

Analisis Genotipe Sapi Berdasarkan Total Genom

Kesuksesan sikuensing total genom sapi telah memacu pengembangan BovineSNP chip komersial yang dapat digunakan untuk analisis genotipe berdasarkan *single nucleotide polymorphism* (SNP) dengan *high throughput*. Teknologi ini dapat mengidentifikasi *quantitative trait loci* (QTL) dan membentuk set marka berbasis DNA untuk mengevaluasi karakter fenotipe yang diinginkan pada sapi.

Tekad pemerintah untuk mewujudkan swasembada daging sapi pada 2014 perlu didukung oleh berbagai pihak. Berbagai pendekatan untuk memperbaiki karakter yang terkait dengan produktivitas ataupun lainnya, seperti potensi kembar (*twinning*) pada sapi perlu dipertimbangkan.

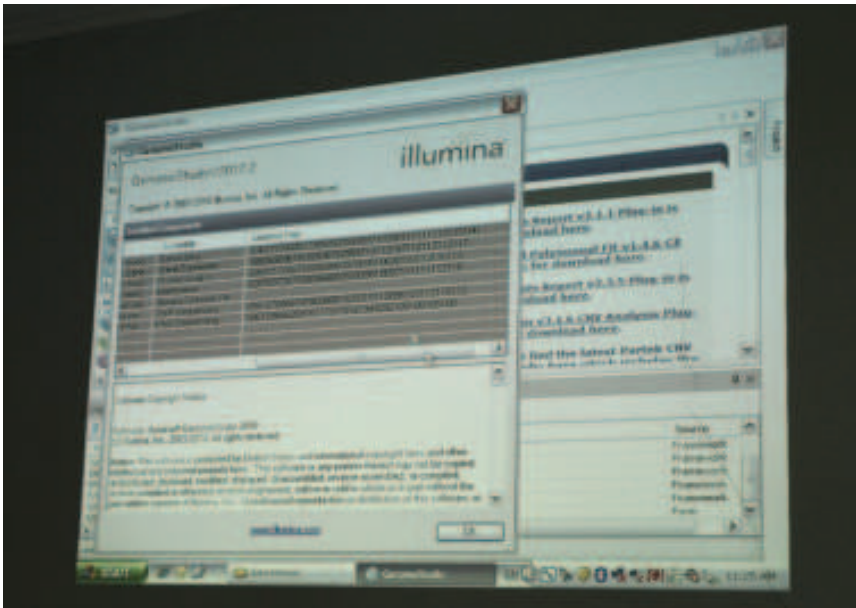
Sapi kembar mulai populer pada tahun 2009-2010 dan berbagai upaya dilakukan untuk mere-

alisasikan potensi ini. Langkah awal yang dilakukan adalah menganalisis genom sapi untuk memperoleh marka yang dapat melacak sifat melahirkan kembar pada sapi.

Sejak pertama kali dikembangkan pada tahun 2005, *array genotyping* total genom menjadi alat penting untuk menemukan varian yang berkontribusi terhadap uji fenotipe. Pendekatan efektif dan efisien untuk pengembangan uji

genotipe (*genotyping*) mencakup puluhan ribu hingga jutaan lokus SNP mendukung aplikasi asosiasi total genom pada sapi.

Saat ini *bead chip* berdasar genom sapi, yaitu BovineSNP50 (*Infinium HD assay ultra*, 50.000 SNP) dan BovineSNP70 (*Infinium HD assay super*, 700.000 SNP), telah tersedia di pasaran sehingga akan mempermudah dalam melakukan *high throughput genotyping*. BovineSNP50 *chip* dibuat berdasarkan sekuen genom sapi Holstein dan Brahman. *Bead chip* ini merupakan panel *genotyping* multi-sampel, menggunakan mesin *iScan* (Illumina), merupakan teknologi *assay* sekaligus *array scanner* dengan hasil kualitas data tinggi, efisien dari segi waktu (*high sample throughput*), multiaplikatif, otomatis, dan *robotic*. Berdasarkan analisis asosiasi, marka SNP yang terkait erat dengan karakter tertentu, seperti *twinning* atau laju



Genome Studio yang merupakan perangkat lunak untuk analisis data dari Infinium dan Golden Gate Assay dari mesin iScan.

pertumbuhan, dapat digunakan sebagai teknologi *marker-assisted selection* (MAS) untuk pemuliaan molekuler.

BB Biogen mendapat kepercayaan memanfaatkan mesin *iScan* (Illumina) yang dapat diaplikasikan untuk DNA dan RNA, terutama uji genotipik berdasarkan total genom, selain analisis *copy number variant* (CNV) dan ekspresi gen. Sesuai ide awal untuk mengembangkan sistem deteksi sapi berpotensi kembar, dipilih 48 sampel yang terdiri atas sapi perah FH koleksi Balai Penelitian Ternak, Bogor, dan sapi potong (sapi PO) koleksi Loka Penelitian Sapi Potong (Lolit Sapi) yang berada di Grati, Pasuruan. Sapi yang digunakan memiliki latar belakang lahir kembar maupun tunggal. Sebagai kontrol digunakan BovineSNP50 *bead chip*. Uji genotipik juga dilakukan pada 48 sampel sapi potong koleksi Lolit Sapi dengan menggunakan alat yang sama.

Analisis berlangsung kurang lebih 3 hari, meliputi amplifikasi total genom sapi, fragmentasi, presipitasi, resuspensi, hibridisasi, pemrosesan *bead chip* untuk reaksi *single-base extension*, dan terakhir *imaging* pada *iScan*. Proses *imaging* berlangsung secara otomatis pada mesin *iScan*. Total 48 sampel

membutuhkan waktu sekitar 1 jam untuk Infinium HD *assay ultra* dan 3 jam untuk Infinium HD *assay super*. Semua proses dikendalikan dan dipantau melalui layar monitor *Genome Studio* dari Illumina.

Kualitas teknik analisis Infinium HD *assay ultra* dan *super* dapat diketahui melalui kontrol *independent (dashboard)*. Analisis yang dilakukan di BB Biogen menghasilkan kualitas yang sesuai dengan yang direkomendasikan, dengan nilai *call rate* lebih dari 90%. Selain itu, parameter *GenTrain Score* yang mengukur kevalidan deteksi SNP berdasarkan distribusi kelas genotipe juga mempunyai *GenTrain Score* tinggi, artinya tiap sampel dapat terklasternya menjadi tiga, yaitu homozigot AA, homozigot BB, dan heterozigot AB dan sebaliknya, kecuali ada unsur pengaruh genetik dari materi biologis.

Berdasarkan hasil analisis awal telah teridentifikasi sekitar 50.000 dan 700.000 lokus SNP dari 48 individu sapi perah dan sapi potong. Hampir semua SNP yang teridentifikasi memiliki *GeneTrain Score* tinggi untuk kedua analisis Infinium HD. Selain itu juga telah diketahui proporsi SNP dominan dan SNP minor pada tiap lokus dari total individu sapi. BovineSNP50 dapat membedakan sapi potong dan sapi

perah, namun belum dapat membedakan sapi kembar dan tidak kembar. Terbatasnya materi genetik sapi kembar (sapi yang pernah melahirkan kembar minimal dua kali) merupakan salah satu faktor utama yang menyebabkan BovineSNP50 *chip* tidak dapat membedakan antara sapi berpotensi kembar dan tidak kembar, selain karena BovineSNP50 *chip* dibuat dari genom sapi perah.

Analisis karakter laju ovulasi dan pertumbuhan masih perlu dilakukan untuk mengetahui asosiasinya dengan hasil SNP sehingga kandidat set SNP untuk marka karakter terkait kembar dan pertumbuhan dapat teridentifikasi. Ke depan, analisis genom sapi mestinya diarahkan pada deteksi ataupun identifikasi sapi dengan karakter terkait produktivitas atau ketahanan penyakit. Untuk memperoleh hasil yang optimal, jumlah sampel yang dianalisis minimal 100 genotipe sapi bahkan kalau memungkinkan hingga ribuan sapi.

Pemikiran pembuatan set SNP berdasarkan sekuen total genom sapi lokal Indonesia yang lebih aplikatif perlu direalisasikan, karena data asosiasi genotipe-fenotipe sangat penting untuk berbagai aplikasi *downstream*. Meski untuk analisis total genom dengan *array scanner* sangat besar dan hasil aplikatif nyata tidak dapat diperoleh dalam waktu singkat, pendekatan ini menghasilkan asosiasi genotipe-fenotipe yang lebih tepat. Dengan hasil ini, ke depan identifikasi kandidat gen atau marka terkait karakter target semakin mudah dilakukan (*Puji Lestari dan I Made Tasma*).

Informasi lebih lanjut hubungi:

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian
Jalan Tentara Pelajar No. 3A
Bogor 16111
Telepon : (0251) 8337975
8339793
Faksimile: (0251) 8338820
E-mail :
bb_biogen@litbang.deptan.go.id