Jameson GB. 2009. Milk proteins: From expression to food. In: Thompson, A, Boland M., Singh H, editors. London (UK): Elsevier Inc.
- Eggen A, Fries R. 1995. An integrated cytogenetic and meiotic map of the bovine genome. *Anim Genet*. 26:215-236.
- Eigel WN, Butler JE, Ernstrom CA, Farrell Jr HM, Harwalkar VR, Jenness R, Whitney RM. 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk: Fifth revision. *J Dairy Sci*. 67:1599-1631.
- Eskin NAM, Handerson HM, Townsend RJ. 1990. *Biochemistry of foods*. New York (USA): Academic Press, Inc.
- Farrell HM Jr, Jimenez-Flores R, Bleck GT, Brown EM, Butler JE, Creamer LK, Hicks CL, Hollar CMKF, Ng-Kwai-Hang, Swaisgood HE. 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk-Sixth revision. *J Dairy Sci*. 87:1641-1674.
- Ferretti L, Leone P, Sgaramella V. 1990. Long range restriction analysis of the bovine casein genes. *Nucl Acids Res*. 18:6829-6833.
- Galila ASE, Darwish SF. 2008. A PCR-RFLP assay to detect genetic variants of kappa-casein in cattle and buffalo. *Arab J Biotech*. 11:11-18.
- Guetouache M, Bettache G, Samir M. 2014. Composition and nutritional value of raw milk. *Issues Biol Sci Pharm Res*. 2:115-122.
- Hasinah H, Tiesnamurti M. 2008. Identifikasi gen K-kasein Untuk seleksi pada sapi perah. Dalam: *Prosiding Semiloka Nasional Prospek Industri Sapi Perah Menuju Perdagangan Bebas – 2020*. hlm. 130-134.
- Hristov P, Radoslavov. G 2015. A review of methods for genotyping milk proteins in cattle. *J Adv Dairy Res*. 3:144.
- Hu ZL, Park CA, Reecy JM. 2019. Building a livestock genetic and genomic information knowledgebase through integrative developments of Animal QTLdb and CorrDB. *Nucleic Acids Res*. 47:D701-D710.
- Huang W, Penagaricano F, Ahmad KR, Lucey JA, Weigel KA, Khatib H. 2012. Association between milk protein gene variants and protein composition traits in dairy cattle. *J Dairy Sci*. 95:440-449.
- [IGEM] International Genetically Engineered Machine. 2014. The International Genetically Engineered Machine competition. [Internet]. [cited 1 September 2018]. Available from: http://2014.igem.org/Team:SF_Bay_Area_DIYbio/Parts.
- Madureira AR, Pereira CI, Gomes AMP, Pintado ME, Malcata FX. 2007. Bovine whey proteins – Overview on their main biological properties. *Food Res Int*. 40:1197-1211.
- Molina LH, Kramm J, Brito C, Carrillo B, Pinto M, Ferrando A. 2006. Protein composition of milk from Holstein-Friesian dairy cows and its relationship with the genetic variants A and B of κ -casein and β -lactoglobulin (Part I.). *Int J Dairy Technol*. 59:183-187.
- Ng-Kwai-Hang KF, Otter DE, Lowe E, Boland MJ, Auldiss MJ. 2002. Influence of genetic variant of β -lactoglobulin on milk composition and size of casein micelles. *Milchwissenschaft*. 57:303-306.
- Ng-Kwai-Hang KF, Monardes HG, Hayes JF. 1990. Association between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations. *J Dairy Sci*. 73:3414-3420.
- Nilsen H, Olsen HG, Hayes B, Sehested E, Svendsen M, Nome T, Meuwissen T, Lien S. 2009. Casein haplotypes and their association with milk production traits in Norwegian Red cattle. *Genet Sel Evol*. 41:24.
- Ogorevc J, Kunej T, Razpet A, Dovc P. 2009. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Anim Genet*. 40:832-851. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01921.x.
- Pihlanto A, Korhonen H. 2003. Bioactive peptides and proteins. *Adv Food Nutr Res*. 47:175-276.
- Příbyl J. 1995. A way of using markers for farm animals selection. *Živočišná Výroba*. 40:375-382.
- Rando A, Gregorio PD, Ramunno L, Mariani P, Fiorello A, Senese C, Marlett D, Masina P. 1998. Characterization of the CSN1A allele of the bovine α S1-casein locus by the insertion of a relic of a long interspersed element. *J Dairy Sci*. 81:1735-1742.

- Rijnkels M, Kooiman PM, deBoer HA, Pieper FR. 1997. Organization of the bovine casein gene locus. *Mammalian Gen.* 8:148-152.
- Roginski H. 2003. *Encyclopedia of dairy sciences*. London (UK): Academic Press.
- Schopen GC, Visker MH, Koks PD, Mullaart E, van Arendonk JA, Bovenhuis H. 2011. Whole-genome association study for milk protein composition in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 94:3148-3158.
- Schopen GCB, Koks PD, van Arendonk JAM, Bovenhuis H. 2009. Whole-genome association study for milk protein composition in dairy cattle. *Anim Genet.* 40:524-537.
- Sumantri C, Maheswari RRA, Anggraeni A, Diwyanto K, Farajallah A. 2005. Pengaruh genotype kappa kasein (κ -kasein) terhadap kualitas susu pada sapi perah FH di BPTU Baturraden. Dalam: *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Bogor (Indonesia): Puslitbangnak. hlm. 358-365.
- Threadgill DW, Womack JE. 1990. Genomic analysis of the major bovine milk proteins genes. *Nucl Acids Res.* 18:6935-6942.
- Vaiman D, Mercier D, Eggen A, Bahri-Darwich I, Grohs C, Cribiu EP, Dolf G, Ousrty A, Guerin G, Leveziel H. 1994. A genetic and physical map of bovine Chromosome 11. *Mamm Genome.* 5:553-556.