

Analisis Perbandingan Sekuens Gen Calpain 1 (CAPN1) pada Sapi, Kerbau, dan Kambing Berdasarkan Database Genbank

Dody Houston Billhaq^{1*}, Galy Hardyta², Labib Abdillah³

^{1*,2,3}Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Tidar

*Email: dody.houston.b@untidar.ac.id

Abstract

Perbaikan mutu genetik ternak merupakan tujuan utama program pemuliaan ternak. Bioteknologi membawa metode baru untuk meningkatkan program pemuliaan hewan secara kualitatif dan kuantitatif. Identifikasi sekuens gen polimorfisme banyak digunakan untuk menganalisis sekuens gen untuk memahami variasi genetik. Gen Calpain 1 (CAPN1) merupakan gen yang berperan dalam proses perbaikan kualitas marbling dan keempukan daging pada ternak sapi, kerbau, dan kambing. CAPN1 bertanggung jawab dalam pengkodean μ -calpain yang mengatur proteolisis postmortem. Studi ini mengumpulkan database gen termasuk calpain 1 [Bos taurus (sapi)] NC_037356.1, calpain 1 [Bos indicus (sapi zebu)] NC_032678.1, calpain 1 [Bos indicus x Bos taurus (sapi hibrida)] NC_040104.1, calpain 1 [Bubalus bubalis (kerbau)] NC_059161.1 calpain 1 [Capra hircus (kambing)] NC_030836.1 melalui NCBI. Gen yang terkumpul tersebut dianalisis menggunakan program Clustal W alignment, MEGA 11, dan BLAST. Hasil menunjukkan bahwa gen CAPN1 spesies sapi, kerbau, dan kambing pada region 5' UTR, Intron, Exon, dan 3' UTR masing-masing menunjukkan 9 SNPs, 1691 SNPs, 153 SNPs, dan 197 SNPs secara berturut-turut. Jumlah SNP yang teridentifikasi pada perbandingan gen CAPN1 spesies sapi, kerbau, dan kambing adalah 2050 SNPs. Kajian ini dapat digunakan untuk laporan awal guna mengembangkan penelitian lebih lanjut terkait gen CAPN1 pada ternak ruminansia.

Keywords: Calpain, CAPN1, Sapi, Kerbau, Kambing

1. Pendahuluan

Peningkatan mutu genetik merupakan tujuan utama dalam proses pemuliaan hewan ternak (Anisa, 2015). Teknologi biologi molekuler seperti identifikasi DNA berperan penting pada proses seleksi secara lebih efektif dan efisien (Anwar et al., 2015). Sifat kualitatif dan kuantitatif pada hewan ternak dapat diidentifikasi berdasarkan informasi genetik melalui analisis gen – gen atau polimorfisme sekuens DNA (Hartatik, 2019). Salah satu gen yang berperan dalam peningkatan kualitas daging hewan ternak adalah gen Calpain (McDonagh et al., 2001).

Analisis polimorfisme pada gen Calpain telah dilakukan dalam berbagai penelitian terutama dalam penentuan kualitas daging antara lain *marbling* dan *tendernees* (Chung & Davis, 2011). Gen Calpain mengkode pembentukan μ -calpain yang berperan dalam proses postmortem proteolysis (Geesink et al., 2006). Calpain merupakan protease sistein yang ditemukan dalam jumlah besar pada sitoplasma sel. Ada dua gen calpain yang sudah ditemukan antara lain CAPN1 (macro-calpain) dan CAPN2 (mili-calpain) (Cheong et al., 2008). CAPN1 memiliki fungsi sebagai enzim yang mendegradasi protein myofibril dalam proses tenderisasi daging selama kondisi *postmortem* (Zhang et al., 2007). Gen CAPN1 spesies sapi terletak pada kromosom 29 yang mana terkait dengan karakteristik kualitas daging (Curi et al., 2009).

Informasi terkait gen CAPN1 dapat diperoleh melalui database bank gen di NCBI yang kemudian dapat dilakukan analisis lanjutan menggunakan program -

program bioinformatika (Rezeki et al., 2019). Analisis gen CAPN1 dapat menggunakan program bioinformatika seperti *DNA alignment, gene finding, genomic analysis, pattern identification, dan motif finding* (Chai et al., 2014). Program bioinformatika dalam DNA alignment atau pensejajaran DNA baik membandingkan dua sekuens atau lebih dapat menggunakan Clustal W atau Muscle (Edgar, 2004). Selain itu, terdapat program MEGA yang dapat memproses berbagai macam analisis gen (Kumar et al., 1994). Perbandingan gen CAPN1 pada beberapa spesies bertujuan untuk mengidentifikasi variasi genetik dari gen CAPN1 pada spesies sapi, kerbau, dan kambing. Penelitian ini merupakan *preliminary study* yang kemudian akan digunakan untuk sebagai dasar dalam penelitian lanjutan gen CAPN1 pada hewan ternak di Indonesia.

Tabel 1. SNPs pada 5' Untranslated Region dan 3' Untranslated Region CAPN1 pada spesies sapi, kerbau, dan kambing.

No	Region	Position	Basepair Length	SNPs
1	5' UTR	1 136	136	9
2	3' UTR	26803 27549	747	197

- e-mail : dody.houston.b@untidar.ac.id

Tabel 2. SNPs pada Intron Region CAPN1 pada spesies sapi, kerbau, dan kambing.

No	Region	Position	Basepair Length	SNPs
1	Intron 1	137 1427	1291	45
2	Intron 2	1696 1849	154	6

3	Intron 3	1920	2177	258	17
4	Intron 4	2297	3890	1594	122
5	Intron 5	4025	4110	86	2
6	Intron 6	4280	5108	829	59
7	Intron 7	5193	5539	347	17
8	Intron 8	5626	5987	362	29
9	Intron 9	6063	6191	129	9
10	Intron 10	6353	18381	12029	827
11	Intron 11	18563	19453	891	53
12	Intron 12	19466	22256	2791	184
13	Intron 13	22469	22568	100	7
14	Intron 14	22609	23176	568	33
15	Intron 15	23243	24338	1096	88
16	Intron 16	24404	24819	416	34
17	Intron 17	24889	25130	242	15
18	Intron 18	25210	26021	812	77
19	Intron 19	26139	26356	218	29
20	Intron 20	26416	26802	387	38
Total				1691	

2. Materi dan Metode

2.1. Materi

Sekuens gen Calpain 1 (CAPN1) Bos Taurus (Breed Hereford), Bos Indicus (Zebu Cattle), Bos Indicus x Bos Taurus (Hybrid Cattle), Bubalus bubalis (Water Buffalo), dan Capra Hircus (Goat) diperoleh dari *Database Genebank* NCBI.

2.2. Metode

Metode analisis dilakukan dengan mengidentifikasi *single nucleotide polymorphism* (SNP) dengan membandingkan sekuens DNA. Semua sampel sekuens dilakukan penyejajaran menggunakan Clustal W. Kemudian sekuens DNA dibandingkan dan dianalisis polimorfisme antar sekuens gen CAPN1. Jarak genetik dan pohon filogenetik antar spesies sapi, kerbau, dan kambing dianalisis menggunakan software MEGA 11. Selain itu, semua sampel sekuens juga dilakukan proses perbandingan dengan program BLAST Nucleotide NCBI.

3. Hasil dan Pembahasan

Sekuens sampel DNA sapi dengan nomor akses *genebank* yaitu calpain 1 [Bos taurus (cattle)] NC_037356.1, calpain 1 [Bos indicus (zebu cattle)] NC_032678.1, calpain 1 [Bos indicus x Bos taurus (hybrid cattle)] NC_040104.1, kerbau dengan nomor akses *genebank* yaitu calpain 1 [Bubalus bubalis (water buffalo)] NC_059161.1, dan kambing dengan nomor akses *genebank* yaitu calpain 1 [Capra hircus (goat)] NC_030836.1 dikoleksi dari database bank genetik NCBI. Semua sekuens berawal dari 5' *untranslated region* (UTR) dan berakhir pada 3' *untranslated region* (UTR) (Schwerk & Savan, 2015; Van Der Velden & Thomas, 1999).



Gambar 1. Pohon filogenetik gen CAPN1 spesies sapi, kerbau, dan kambing

Hasil analisis rata – rata komposisi nukleotida gen CAPN1 pada spesies sapi, kerbau, dan kambing yaitu basa Timin/Urasil (T/U) 29.34%, basa Sitosin (C) 26.15%, basa Adenin (A) 20.72%, dan basa Guanin (G) 23.80%. Analisis perbandingan tingkat kemiripan sekuens gen CAPN1 antara tiga spesies menggunakan program BLAST menghasilkan 99.05% - 99.25% antara spesies sapi (Bos taurus) dengan (Bos indicus) dan (Bos taurus) dengan (Bos indicus x Bos taurus), 95.71% antara spesies sapi (Bos Taurus) dengan kerbau (Bubalus bubalis), 92.19% antara spesies sapi (Bos Taurus) dengan kambing (Capra hircus). Perbandingan sekuens gen dalam menentukan tingkat kemiripan menggunakan program BLAST telah dilakukan pada spesies sapi dengan spesies sapi, spesies sapi dengan spesies kerbau, spesies sapi dengan spesies kambing yaitu 99%, 97%, dan 95% (Latifah et al., 2019). Analisa kemiripan sekuens gen database menggunakan BLAST program berdasarkan algoritma komputasi yang menghasilkan analisis data yang akurat (Couto et al., 2022).

Software MEGA 11 digunakan untuk melakukan penyejajaran “*alignment*” semua sampel sekuens gen CAPN1. Hasil penyejajaran sekuens gen CAPN1 antar spesies mengindikasikan adanya variasi genetik yang kemudian dilakukan observasi polimorfisme pada sekuens gen CAPN1 dengan menganalisis *single nucleotide polymorphism* (SNP). Hasil analisa SNP gen CAPN antar spesies sapi, kerbau, dan kambing pada region 5' UTR, Intron, Exon, dan 3' UTR secara berturut-turut sesuai dengan tabel 1, tabel 2, dan tabel 3 yaitu 9 SNPs, 1691 SNPs, 153 SNPs, dan 197 SNPs. Untranslated region gen CAPN1 pada 5' UTR dan 3' UTR ditemukan bersifat polymorphic pada spesies sapi (Dairoh et al., 2021; Sihite et al., 2019). Penelitian gen CAPN pada kambing menunjukkan bahwa terdapat tiga puluh empat variasi nucleotide yang ditemukan berbeda dibandingkan dengan spesies sapi (Singh et al., 2011). Analisis produk translasi gen CAPN1 mengindikasikan adanya perbedaan dalam jumlah produk asam amino (AA) yang dihasilkan yaitu 8766 AA pada spesies sapi (Bos taurus), 8429 AA pada spesies sapi (Bos indicus), 8743 AA pada spesies sapi (Bos indicus x Bos taurus), 8759 AA pada spesies kerbau (Bubalus bubalis), dan 8759 AA pada spesies kambing (Capra hircus). *Conserved* dan *variable site* pada susunan

asam amino antar spesies yaitu 7582 dan 1265 sites dengan ratio 78% dan 13 %. Polimorfisme gen CAPN1 pada spesies sapi menunjukkan adanya perubahan *codon* yang berkaitan dengan hasil transkripsi asam amino antara lain *asparagine*, *valine*, and *tyrosine* (Wadhayo Ghoto et al., 2021).

Analisa pohon filogenetik dikonstruksi pada gambar 1 menggunakan metode statistik Neighbor-joining dengan 1.000 replikasi Bootstrap berdasarkan model Maximum Composite Likelihood. Spesies sapi (*Bos taurus*) dan sapi (*Bos indicus*) memiliki kedekatan filogenetik dengan jarak genetik yaitu 0,00281 sesuai dengan tabel 4. Sapi Hybrid (*Bos indicus* x *Bos taurus*) terklasifikasi dalam satu kluster sapi (*Bos indicus*) dan spesies sapi (*Bos taurus*) dengan jarak genetik berturut – turut yaitu 0.00342 dan 0.00627 sesuai dengan tabel 4. Spesies kerbau (*Bubalus bubalis*) menunjukkan kedekatan filonegenetik dengan spesies sapi (*Bos taurus*, *Bos indicus*, dan *Bos indicus* x *Bos taurus*) dengan jarak genetik secara berturut - turut yaitu 0.03510, 0.03282, 0.03473 sesuai dengan tabel 4. Penelitian polimorfisme gen CAPN1 yang mana berperan dalam proses transkripsi sebagian besar μ -calpain subunit pada spesies sapi Angus, Brahman, dan Brangus menunjukkan hasil filogenetik yang berasal dari sapi *Bos Indicus* (Soria et al., 2010). Sedangkan, spesies kambing (*Capra hircus*) berada pada kluster yang berbeda dengan spesies sapi (*Bos taurus*, *Bos indicus*, dan *Bos indicus* x *Bos taurus*) dan spesies kerbau (*Bubalus bubalis*) dengan jarak genetik 0.05925, 0.05772, 0.05946, dan 0.05846 sesuai dengan tabel 4. Analisis filogenetik dan jarak genetik gen CAPN1 exon 7 dan exon 9 pada spesies kambing (*Capra hircus*) menunjukkan bahwa semakin dekat jarak sekuen pembandingan maka semakin tinggi tingkat kekerabatannya (Rezeki et al., 2019).

Tabel 3. SNPs pada Exon Region CAPN1 pada spesies sapi, kerbau, dan kambing.

No	Region	Position	Basepair Length	SNPs
1	Exon 1	1428	1695	268
2	Exon 2	1850	1919	70
3	Exon 3	2178	2296	119
4	Exon 4	3891	4024	134
5	Exon 5	4111	4279	169
6	Exon 6	5109	5192	84
7	Exon 7	5540	5625	86
8	Exon 8	5988	6062	75
9	Exon 9	6192	6352	161
10	Exon 10	18382	18562	181
11	Exon 11	19454	19465	12
12	Exon 12	22257	22468	212
13	Exon 13	22569	22608	40
14	Exon 14	23177	23242	66
15	Exon 15	24339	24403	65
16	Exon 16	24820	24888	69
17	Exon 17	25131	25209	79
18	Exon 18	26022	26138	117
19	Exon 19	26357	26415	59
Total				153

Tabel 4. Jarak Genetik Gen CAPN 1 Speies Sapi, Kerbau, dan Kambing.

No	Spesies	1	2	3	4
1	<i>Bos taurus</i> (NC_037356.1:43399871-43427419)				
2	<i>Bos indicus</i> (NC_032678.1:45326794-45353696)	0.00281			
3	<i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> (NC_040104.1:c7764671-7737178)	0.00627	0.00342		
4	<i>Bubalus bubalis</i> (NC_059161.1:124895527-124923066)	0.03510	0.03282	0.03473	
5	<i>Capra hircus</i> (NC_030836.1:43821210-43848956)	0.05925	0.05772	0.05946	0.05846

4. Kesimpulan

Analisis gen CAPN1 antara spesies sapi, kerbau, dan kambing menunjukkan variasi genetik antar spesies. Polimorfisme antar sekuen diidentifikasi dengan hasil analisis SNP pada 5' UTR, Intron, Exon, dan 3'UTR. Total SNP yang teridentifikasi yaitu 2050 SNPs. Hasil dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dalam melakukan penelitian lanjutan terkait gen CAPN1 pada hewan ruminansia.

Daftar Pustaka

- Anisa, D. S. (2015). Analisis protein darah kerbau lokal (*Bubalus bubalis*) di wilayah Malang dan Bangkalan sebagai studi awal peningkatan mutu genetik / Dian Sofi Anisa. *Doctoral Dissertation, Universitas Negeri Malang*.
- Anwar, S., Partogi Agung, P., Sulisty Wulandari, A., Sudiro, A., Said, S., & Tappa, B. (2015). Deteksi polimorfisme gen growth hormone (GH-MspI) pada sapi Sumba Ongole (SO) Detection of growth hormone (GH-MspI) gene polymorphism in Sumba Ongole (SO) cattle. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*, 1(3).
- Chai, H. H., Lim, D., Lee, S. H., Chai, H. Y., & Jung, E. (2014). Homology Modeling Study of Bovine μ -Calpain Inhibitor-Binding Domains. *International Journal of Molecular Sciences* 2014, 15(5), 7897–7938.
- Cheong, H. S., Yoon, D. H., Park, B. L., Kim, L. H., Bae, J. S., Namgoong, S., Won Lee, H., Han, C. S., Kim, J. O., Cheong, I. C., & Shin, H. D. (2008). A single nucleotide polymorphism in CAPN1 associated with marbling score in Korean cattle. *BMC Genetics*, 9(1), 1–7.
- Chung, H. Y., & Davis, M. E. (2011). Effects of calpain genotypes on meat tenderness and carcass traits of Angus bulls. *Molecular Biology Reports*, 38(7), 4575–4581.
- Couto, C. E., Do Livramento, K. G., Paiva, L. V., Peconick, A. P., Garbossa, C. A. P., Cardoso, T. B., Vasconcellos, R. C. C., & Faria, P. B. (2022). Identification of SNPs and changes in protein coding of genes associated with beef quality in Nellore cattle. *Genetic and Molecular Research*, 21(2), 1–17.
- Curi, R. A., Chardulo, L. A. L., Mason, M. C., Arrigoni, M. D. B., Silveira, A. C., & De Oliveira, H. N. (2009). Effect of single nucleotide polymorphisms of CAPN1 and CAST genes on meat traits in Nellore beef cattle (*Bos indicus*) and in their crosses with *Bos taurus*. *Animal Genetics*, 40(4), 456–462.
- Dairoh, Jakaria, Ulum, M. F., & Sumantri, C. (2021). A single nucleotide polymorphism of CAPN1 gene region 3'UTR in Bali cattle. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 788(1), 012017.

- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: Multiple sequence alignment with improved accuracy and speed. *Proceedings - 2004 IEEE Computational Systems Bioinformatics Conference, CSB 2004*, 728–729.
- Geesink, G. H., Kuchay, S., Chishti, A. H., & Koohmaraie, M. (2006). μ -Calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins. *Journal of Animal Science*, 84(10), 2834–2840.
- Hartatik, T. (2019). Pendekatan Praktis: Deteksi Polimorfisme DNA Sapi Aceh. *UGM Press*.
- Kumar, S., Tamura, K., & Nei, M. (1994). MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software for microcomputers. *Bioinformatics*, 10(2), 189–191.
- Latifah, Maharani, D., Kustantinah, & Hartatik, T. (2019). Comparison Study of Melanocortin 4 Receptor in Cattle, Buffalo, Sheep and Goat Based on Genbank Data. *Proceedings - 2018 1st International Conference on Bioinformatics, Biotechnology, and Biomedical Engineering, BioMIC 2018*.
- McDonagh, M. B., Herd, R. M., Richardson, E. C., Oddy, V. H., Archer, J. A., & Arthur, P. F. (2001). Meat quality and the calpain system of feedlot steers following a single generation of divergent selection for residual feed intake. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(7), 1013–1021.
- Rezeki, S., Helmi, T. Z., Herrialfian, H., Hasan, M., & Jalaluddin, M. (2019). Identifikasi dan Karakterisasi Gen Calpain (CAPN1) Pada Kambing Kacang (Identification and Characterization of the Calpain Gene (CAPN1) in Kacang Goat. *JURNAL ILMIAH MAHASISWA VETERINER*, 3(4), 197–205.
- Schwerk, J., & Savan, R. (2015). Translating the Untranslated Region. *The Journal of Immunology*, 195(7), 2963–2971.
- Sihite, D. E. W. T., Priyanto, R., & Jakaria. (2019). Polymorphism and Association of 5'UTR CAPN1 Gene with Growth Traits in Bali Cattle by PCR-RFLP. *Tropical Animal Science Journal*, 42(3), 175–179.
- Singh, L. V., Sharma, R., Pandey, A. K., Maitra, A., Dixit, S. P., Tripathi, V., & Mishra, B. P. (2011). Identification of four novel single nucleotide polymorphisms of CAPN1 gene in Indian goat. *Indian Journal of Animal Science*, 81(12), 1239–1243.
- Soria, L., Corva, P., Huguot, M., Miño, S., & Miquel, M. (2010). Bovine μ -calpain (CAPN1) gene polymorphisms in Brangus and Brahman bulls. *BAG. Journal of Basic and Applied Genetics*, 21(1), 61–69.
- Van Der Velden, A. W., & Thomas, A. A. M. (1999). The role of the 5' untranslated region of an mRNA in translation regulation during development. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 31(1), 87–106.
- Wadhay Ghoto, A., Ahmed Ujan, J., Ali Solangi, A., Hussain Suhag, G., Chandio, M., Ali Ujan, S., & Professor, A. (2021). Genetic Analysis of Calpain-1 Gene in three different cattle breeds of District Ghotki, Sindh, Pakistan. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 25, 7293–7300.
- Zhang, Z. rong, Zhu, Q., & Liu, Y. ping. (2007). Correlation Analysis on Single Nucleotide Polymorphism of CAPN1 Gene and Meat Quality and Carcass Traits in Chickens. *Agricultural Sciences in China*, 6(6), 749–754.