

Analisis Variasi Genetik IGF-1 Pada Sapi Kuantan Menggunakan RFLP Secara In Silico

Vanesa Cinta Efundri, Annisa Aulia Ardana, Afifatul Achyar
Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Dr. Hamka Air Tawar Barat, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang
Email: vanesacintaefundri@gmail.com

ABSTRAK

Sapi kuantan merupakan salah satu jenis sapi lokal di Indonesia yang berasal dari Provinsi Riau. Berdasarkan garis keturunan induk asal usul sapi kuantan adalah dari *Bos Indicus*. Sapi kuantan dibudidayakan masyarakat sepanjang aliran sungai kuantan secara semi intensif dan ekstensif. Keberadaan sapi kuantan ini diduga sudah ratusan tahun, dengan demikian sapi kuantan juga merupakan sumber daya genetik. Untuk meningkatkan budidaya sapi kuantan, upaya yang dapat dilakukan adalah melalui eksplorasi keragaman genetik gen-gen pertumbuhan, salah satunya adalah gen Insulin Like Growth Factor-1. IGF-1 dikenal juga sebagai 3 Somatomedin C, yaitu protein yang dikodekan oleh gen IGF-1. IGF-1 memiliki sejumlah bioaktivitas termasuk regulasi metabolisme dan peningkatan pertumbuhan dan perkembangan jaringan, reproduksi dan sistem kekebalan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman gen IGF1 menggunakan metode RFLP secara in silico. Hasil RFLP in silico dalam penelitian ini menunjukkan bahwa adanya variasi genetik di dalam situs pengenalan dari enzim Bfal yaitu alel A1 dan A2 pada 5 sekuen gen IGF-1 pada sapi kuantan dengan NCBI PopSet 1436187396.

Kata kunci: in-silico RFLP, gen IGF-1, variasi genetik

PENDAHULUAN

Sapi kuantan ditetapkan sebagai rumpun sapi lokal Indonesia berdasarkan SK Menteri Pertanian No 1052/kpts/SR.120/10/2014. Sapi kuantan dibudidayakan masyarakat sepanjang aliran sungai kuantan secara semi intensif dan ekstensif. Keberadaan sapi kuantan ini diduga sudah ratusan tahun, dengan demikian sapi kuantan juga merupakan sumber daya genetik. Seperti halnya sapi lokal lain sapi kuantan dapat dikembangkan untuk peningkatan populasi sapi lokal Indonesia. Upaya untuk mempertahankan ternak lokal di suatu daerah perlu dilakukan karena ternak-ternak tersebut telah beradaptasi dengan keadaan lingkungan setempat dengan baik, baik terhadap pakan yang bernilai gizi rendah maupun penyakit di daerah tropis (Abdullah et al., 2007).

Gen yang diduga memiliki pengaruh pada pertumbuhan ternak diantaranya adalah Gen Growth Hormone (GH), GHR, dan IGF-1 telah digunakan sebagai gen kandidat dalam mencari keterkaitan antara genotipe dengan fenotipe pada ternak. Keragaman gen ditunjukkan dengan adanya polimorfisme pada situs tertentu yang mungkin saja terkait dengan ekspresi gen pada sifat produksi. Jika keragaman gen tersebut terkait dengan sifat produksi, hal ini tentu dapat dijadikan sebagai alat 2 Marker Assisted Selection

(MAS). Keterkaitan keragaman gen dengan sifat produksi, dapat dimanfaatkan untuk mempelajari keragaman genetik dan struktur populasi ternak dan melihat hubungan kekerabatan berdasarkan jarak genetik (genetic distance) (Liron et al., 2002; Sumantri et al., 2008).

Nama Insulin-like growth factors diberikan kepada molekul ini karena adanya persamaan struktur dengan hormon insulin. IGF-I berperan dalam berbagai proses metabolisme di dalam tubuh ternak. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) adalah suatu polipeptida yang meningkatkan perkembangbiakan sel (Svoboda dan Van Wyk, 1983) dan pengambilan gula oleh sel (Poggi et al., 1979). IGF1 adalah mediator berbagai pengaruh biologi, misalnya, meningkatkan penyerapan glukosa, merangsang myogenesis, menghambat apoptosis, berpartisipasi dalam aktivasi genetik siklus sel, meningkatkan sintesis lipid, merangsang produksi progesteron dalam sel granular, dan intervensi dalam sintesis DNA, protein, RNA, dan dalam proliferasi sel (Etherton, 2004).

Variasi genetik (polimorfisme) pada lokus-lokus gen merupakan hal yang sangat penting, karena variasi tersebut menentukan produktivitas dari suatu populasi yang dapat membantu dalam peningkatan mutu genetik dari populasi ternak tersebut. Untuk meningkatkan mutu genetik sapi lokal perlu dilakukan identifikasi keragaman gen-gen pertumbuhan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan ternak. Hidayati dan Saragih (2020), melaporkan bahwa gen GH lokus AluI pada sapi kuantan bersifat monomorfik sehingga perlu dilakukan eksplorasi pada gen-gen pertumbuhan lainnya.

Penciri molekuler DNA menggunakan restriction fragmen length polymorphism (RFLP) memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi dan secara luas telah digunakan untuk mendapatkan gambaran populasi genetik dan juga mengidentifikasi gen-gen yang mengkode sifat-sifat yang penting (Montaldo and Herrera, 1998). Teknik ini semakin intensif digunakan sebagai penciri genetik karena memiliki beberapa keunggulan diantaranya untuk memperbanyak DNA secara cepat dengan memakai Polymerase Chain Reaction (PCR) dan polimorfisme fragmennya dilakukan dengan enzim restriksi, sehingga mampu mengidentifikasi genotipe secara jelas. Belum adanya informasi mengenai keragaman gen IGF-1 pada sapi lokal khususnya sapi kuantan menjadi dasar penelitian ini dilakukan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk kedalam jenis penelitian deskriptif yang dilakukan secara virtual from home dalam menganalisis dan mengumpulkan informasi beserta data untuk penelitian ini. Sekuen gen IGF-1 pada sapi kuantan yang digunakan dalam uji in silico ini diunduh dalam bentuk format dari web NCBI dengan nomor identitas NCBI PopSet 1436187396 yang dikirimkan oleh Omer,R.M.A., *et al.* (2018) dalam studinya yang berjudul *Molecular detection of selected genetic polymorphisms in growth hormone and insulin like growth factor 1 genes in indigenous Sudanese Baggara Cattle*

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/popset/1436187396>). Pada Popset tersebut terdapat 5 sequen gen pengkode IGF-1 pada sapi kuantan. Metode penelitian ini dilakukan melalui tahapan-tahapan berikut.

Skrining Kandidat enzim restriksi

Skrining enzim restriksi yang akan digunakan pada RFLP in silico dengan menggunakan situs <http://insilico.ehu.es/restriction/>. Situs ini dapat membandingkan pola restriksi dari sampel sekuen DNA yang diuji. Situs tersebut memiliki tools yaitu “*compare restriction pattern of many sequences*”. Sekuen gen yang sudah didapatkan dalam bentuk “FASTA”, kemudian diunggah pada slot yang sudah disediakan. Selanjutnya akan terlihat hasil alignment sekuen, jika sekuen tersebut sama maka akan dibuang untuk mempermudah analisis. Langkah selanjutnya yaitu “*only restriction enzymes with known bases (no N,R,Y...)*” digunakan agar memperoleh kandidat enzim restriksi dengan sisi pengenalan yang pasti. Kemudian “*get the list restriction enzyme*” dipilih untuk mendapatkan enzim restriksi yang akan digunakan.

RFLP secara in silico

RFLP adalah metode analisis sekuen nukleotida menggunakan enzim restriksi tertentu sehingga diperoleh polimorfisme berupa perbedaan panjang fragmen hasil restriksi atau pemotongan. RFLP dilakukan secara in silico atau restriksi secara virtual menggunakan situs <https://www.benchling.com/>. Pada tahap awal harus melakukan registrasi dengan menggunakan email. Jika sudah registrasi, dilanjutkan dengan import sekuen RNA yang sudah diunduh dari NCBI ke dalam folder project di situs Benchling. Selanjutnya mengklik tanda gunting pada pojok kanan. Kemudian tools “*find enzyme*” dipilih dan nama-nama enzim restriksi yang sudah ditentukan sebelumnya pada saat skrining, diketik pada kolom. Selanjutnya, klik menu “*run digest*” untuk restriksi. Dengan tools “*virtual digest*” dapat melihat gambar elektroforegram.

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 5 sisi pengenalan enzim restriksi diantaranya CTAG↓GATC yang dikenali oleh enzim BfaI isi pengenalan ini dipilih karena menunjukkan variasi pemotongan pada semua sekuen gen dalam PopSet 1436187396.

Enzim BfaI adalah enzim restriksi yang digunakan dalam biologi molekuler untuk memotong dan memanipulasi molekul DNA. BfaI memotong DNA pada urutan pengenalan spesifiknya, yang memungkinkan para peneliti untuk melakukan teknik manipulasi genetik seperti pemotongan DNA dalam eksperimen laboratorium.

RFLP secara *in silico*

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).

Analisis RFLP yang merupakan marker kodominan telah banyak digunakan untuk mencapai berbagai tujuan. Mengingat situs restriksi mempunyai sekuensi DNA tertentu, berarti variasi keberadaan situs restriksi mencerminkan adanya variasi sekuensi DNA. Dengan kata lain, RFLP dapat berfungsi sebagai penduga variasi DNA. Variasi dideteksi dalam bentuk pemotongan rangkaian panjang polimorfik (ganda) yang mana waktu penilaian dari rangkaian variasi memungkinkan dari data fragmen itu sendiri, rangkaian variasi yang panjang dalam suatu bagian dapat dinilai dari substitusi nukleotida (Fatchiyah *et al.*, 2011).

Perkembangan ilmu pengetahuan dengan pemanfaatan teknologi saat ini merupakan sebuah hal yang menguntungkan dalam berbagai aspek keilmuan, terutama dalam bidang genetika. Dengan hadirnya berbagai macam *tools* bioinformatika, proses *screening* enzim restriksi dan visualisasi fragmen hasil restriksi dapat dilakukan secara *in silico* yang bertujuan untuk memprediksi hasil *genotyping* sebelum melakukan RFLP secara nyata di laboratorium (Achyar *et al.*, 2021).



Gambar 1. Elektroforegram hasil restriksi dengan enzim *BfaI* secara *in silico*.

Ladder Life 1 kb Plus (1)MG879299.1, (2)MG879300.1, (3)MG879301.1,
(4)MG879302.1, (5)MG879303.1.

RFLP secara *in silico* pada 5 sekuen DNA gen IGF-1 pada NCBI dengan PopSet 1436187396 yang dilakukan pada website Benchling menggunakan enzim restriksi yang telah dipilih pada tahap skrining kandidat enzim restriksi, yaitu enzim Bfal. Hasil RFLP *in silico* divisualisasikan dengan elektroforesis gel secara virtual seperti pada Gambar 1 untuk restriksi dengan enzim Bfal.

Restriksi dengan menggunakan enzim Bfal pada 5 sekuen gen IGF-1 menghasilkan dua variasi alel, yaitu Alel A1 yang menghasilkan dua pita DNA berukuran 44 bp dan 147 bp. sedangkan Alel A2 menghasilkan dua pita DNA berukuran 45 bp dan 147 bp. (Gambar 1). Hal ini karena alel A1 memiliki situs pengenalan restriksi Bfal (C'TA_G) dengan sisi pemotongan pada basa ke-44 dan 191. Sedangkan pada Alel A2 memiliki situs pengenalan restriksi Bfal (C'TA_G) dengan sisi pemotongan pada basa ke-45 dan 192.

Berdasarkan hasil RFLP *in silico* diketahui terdapat variasi genetik dalam sisi pengenalan restriksi enzim Bfal pada sekuen DNA gen IGF-1 dikirimkan oleh Omer, R.M.A., *et al.* (2018) dalam studinya yang berjudul *Molecular detection of selected genetic polymorphisms in growth hormone and insulin like growth factor 1 genes in indigenous Sudanese Baggara Cattle*. Insulin-like growth factors adalah protein pengangkut di (dalam) darah. Nama Insulin-like growth factors diberikan kepada molekul ini karena persamaan struktural dengan hormon insulin. Saat ini, IGF-I merupakan subjek riset dibidang peternakan dalam kaitan dengan pengaruhnya terhadap berbagai proses metabolisme di dalam tubuh. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) adalah suatu polipeptida yang meningkatkan perkembangbiakan sel (Svoboda dan Van Wyk, 1983) dan pengambilan gula oleh sel (Poggi *et al.*, 1979). Gen IGF-1 sapi terletak pada kromosom 5, terdiri dari 6 ekson dan 5 intron (Rotwein, 2017).

PENUTUP

Hasil RFLP *in silico* pada penelitian ini menunjukkan adanya variasi genetik dalam sisi pengenalan restriksi enzim Bfal (alel A1 dan alel A2) pada 5 sekuen DNA gen IGF-1 NCBI PopSet 1436187396.

REFERENSI

Abdullah, M.A.N., R. R. Noor., H. Martojo., D. D Solihin, dan E. Handiwirawan. 2007. Keragaman Fenotipik Sapi Aceh di Nanggroe Aceh Darussalam. *J. Indon.Trop.Anim.Agric*, 32(1): 11–21.

- Achyar, A., Hindayageni, A., Humaira, F., Wijaya, N. N., Aqsha, N., & Zultsatunni'mah, Z. (2021). Analysis of Genetic Variations in Poly Gene Sequences in Dengue Virus 2 Using In-Silico RFLP. *Bioscience*, 5(1), 80-86.
- Etherton, T.D. 2004. Somatotropic Function: the Somatomedin Hypothesis Revisited. *J. Anim. Sci.* 82 (E-Suppl): E239-E244.
- Hidayati, and R. Saragih. 2020. Identification of Locus GH/Alui Polymorphisms of Kuantan and Pesisir Cattle. *Buletin Peternakan*, 44(3): 64-65.
- Montaldo, H. H, and Meza-Herrera, C. A. 1998. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. *Electronic Journal of Biotechnology*, 1(2): 15-16.
- Poggi, C., B. Le-Marchand, dan J. Zapf. 1979. Effects of Binding of Insulin-like Growth Factor-I in the Isolated Soleus Muscle of lean and Obese Mice: Comparison with Insulin. *Endocrinology*, 105:723.
- Svoboda, M. E, dan J.J. Van Wyk. 1983. Purification of Somatomedin-C/Insulin- like Growth Factor I. *Methods in Enzymology*. 109:798.