

Analisis variasi genetik Sapi (*Bos Taurus*) pada sekuen gen Cytochrome Oxidase Subunit 1(COI) menggunakan RFLP in silico Analysis of Genetic Variations in Cytochrome Oxidase Subunit 1 (COI) Gene Sequences in *Bos taurus* Using In-Silico RFLP

Annisa Khaira¹⁾, Livia Juniarti¹⁾, Nafisa Arini¹⁾, Rinti Mutiara Sari¹⁾, Afifatul Achyar¹⁾
¹⁾Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
¹⁾Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Dr. Hamka, Air Tawar Barat, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang, Sumatera Barat
Email: Khairaannisa962@gmail.com

ABSTRAK

Sapi adalah hewan ternak anggota famili Bovidae dan subfamili Bovinae. Sapi biasanya dipelihara untuk dimanfaatkan susu dan dagingnya sebagai pangan manusia. Awalnya, sapi diidentifikasi sebagai tiga spesies terpisah: *Bos taurus* (sapi eropa), *Bos indicus* dan *Bos primigenius* (aurochs) yang telah punah. Seiring berjalannya waktu, ilmuwan mengalami perbedaan pendapat. Mereka menganggap *Bos taurus* dan *Bos indicus* merupakan subspecies dalam spesies yang sama. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis variasi genetik dalam urutan gen Cytochrome Oxidase Subunit 1 (COI) pada *Bos taurus* NCBI menggunakan RFLP in-silico dengan bioinformatika gratis alat-alat di internet. Hasil RFLP in-silico menunjukkan adanya variasi genetik pada situs restriksi enzim Aatll.

Keywords: Variasi gen, *Bos Taurus*, in-silico RFLP

PENDAHULUAN

Bos taurus adalah sapi peliharaan besar. *Bos taurus* adalah spesies yang paling luas dari genus *Bos*. Betina dewasa disebut sebagai sapi dan jantan dewasa disebut sebagai sapi jantan. Sapi umumnya dibesarkan sebagai ternak untuk daging (daging sapi atau sapi muda terdapat pada sapi potong), untuk susu (terdapat pada sapi perah) dan untuk kulit, yang digunakan untuk membuat kulit. Kulit sapi digunakan sebagai hewan berkuda dan hewan rancangan (lembu atau sapi jantan, yang menarik gerobak, bajak, dan alat lainnya).

Pada setiap Negara memiliki variasi genetik tertentu yang dimiliki oleh setiap negara. Variasi genetik merupakan perubahan yang terjadi pada nukleotida, gen kromosom dan genom pada suatu organisme. Variasi genetik pada suatu populasi akan berpengaruh terhadap kemampuan bertahan hidup suatu individu (Frankham *et al.*, 2002). Semakin tinggi variasi genetik yang terdapat pada suatu populasi, maka semakin baik kemampuan individu dalam beradaptasi terhadap perubahan lingkungan (Dunham, 2004).

Metode yang umum digunakan untuk analisis variasi genetik diantaranya Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), sekuensing DNA, dan pohon filogenetik. Variasi genetik dapat ditinjau secara *in silico* menggunakan sekuen gen yang tersedia pada database genbank NCBI.

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) adalah teknik yang umum digunakan untuk penentuan genotip (genotyping) melalui pemotongan sekuen DNA dengan enzim restriksi. Fragmen DNA hasil restriksi dipisahkan menggunakan elektroforesis dan divisualisasi menggunakan teknik Southern Blotting (Dai dan Long, 2015). Menurut Siti *et al.*, (2013) metode RFLP sebagai salah satu metode untuk mengetahui polimorfisme dalam mengkaji sejarah evolusi populasi manusia (garis keturunan/silsilah) dan untuk mengetahui adanya mutasi. Metode RFLP adalah metode analisis menggunakan enzim restriksi yang memotong urutan nukleotida khas pada lokasi tertentu yang berbeda sehingga dihasilkan fragmen yang panjangnya berbeda-beda (Theodore, 2000).

Restriksi dan visualisasi fragmen hasil restriksi dapat dilakukan secara *in silico* yang bertujuan untuk memprediksi hasil genotyping sebelum melakukan RFLP secara nyata di laboratorium. Selain untuk prediksi, teknologi ini juga dapat dimanfaatkan untuk mengeksplor lebih lanjut sekuen DNA yang tersedia di database GenBank NCBI seperti yang dilakukan oleh Wei *et al.* (2007).

Uji *in silico* adalah suatu istilah untuk percobaan atau uji yang dilakukan dengan metode simulasi komputer. Kegunaan uji *in silico* adalah untuk memprediksi memberi hipotesis, memberi penemuan baru atau kemajuan baru dalam pengobatan dan terapi (Hardjono, 2013). *In silico* dapat digunakan sebagai metode untuk mendekati kondisi nyata ke dalam simulasi berbasis komputer menggunakan program aplikasi atau perangkat lunak tertentu.

Sehingga tujuan penelitian ini untuk menganalisis Analisis variasi genetik Sapi (*Bos Taurus*) pada sekuen gen Cytochrome Oxidase Subunit 1 (COI) menggunakan RFLP *in silico* pada berbagai negara.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Laptop sebagai perangkat utama dengan Sekuen gen Cytochrome Oxidase Subunit 1 (COI) pada *Bos taurus* diunduh dalam

format fasta dari NCBI dengan nomor identitas NCBI NM_001024502.4.

Skrining Kandidat Enzim Restriksi

(<http://insilico.ehu.es/restriction/>).

Restriksi di Benchling

(<https://www.benchling.co>).

RFLP secara in silico

Memasukkan data yang telah di dapatkan ke web RFLP secara in silico.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Skrining kandidat enzim restriksi

Berdasarkan output yang diperoleh dari skrining kandidat enzim restriksi pada situs <http://insilico.ehu.es/restriction/>, terdapat sisi pengenalan enzim restriksi (**Gambar 1**). Sisi pengenalan ini dipilih karena menunjukkan variasi sisi pemotongan pada semua sekuen gen Cytochrome oxidase subunit 1 (COI) pada Sapi (*Bos taurus*).

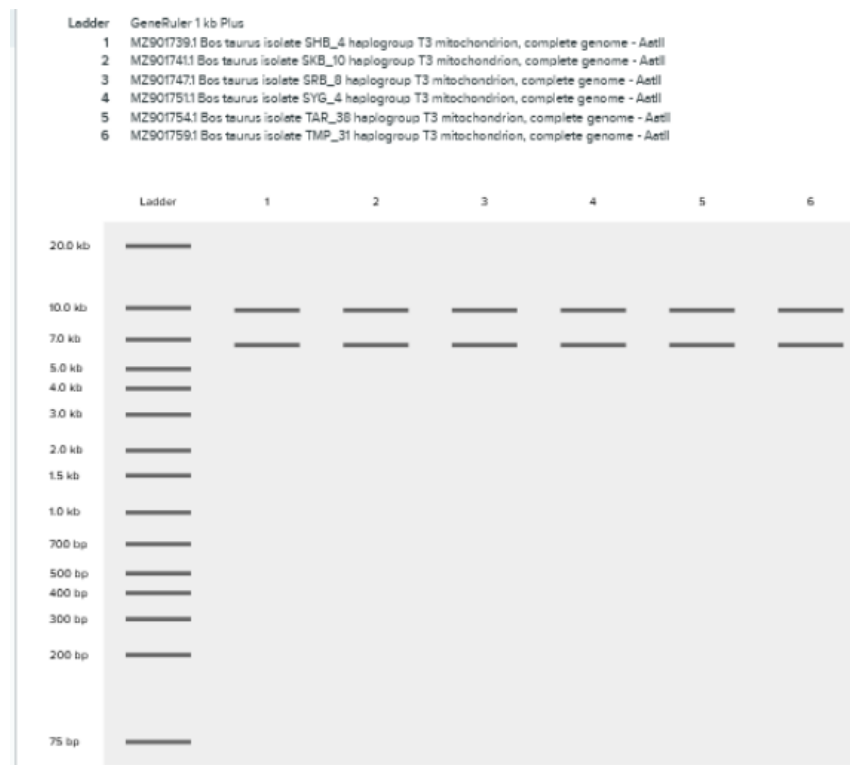
Restriction enzyme	Cleaves defined at	Cleaves MZ9017591 at	Cleaves MZ9017541 at	Cleaves MZ9017511 at	Cleaves MZ9017471 at	Cleaves MZ9017411 at	Cleaves MZ9017391 at
<ul style="list-style-type: none"> AatI, Eco147I, PceI, SseBI, StuI AGG'CCT 		1968 3341 4847 8548 9204 11570 13192 13855 14658	1967 3340 4846 8547 9203 11569 13191 13854 14657	1967 3340 4846 8547 9203 11569 13191 13854 14657	1967 3340 4846 8547 9203 11569 13191 13854 14657	1968 3341 4847 8548 9204 11570 13192 13855 14658	1967 3340 4846 8547 9203 11569 13191 13854 14657

Gambar 1. skrining kandidat enzim restriksi pada situs <http://insilico.ehu.es/restriction/>

RFLP secara insilico

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) adalah teknik yang umum digunakan untuk penentuan genotip (genotyping) melalui pemotongan sekuen RNA dengan enzim restriksi (Putri *et al.*, 2021). Metode RFLP adalah metode analisis menggunakan enzim restriksi yang memotong urutan nukleotida khas pada lokasi tertentu yang berbeda sehingga dihasilkan fragmen yang panjangnya berbeda beda. Metode RFLP sebagai salah satu metode untuk mengetahui polimorfisme dalam mengkaji sejarah evolusi populasi manusia (garis keturunan/silsilah) dan untuk mengetahui adanya mutasi.

RFLP secara insilico pada 6 fragmen gen Cytochrome oxidase subunit 1 (COI) pada Sapi (*Bos taurus*) dilakukan pada aplikasi Benchling menggunakan enzim restriksi yang telah dipilih pada tahap skrining kandidat enzim restriksi, yakni enzim AatII (**Gambar 2**).



Gambar 2. Elektroforegram hasil restriksi dengan enzim AatII secara in silico Kiri : Ladder GeneRuler 1 kb plus : MZ901759.1, MZ901754.1, MZ901751.1, MZ901747.1, MZ901741.1, MZ901739.1.

Berdasarkan hasil RFLP in silico diketahui tidak terdapat variasi genetik pada sekuen gen yang diisolasi dan diamplifikasi dari 6 fragmen Cytochrome oxidase subunit 1 sapi (*Bos taurus*). Restriksi dengan enzim AatII pada 6 fragmen gen Cytochrome oxidase subunit 1 (COI) pada Sapi (*Bos taurus*) menghasilkan satu alel dengan ukuran ampikon 9,6 kb dan 6,6 kb.

Gen COI memiliki banyak kelebihan untuk mempelajari karakteristik genetik karena sedikit sekali mengalami delesi dan insersi pada sekuennya, serta banyak bagian yang bersifat conserve (lestari) sehingga dapat digunakan sebagai DNA barcoding pada sebagian besar spesies (Hebert *et al.*, 2003). Gen COI juga dapat digunakan untuk merekonstruksi filogenetik pada cabang evolusi tingkat spesies. Selain itu susunan asam amino dari protein yang disandi gen COI jarang mengalami substitusi sehingga gen COI bersifat stabil dan dapat digunakan sebagai penanda analisis filogeni, namun basa basa pada triple kodonnya masih berubah dan bersifat silent yaitu perubahan basa yang tidak merubah jenis asam amino. Hal ini telah dilakukan pada berbagai spesies seperti sapi (Syed-Shabthar *et al.*, 2013) dan ayam (Gao, *et al.*, 2011).

REFERENSI

- Dai S, Long Y. 2015. Genotyping analysis using an RFLP assay. *Methods Mol Biol.* 1245:91-9.
- Dunham, RA. 2004. *Aquaculture and Fisheries Biotechnology*. CABI Publishing. Wallingford.
- Frankham, R, Ballou, JD & Briscoe, DA 2002. *Introduction to Conservation Genetics*, Cambridge, Cambridge University Press.
- Gao, Y., Tu, Y., Tang, X., Lu, J., & Zhang, X. 2011. Studies on the DNA barcoding of two newly discovered chicken breeds by mtDNA COI gene. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(13), 1711-1713.
- Hardjono. 2013. *Kimia Organik Dasar*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada Press.
- Hebert, P. D., Ratnasingham, S., & De Waard, J. R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(suppl_1), S96-S99.
- Putri, K. H. A., Sari, K. P., Safitri, M. Y., Putra, A., Agusdi, K., Oktavian, F. R., & Achyar, A. 2021.. Analisis Variasi Genetik Sekuen Gen Surface Glycoprotein (S) Pada SARS-CoV-2 Popset: 1843471817 Menggunakan RFLP Secara In-Sillico. *In Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 1, pp. 44-52).
- Siti, Heli H.M., G. Gun G., Desy N., Achmad S. Noer. 2013. Variasi Urutan Nukleotida Daerah D-Loop DNA Mitokondria Manusia pada Dua Populasi Asli Indonesia Tenggara. *P.* 440-446.
- Syed-Shabthar, S. M. F., Rosli, M. K. A., Mohd-Zin, N. A. A., Romaino, S. M. N., Fazly-Ann, Z. A., Mahani, M. C., ... & Md-Zain, B. M. 2013. The molecular phylogenetic signature of Bali cattle revealed by maternal and paternal markers. *Molecular Biology Reports*, 40(8), 5165-5176.
- Theodore, G. Schurr. 2000. Mitochondrial DNA and the Peopling of the New World Genetic variations among Native Americans provide further clues to who first populated the Americas and when they arrived. *American Scientist Online (The Magazine of Sigma)*.
- Wei, W., Davis, R.E., Lee, I.M., dan Zhao, Y. 2007. Computer-simulated RFLP analysis of 16S rRNA genes: identification of ten new phytoplasma groups. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57(8):1855-1867.