

KERAGAMAN GEN *CALPASTATIN*, *CALPAIN 3* DAN *MYOSTATIN* PADA DOMBA DI UP3 JONGGOL

(POLYMORPHISM OF *CALPASTATIN*, *CALPAIN* AND *MYOSTATIN* GENES IN SHEEP AT JASTRU)

Cece Sumantri^{*}, Jakaria, Mohamad Yamin, Henny Nuraini,
Bramada Winar Putra, Eryk Andreas

ABSTRACT

The aim of this study was to identify the genetic polymorphisms of calpastatin (*CAST*), calpain 3 (*CAPN3*) and myostatin (*MSTN*) on local sheep at Jonggol Animal Science Teaching and Research Unit (JASTRU). A total number of 294 blood samples were collected from JASTRU. The identification of polymorphism in *CAST* and *CAPN3* genes performed by using Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) while *MSTN* gene by using PCR-SSCP methods. The results showed that *CAST|MspI*, *CAST|NcoI* and *CAPN3|MaeII* loci were polymorphic, whereas The *MSTN* locus was monomorphic for G (1.0). The frequency of allele M (0.87) on the locus (*CAST|MspI*) higher than the N allele (0.13). At locus *CAST|NcoI*, the frequency of allele M (0.96) higher than the N allele (0.04). At the *CAPN3|MaeII*, allele G (0.85) and allele T (0.15). Locus *CAST|NcoI* has higher observed heterozygosity ($H_o = 0.92$) compared to *CAPN3|MaeII* and *CAST|MspI* ($H_o = 0.74-0.77$), however has lower compared to *CAPN3|MaeII* and *CAST|MspI* in expected of heterozygosity ($H_e = 0.08$ vs $0.23-0.26$) and in index fixation ($Fis = -0.04$ vs $0.03-0.12$).

Keywords: Genetic polymorphism, calpastatin, calpain, myostatin and sheep.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keragaman genetik gen pengontrol kualitas daging yaitu gen *calpastatin* (*CAST*), *calpain 3* (*CAPN3*), dan *myostatin* (*MSTN*) pada domba lokal di Unit Pendidikan dan Pelatihan Peternakan (UP3) Jonggol. Sampel darah domba dari UP3 Jonggol yang digunakan sebanyak 294 diekstraksi untuk mendapatkan sampel DNA genom. Pendeteksian keragaman pada gen *CAST* dan *CAPN3* dilakukan menggunakan pendekatan *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP), sedangkan pada gen *MSTN* dilakukan menggunakan pendekatan *Polymerase Chain Reaction -Single Strand Conformation Polymorphism* (PCR-SSCP). Hasil pendeteksian keragaman lokus *CAST|MspI* dan *CAPN3|MaeII* menghasilkan dua alel (M dan N) dan tiga genotipe (MM, MN dan NN), sedangkan lokus *CAST|NcoI* menghasilkan dua alel (M dan N) dan dua genotipe (MM dan MN). Aplikasi PCR-SSCP pada gen *MSTN* menemukan hanya satu alel G (1,0). Lokus *CAST|MspI*, *CAST|NcoI* dan *CAPN3|MaeII* bersifat polimorfik. Frekuensi alel M (0,87) pada lokus (*CAST|MspI*) lebih tinggi dari Alel N (0,13). Pada lokus *CAST|NcoI*, frekuensi alel M (0,96) lebih tinggi dibandingkan alel N (0,04). Pada lokus *CAPN3|MaeII*, alel G (0,85) dan alel T (0,15). Nilai heterozigositas pengamatan (H_o) berkisar antara 0,74 - 0,92, lebih tinggi dari nilai heterozigositas harapannya (H_e) yang berkisar antara 0,08–0,28. Nilai Fis domba UP3 Jonggol dalam kisaran (-0,04) - 0,12. Nilai Fis yang lebih besar ditemukan pada lokus *CAPN3|MaeII* (0,12).

Kata kunci: Keragaman genetik, *calpastatin*, *calpain*, *myostatin* dan domba.

PENDAHULUAN

Domba lokal di Unit Pendidikan dan Penelitian Peternakan Jonggol (UP3J)-Fapet IPB merupakan

Dep. Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.

Jl. Agatis, Gedung Fakultas Peternakan IPB, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

* Penulis korespondensi: cece_sumantri12@yahoo.com

domba hasil persilangan antara domba ekor tipis dengan domba Garut. Domba ini telah dipelihara dengan sistem manajemen penggembalaan sejak tahun 1980 di UP3J dan terseleksi secara alami untuk lingkungan panas dan kering. Sumantri *et al.* (2007) melaporkan domba di UP3 Jonggol jantan dewasa mempunyai rata-rata bobot badan $34,9 \pm 6,96$ kg, sedangkan rata-rata bobot badan domba betinanya $26,11 \pm 4,12$ kg. Bobot badan domba UP3 Jonggol

lebih tinggi bila dibandingkan dengan domba dewasa Donggala (jantan 24,0 dan betina 25,3 kg), domba Kisar (jantan 25,8 dan betina 18,9 kg), dan domba Rote (jantan 27,9 dan betina 20,3 kg), hampir sama dengan domba Sumbawa (jantan 33,8 dan betina 26,9 kg), tetapi lebih rendah dari domba Garut (jantan 40,80 dan betina 27,57 kg)

Perkembangan teknologi genetika molekuler seperti penggunaan penanda DNA (marker assisted selection, MAS) dapat mempercepat dan meningkatkan keakuratan seleksi. Upaya seleksi pada tingkat DNA relatif lebih mudah untuk mendeteksi adanya pengaruh alel positif pada sifat bernilai ekonomis (economic trait loci, ETL) yang biasanya bersifat kuantitatif (quantitative trait loci, QTL).

Protein *calpastatin* (CAST) merupakan anggota kelompok sistem *calpain-calpastatin*. Sistem ini berpengaruh pada banyak proses fisiologis dan patologis (Goll *et al.*, 2003; Kidd *et al.*, 2000; dan Raynaud *et al.*, 2004). Gen CAST pada domba terletak pada kromosom nomor lima (Hediger *et al.*, 1991) sedangkan pada ternak sapi (*Bos taurus*) terletak pada kromosom nomor 7 (Bishop *et al.*, 1993; Kappes *et al.*, 1997). Palmer *et al.* (1998) melaporkan bahwa terdapat keragaman gen *calpastatin* pada domba Dorset. *Calpain* (CAPN) merupakan sebuah enzim *proteolitik* terkait dengan ion kalsium (Ca^{2+}), *calpain* terbagi dalam dua bentuk, yaitu μ -*calpain* dan *m-calpain*. μ -*calpain* merupakan *calpain* yang memerlukan ion Ca^{2+} dalam konsentrasi rendah, sedangkan *m-calpain* merupakan *calpain* yang memerlukan ion Ca^{2+} dalam konsentrasi tinggi. *Calpain* berfungsi untuk mendegradasi protein sel-sel otot (myofibril) di dalam jaringan otot (Goll *et al.*, 1992). Myostatin (MSTN) merupakan salah satu gen yang terletak di ujung distal kromosom 2 pada sapi (Grobet *et al.*, 1997), dan terdiri atas tiga ekson dan dua intron. Menurut Grobet *et al.* (1997), dan McPherron *et al.* (1997), hal yang sama juga terdapat pada beberapa spesies lain dengan runutan DNA terdapat pada bank gen dengan nomor akses pada babi (AY208121), kerbau (AH013313), ayam (AF346599), dan tikus rumah (AY204900). Mutasi yang terjadi pada gen yang menyandikan protein myostatin ini telah banyak dipelajari dan berpengaruh terhadap pertambahan massa otot pada tikus, anjing, sapi dan manusia (Grobet *et al.*, 1997; McPherron *et al.*, 1997; Schuelke *et al.*, 2004).

Berdasarkan hasil kajian molekuler pada domba di UP3J-Fapet-IPB seperti DNA mikrosatelit (Sumantri *et al.*, 2008a), gen *calpastatin* (Sumantri *et al.*, 2008b), gen *Pit-1* (Sumantri *et al.*, 2008c), gen κ -kasein (Sumantri *et al.*, 2008d) menunjukkan adanya keragaman genetik cukup tinggi, sehingga seleksi

sangat mungkin untuk dilakukan. Informasi tentang adanya keragaman pada gen yang terkait dengan pengontrolan sifat kualitas daging dan karkas pada domba lokal di Indonesia masih sangat jarang dilakukan. Berdasarkan pertimbangan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman genetik gen CAST, CAPN3, dan MSTN pada domba lokal di Unit Pendidikan dan Pelatihan Peternakan (UP3) Jonggol.

METODE PENELITIAN

Sampel Ternak dan DNA Domba

Domba yang digunakan dalam penelitian sebanyak 294 ekor. Sistem pemeliharaan dilakukan secara ekstensif di Unit Pendidikan dan Pelatihan Peternakan (UP3) Jonggol, dengan dilepaskan pada pagi sampai dengan sore hari dipadang gembalaan tanpa ada pemberian pakan konsentrat dan dikandangkan pada malam hari.

Sampel darah diambil dari bagian *vena jugularis* menggunakan jarum *venoject* yang ditampung pada tabung *vacutainer*. Selanjutnya sampel darah ditambahkan *ethanol* dengan perbandingan sampel darah: *ethanol* adalah 1:1.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dari sampel darah dalam *ethanol* dengan menggunakan metode *phenol-chloroform* (Sambrook dan Russell, 2001) yang telah dimodifikasi oleh Andreas *et al.* (2010). Sampel darah dalam *ethanol* sebanyak 200 μ l dicuci dengan 1000 μ l air destilasi (distilled water, DW), kemudian di vorteks dan disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 5 menit. Hasil sentrifugasi berupa endapan sel darah yang telah lisis ditambahkan bufer 1 x STE (sodium tris EDTA) sampai volume 340 μ l, 40 μ l sodium dodesil sulfat 10% dan 20 μ l proteinase K 5 mg/mL. Campuran diinkubasi pada suhu 50 °C selama satu jam sambil digoyang pelan.

Campuran sampel yang telah diinkubasi ditambahkan 400 μ l larutan phenol, 400 μ l *choloform:isoamyl alcohol* (24:1) dan 40 μ l NaCl 5M. Campuran digoyang pada suhu ruang selama satu jam. Campuran disentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 5 menit hingga fase air terpisah dengan fase phenol. Fase air dipindahkan dalam tabung baru dengan volume terukur. Molekul DNA diendapkan dengan cara menambahkan 2 x volume *ethanol absolute* dan 0,1 x volume NaCl 5M. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu -20 °C selama semalam. Pengendapan DNA selanjutnya dilakukan

dengan disentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 5 menit. Endapan DNA yang diperoleh dicuci dengan *ethanol* 70%, kemudian diendapkan lagi. Endapan DNA yang telah bersih dari alkohol dipulihkan dengan menambahkan 100 µl TE (Tris EDTA). Sampel DNA disimpan pada suhu -20 °C dan siap untuk digunakan.

Amplifikasi Fragmen Gen Calpastatin, Calpain 3 dan Myostatin.

Amplifikasi fragmen gen *calpastatin* (CAST), *calpain 3* (CAPN3) dan *myostatin* (MSTN) dilakukan secara *in vitro* menggunakan mesin *thermal cycler* GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems™). Amplifikasi dilakukan menggunakan reaksi yang terdiri atas 2 µl sampel DNA, masing-masing primer (Tabel 1) 25 pmol, campuran dNTP 200 µM, MgCl₂ 1 mM, dan *taq polymerase* DreamTaq™ (Fermentas) 0,5 unit dan bufernya dalam larutan total 25 µl. Amplifikasi berjalan pada 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 pada suhu 60 °C selama 45 detik dan pemanjangan DNA baru pada suhu 72 °C selama 1 menit, dan pemanjangan akhir pada suhu 72 °C selama 5 menit.

Pendeteksian Keragam Gen Calpastatin, Calpain 3 dan Myostatin

Pendeteksian keragaman pada gen CAST dan CAPN3 dilakukan dengan menggunakan pendekatan *polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism* (PCR-RFLP), sedangkan pada gen MSTN dilakukan menggunakan pendekatan – *single strand conformation polymorphism* (PCR-SSCP). Enzim pemotong yang digunakan untuk mengenali situs pemotongan pada fragmen gen CAST adalah *MspI* (CAST|*MspI*) dan *NcoI* (CAST|*NcoI*) yang masing-masing mengenali situs pemotongan C|CGG dan C|CATGG. Kedua enzim diinkubasikan pada suhu 37 °C, dan enzim *MaeII* (A|CTG) untuk gen CAPN3 (CAPN3|*MaeII*) yang diinkubasikan pada suhu 65 °C.

Pendeteksian keragaman pada fragmen gen MSTN dilakukan menggunakan metode PCR-SSCP, sebagai alternatif dari penelitian Boman *et al.* (2009) yang menggunakan metode PCR-RFLP menggunakan enzim *MaeIII*. Analisis PCR-SSCP diawali dengan memisahkan DNA menjadi utas tunggal dengan cara dipanaskan pada suhu 95°C selama 10 menit, kemudian dimasukkan dalam *ice bath* secara cepat untuk menghasilkan konformasi utas tunggal DNA. Pola migrasi dari konformasi yang sama menunjukkan runutan sekuen yang sama. Genotipe yang ditemukan dikonfirmasi menggunakan analisis sekuensing (Macrogen Inc.).

Penentuan Genotipe Gen Calpastatin, Calpain 3 dan Myostatin

Penentuan genotipe gen CAST dan CAPN3 dilakukan pada gel agarosa 2% dengan tegangan 100 volt selama 40 menit dan bufer 0,5 x TBE (tris borat EDTA). Gel diwarnai dengan *etidium bromida* yang divisualisasikan pada UV trans illuminator (Alpha Imager EP). Penentuan genotipe gen MSTN dilakukan pada *polyacrilamide gel electrophoresis* (PAGE) 12% dengan bufer 0,5 x TBE. Proses elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 volt selama 17 jam yang disimpan pada suhu 4 °C. Pita DNA pada PAGE diwarnai dengan menggunakan pewarnaan sensitive perak (Byun *et al.*, 2009).

Analisis Statistik

Analisis data molekuler lokus CAST|*MspI*, CAST|*NcoI*, CAPN3|*MaeII* dan MSTN pada populasi domba di UP3 Jonggol meliputi frekuensi alel, keseimbangan Hardy-Weinberg, nilai heterosigositas meliputi heterosigositas pengamatan (H_o) dan heterosigositas harapan (H_e) dan indeks fiksasi (Fis). Data keragaman dianalisis menggunakan POPGENE versi 1.32.

Tabel 1 Informasi primer yang digunakan.

Lokus	Sekuen Primer (5' – 3')	Ukuran	Pustaka
CAST	F: TGG GGC CCA ATG ACG CCA TCG ATG R: GGT GGA GCA GCA CTT CTG ATC ACC	622 bp	Palmer <i>et al.</i> , 1998
CAPN3	F: CTC TCA GGA TGT CCT ACG ATG R: CTG GGA AGT TGC GGC AGC CTC	168 bp	Zhou <i>et al.</i> , 2007
MSTN	F: CTC CTT GCG GTA GGA GAG TG R: GGT GCA CAA GAT GGG TAT GAG	299 bp	Boman <i>et al.</i> , 2009

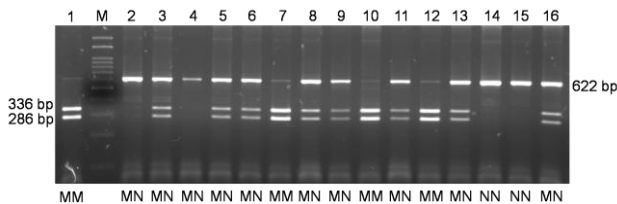
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pendeteksian Keragaman Gen Calpastatin, Calpain 3 dan Myostatin

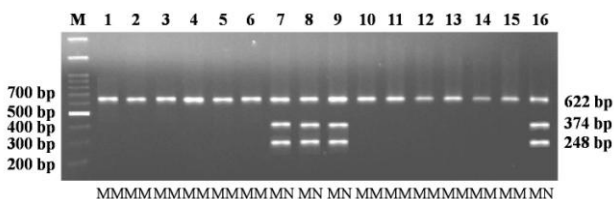
Hasil amplifikasi fragmen gen CAST menggunakan primer yang dirancang berdasarkan Palmer *et al.* (1998) menghasilkan fragmen sepanjang 628 bp. Pendeteksian keragaman ruas gen CAST menggunakan enzim *MspI* (CAST|*MspI*) menghasilkan dua alel, yaitu alel M (336 dan 286 bp) dan alel N (622 bp). Terdapat tiga genotipe yang ditemukan pada populasi domba UP3 jonggol sebanyak tiga genotipe, yaitu genotipe MM (336 dan 286 bp), MN (622, 336 dan 286 bp) dan NN (622 bp).

Hasil pendeteksian keragaman CAST dengan enzim *NcoI* juga menghasilkan dua alel, yaitu alel M yang ditunjukkan dengan adanya pita 622 bp dan alel N yang ditunjukkan dengan pita 374 dan 248 bp. Hanya terdapat dua genotipe yang ditemukan, yaitu genotipe MM (622 bp) dan MN (622, 374 dan 248 bp). Hasil visualisasi keragaman gen CAST|*MspI* dan CAST|*NcoI* pada gel agarosa diperlihatkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Amplifikasi ruas gen CAPN3 menggunakan runutan primer berdasarkan Zhou *et al.* (2007) menghasilkan fragmen DNA sepanjang 168 bp. Pendeteksian keragaman ruas gen CAPN3 dengan metode PCR-RFLP menggunakan enzim restriksi *MaeII* (CAPN3|*MaeII*) menghasilkan dua alel, yaitu alel G yang ditunjukkan dengan adanya fragmen sepanjang 97 dan 71 bp, dan alel T yang ditunjukkan dengan adanya fragmen sepanjang 168 bp. Terdapat



Gambar 1 Visualisasi keragaman gen CAST|*MspI* pada gel agarose 2%. M: Marker 100 bp, MM: 336 dan 286 pb, MN: 622, 336 dan 286 pb, dan NN: 622 pb.



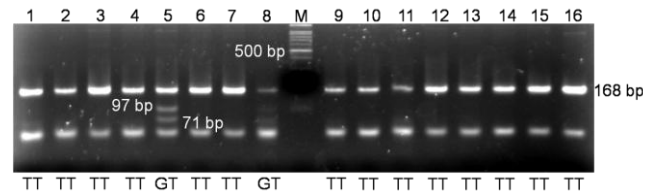
Gambar 2 Visualisasi keragaman gen CAST|*NcoI* pada gel agarose 2%. M: Marker 100 bp, MM: 622 pb, MN: 622, 374 dan 248 pb.

tiga genotipe CAPN3 yang ditemukan pada populasi domba di UP3 Jonggol, yaitu genotipe GG (97 dan 71 bp), GT (168, 97 dan 71 bp) dan TT (168 bp). Hasil visualisasi keragaman gen CAPN3|*MaeII* diperlihatkan pada Gambar 3.

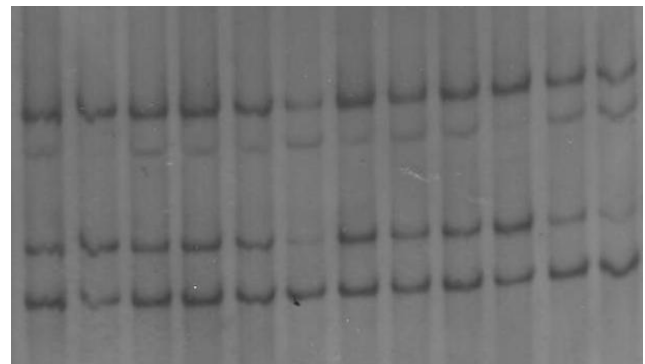
Pendeteksian keragaman gen MSTN menggunakan metode PCR-SSCP merupakan metode alternatif untuk mendeteksi keragaman yang sebelumnya dilakukan. Penelitian Boman *et al.* (2009) menemukan adanya keragaman pada gen MSTN menggunakan metode PCR-RFLP dengan enzim *MaeIII* (MSTN|*MaeIII*). Pada penelitian tersebut ditemukan dua alel, yaitu alel G (normal) dan alel delG yang mengalami delesi nukleotida G pada posisi nukleotida ke 960 (c.del960G). Hasil penelitian menggunakan metode PCR-SSCP tidak menemukan adanya keragaman pada lokus MSTN. Alel dan genotipe yang ditemukan adalah alel G dan genotipe GG. Hasil visualisasi keragaman gen MSTN pada PAGE 12% diperlihatkan pada Gambar 4.

Keragaman Genetik Domba UP3 Jonggol

Keragaman genetik domba UP3 Jonggol pada lokus CAST|*MspI*, CAST|*NcoI*, CAPN|*MaeII* dan MSTN ditampilkan pada Tabel 2. Nilai keragaman genetik domba UP3 Jonggol berdasarkan frekuensi alel dari ke tiga lokus tersebut menunjukkan tingkat keragaman yang rendah. Lokus CAST|*MspI*, CAST|*NcoI* dan CAPN3|*MaeII* bersifat polimorfik, sedangkan lokus MSTN bersifat monomorfik. Hal ini



Gambar 3 Visualisasi keragaman gen CAPN3|*MaeII* pada gel agarose 2%. M: Marker 100 bp, GT: 168, 97 dan 71 pb, TT: 168 pb.



Gambar 4 Visualisasi keragaman gen MSTN menggunakan metode PCR-SSCP pada PAGE 12%.

Tabel 2 Keragaman genetik domba di UP3 Jonggol berdasarkan lokus CAST|*MspI*, CAST|*NcoI*, CAPN3|*MaeII* dan MSTN

Lokus	Alel	Frekuensi	χ^2	H ₀	H _e	Fis
CAST <i>MspI</i> ^a	M	0,87	0,26	0,77	0,23	0,03
	N	0,13				
CAST <i>NcoI</i> ^a	M	0,96	0,48	0,92	0,08	-0,04
	N	0,04				
CAPN3 <i>MaeII</i>	G	0,15	4,35*	0,74	0,26	0,12
	T	0,85				
MSTN ^b	G	1,00	TD	TD	TD	TD
	delG	0,00				

Keterangan:

* menunjukkan berbeda nyata pada $\chi^2_{0,05} = 3,841$.

^a sebagian data telah dipublikasikan Sutikno *et al.*, 2011.

^b Sebagian data telah dipublikasikan Sumantri *et al.*, 2011.

sesuai dengan pernyataan Nei dan Kumar (2000) bahwa populasi dinilai beragam jika memiliki dua atau lebih alel dalam satu lokus dengan frekuensi yang cukup (biasanya lebih dari 1%). Penelitian keragaman lokus CAST|*MspI* sebelumnya pada domba UP3 Jonggol yang dilakukan Sumantri *et al.* (2008b) menghasilkan frekuensi alel N (0,84) yang relatif lebih tinggi dari alel M (0,16). Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya, dimana frekuensi alel M (0,87) lebih besar dari Alel N (0,13). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh penggantian pejantan dengan penggunaan yang terbatas. Pada lokus CAST|*NcoI*, frekuensi alel M (0,96) memiliki frekuensi yang lebih tinggi dibandingkan alel N (0,04). Hasil penelitian Zhou *et al.* (2007) pada gen CAPN3 menemukan adanya tiga alel dan enam genotip. Penelitian Boman *et al.* (2009) yang menggunakan domba dengan fenotipe menyerupai *double muscle* (*increased muscle mass*, IMM) memiliki frekuensi alel del G (0,79) yang lebih tinggi dibandingkan alel G (0,21).

Nilai *chi* kuadrat (χ^2) yang digunakan untuk mengestimasi keseimbangan alel dalam populasi (keseimbangan Hardy-Weinberg) pada domba UP3 Jonggol berada dibawah nilai χ^2 tabel. Hal tersebut berarti bahwa keragaman alel dalam populasi tersebut bersifat seimbang, kecuali pada lokus CAPN3|*MaeII* yang memiliki nilai χ^2 yang lebih tinggi dari χ^2 tabel. Keseimbangan yang terdapat pada domba di UP3 Jonggol menunjukkan tidak adanya proses migrasi. Hartl (1987), Gillespie (1998) dan Nei dan Kumar (2000) menyatakan bahwa suatu populasi yang cukup besar akan berada dalam keseimbangan jika tidak terjadi proses seleksi, mutasi, migrasi, dan *genetic drift*.

Nilai heterozigositas menggambarkan adanya variasi genetik dalam suatu populasi. Nilai heterozigositas dapat digunakan untuk membantu program seleksi, untuk memilih sumber genetik pada generasi berikutnya (Marson *et al.*, 2005). Nilai heterozigositas pengamatan (H_o) pada populasi domba UP3 Jonggol cukup tinggi, berkisar antara 0,74–0,92, lebih tinggi dari nilai heterozigositas harapannya (H_e) yang berkisar antara 0,08–0,28. Tambasco *et al.* (2003) menyatakan bahwa jika nilai H_o lebih rendah di dibandingkan nilai H_e dapat mengindikasikan adanya derajat endogami (*inbreeding*) yang tinggi sebagai akibat adanya proses seleksi yang intensif. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada populasi domba di UP3 Jonggol, selain tidak adanya proses migrasi, juga tidak adanya proses seleksi yang intensif.

Indeks fiksasi (Fis) atau bisa juga disebut sebagai koefisien *inbreeding* biasanya digunakan untuk mengetahui struktur persilangan populasi atau pola seleksi yang dihubungkan dengan alel yang polimorfik (Nei dan Kumar, 2000). Nilai Fis domba UP3 Jonggol berkisar antara -0,04–0,12. Nilai Fis yang lebih besar ditemukan pada lokus CAPN3|*MaeII* (0,12). Nilai Fis yang mendekati nilai 0 mengindikasikan bahwa populasi tersebut berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg.

KESIMPULAN

Domba UP3 Jonggol menunjukkan tingkat keragaman genetik yang rendah. Lokus CAST|*MspI*, CAST|*NcoI* dan CAPN3|*MaeII* bersifat polimorfik, sedangkan MSTN bersifat monomorfik. Pengujian nilai χ^2 menunjukkan bahwa keragaman alel dalam populasi tersebut bersifat seimbang, kecuali pada lokus CAPN3|*MaeII* yang memiliki nilai $\chi^2 = 4,35$. Nilai heterozigositas pengamatan (H_o) berkisar antara 0,74–0,92, lebih tinggi dari nilai heterozigositas harapannya (H_e) yang berkisar antara 0,08–0,28. Nilai Fis berkisar antara -0,04–0,12. Nilai Fis yang lebih besar ditemukan pada lokus CAPN3|*MaeII*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia melalui program Hibah Kompetensi tahun 2009 dengan nomor kontrak 219/SP2H/PP/DP2M/V/2009 dan tahun 2010 dengan nomor kontrak 224/SP2H/PP/DP2M/III/2010. Terima kasih kami ucapkan pada Unit Pendidikan dan

Pelatihan Peternakan (UP3) Jonggol, Fakultas Peternakan IPB atas izin penggunaan sampel darah. Terima kasih juga kepada M.I.A. Dagong dan Sutikno yang terlibat dalam kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andreas, E., C. Sumantri, H. Nuraini, A. Farajallah, dan A. Anggraeni. 2010. Identification of GH|*A/l* and GHR|*A/l* Genes Polymorphisms in Indonesian Buffalo. *JITAA*. 35:215-221.
- Bishop, M.D., M. Koochmarai, J. Killefer, dan S. Kappes. 1993. Restriction fragment length polymorphisms of the bovine calpastatin gene. *J. Anim. Sci.* 71: 2277.
- Boman, I.A., G. Klemetsda, T. Blichfeldt, O. Nafstad, dan D. I. Vage. 2009. A frameshift mutation in the coding region of the myostatin gene (MSTN) affects carcass conformation and fatness in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). *Anim. Genet.* 40:418-422.
- Byun, S.O., Q. Fang, H. Zhou, dan J.G.H. Hickford. 2009. An effective method for silver staining DNA in large numbers of polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.* 385:174-175.
- Gillespie, J. H. 1998. Population Genetics, A Concise Guide. The Johns Hopkins University Press. London.
- Goll, D.E., V.F. Thompson, H. Li, W. Wei, dan J. Cong. 2003. The calpain system. *Physiol. Rev.* 83:731-801.
- Grobet, L., L.J. Martin, D. Poncelet, D. Pirottin, B. Brouwers, J. Riquet, A. Schoeberlein, S. Dunner, F. Ménéssier, J. Massabanda, R. Fries, R. Hanset, dan M. Georges. 1997. A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nature Genet.* 17:71-74.
- Hartl, D.L. 1987. A Primer of Population Genetics. 2nd Ed. Sinauer Associates, Inc. USA.
- Hediger, R., H. A. Ansari, dan G. F. Stranzinger. 1991. Chromosome banding and gene localizations support extensive conservation of chromosome structure between cattle and sheep. *Cytogenet. Cell Genet.* 57:127-132.
- Huang, Y & K.K.W. Wang. 2001. The calpain family and human disease. *Trends. Mol. Med.* 7:355-362.
- Kappes, S.M., J.W. Keele, R.T. Stone, T.S. Sonstegard, T.P.L. Smith, R.A. McGraw, N.L. Lopezcorrales, dan C.W. Beattie. 1997. A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Res.* 7:235.
- Kidd, V.J., J.M. Lahti, dan T. Teitz. 2000. Proteolytic regulation of apoptosis. Seminar in. *Cell. Dev. Biol.* 11:191-201.
- Marson, E.P., J.B.S. Ferraz, F.V. Meirelles, J.C.C. Balieiro, J.P. Eler, L.G.G. Figuerido, dan G.B. Mourao. 2005. Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. *Genet. Mol. Res.* 4:496-505.
- McPherron, A.C., A.M. Lawler, dan S.J. Lee. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature.* 387:83-90.
- Nei, M. and S. Kumar. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, New York.
- Palmer, B.R., N. Roberts, J.G.H. Hickford, dan R. Bickerstaffe. 1998. Rapid Communication: PCR- RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene. *Am Soc Anim Sci.* 76:1499-1500.
- Raynaud, F., G. Carnac, A. Marcilhac, dan Y. Benyamin. 2004. m-Calpain implication in cell cycle during muscle precursor cell activation. *Exp. Cell. Res.* 298:48-57.
- Sambrook, J., dan D. Russell. 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, United State of America.
- Schuelke, M., K.R. Wagner, L.E. Stolz, C. Hubner, T. Riebel, W. Komen, T. Braun, J.F. Tobin, dan S.J. Lee. 2004. Brief report – Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N. Engl J. Med.* 350: 2682-2688.
- Sutikno, M. Yamin, dan C. Sumantri. 2011. Association of polymorphism Calpastatin gene with body weight of local sheep in Jonggol, Indonesia. *Med. Pet.* 34:1-6.
- Sumantri, C., A. Einstiana, J. F. Salamena, dan I. Inouu. 2007. Keragaan dan hubungan phylogenik antar domba lokal di Indonesia melalui pendekatan analisis morfologi. *JITV.* 12: 42-54.

- Sumantri, C., A. Farajallah, U. Fauzi, dan J.F. Salamena. 2008a. keragaman genetik DNA mikrosatelit dan hubungannya dengan performa bobot badan pada dpmba lokal. *Med Pet.* 31:1-13.
- Sumantri, C., R. Diyono 1, A. Farajallah, dan I. Inonu. 2008b. Polimorfisme gen calpastatin (CAST-Msp1) dan pengaruhnya terhadap bobot badan pada domba local. *JITV.* 13:117-126.
- Sumantri, C., D. Herdiana, A. Farajallah, D. Rahmat, dan A. Anggraeni. 2008c. Keragaman Gen (Pit-1-Hinf 1) dan Pengaruhnya terhadap Bobot Badan Induk dan Produksi Susu pada Domba Lokal di Unit Pendidikan, Penelitian Peternakan Jonggol (UP3J). *JITV.* 14:222-229.
- Sumantri, C., E. Andreas, A. Farajallah, dan Jarmuji. 2008d. Keragaman gen κ -kasein dan hubungannya dengan produksi dan kualitas susu pada domba di Unit Pendidikan dan Penelitian Peternakan (UP3) Jonggol. *JUPI* 13:49–55.
- Sumantri C., Jakaria, M. Yamin, H. Nuraini, and Eryk Andreas. 2011. Identification of myostatin gene c.960delG locus polymorphism in Indonesian local sheep by using PCR-SSCP method. *JITAA.* 36:145-151.
- Tambasco, D.D., C.C.P. Paz, M. Tambasco, Studart, A.P. Pereira, M.M. Alencar, A.R. Freitas, L.L. Coutinho, I.U. Packer, dan L.C.A. Regitano. 2003. Candidates genes for growth traits in beef cattle crosses *Bos Taurus* x *Bos Indicus*. *J. Anim. Breed. Genet.* 120:51-60.
- Zhou, H., J.G.H. Hickford, dan Q. Fang. 2007. Single nucleotide polymorphisms of the ovine calpain 3 (CAPN3) gene. *Mol. Cell Prob.* 21:78-79.