

**Analisis Hubungan Keragaman Gen SCD1 (*Stearoyl CoA Desaturase*) dengan Komposisi Asam lemak Daging Sapi Lokal di Ciamis**  
(*Analysis Of Assosiation SCD1 (Stearoyl CoA Desaturase) Gene Polymorphism With Meat Fatty Acid Composition Of Local Cattle At Ciamis*)

**N. Hilmia<sup>1</sup>, R. R. Noor<sup>2</sup>, C. Sumantri<sup>2</sup>, R. Priyanto<sup>2</sup>, Gurnadi E.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor Sumedang Jawa Barat, Indonesia

<sup>2</sup>Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor

Jl. Agatis Kampus IPB, Darmaga, Bogor 16680 Jawa Barat, Indonesia

Email : nena.hilmia@unpad.ac.id

**Abstrak**

SCD1 merupakan kandidat gen yang berperan dalam mengkonversi asam lemak jenuh menjadi tidak jenuh, dan rasio keduanya menentukan kualitas daging. *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) V293A pada gen SCD1 yang mengubah asam amino Valina menjadi Alanin berpengaruh terhadap komposisi asam lemak daging. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keragaman gen SCD1 berdasarkan SNP V293A, dan hubungannya dengan kandungan asam lemak pada sapi lokal di Ciamis. Penelitian ini menggunakan 14 sampel daging dan DNA dengan genotipe yang berbeda. Metode PCR-RFLP dengan enzim *Aci I* digunakan untuk mendeteksi SNP V293A pada exon 5. Hubungan keragaman gen SCD1 dengan komposisi asam lemak daging dianalisis dengan uji T. Hasil penelitian ini menunjukkan gen SCD1 pada sapi lokal Ciamis polimorfik, terdapat dua alel, yaitu alel T dan C dengan tiga genotipe, yaitu TT, CT dan CC. SNP V293A pada gen SCD1 tidak berpengaruh terhadap komposisi asam lemak daging sapi lokal di Ciamis Jawa Barat.

**Kata kunci :** *asam lemak daging, PCR-RFLP, Sapi lokal Ciamis, SCD1.*

**Abstract**

*SCD1 is a candidate gene that involve in converting the saturated fatty acid to unsaturated fatty acid, and the ratio both of them determined meat quality. Single Nucleotide Polymorphism (SNP) at SCD1 gene that changed amino acid valin to alanin was effected meat fatty acid composition. The objective of this research was to identify genetic polymorphisms at the exon 5 of SCD1 gene and their assosiation with meat fatty acid composition in Ciamis local cattle. The identification of SCD1 gene polymorphisms and association of SCD1 polymorphisms with fatty acid composition was done by using 14 meats and DNA samples with different genotypes. PCR\_RFLP method with *Aci I* enzim was carried out to identify SNP at exon 5. The association of SCD1 genotype with fatty acid was analyzed by T Test. The SCD1 gene in local cattle is polymorphic, consist two allele, i.e. T and C. There were three genotypes i.e. TT CT and CC. There was no significant assosiation between SNP on SCD1 gene with meat fatty acid composition in local cattle at Ciamis West Java.*

**Keywords :** *Ciamis local cattle, meat fatty acid, PCR\_RFLP, SCD1.*

**Pendahuluan**

Peningkatan kesejahteraan dan kesadaran gizi masyarakat mendorong konsumen untuk lebih memperhatikan apakah pangan yang dikonsumsi dalam kategori ASUH (Aman, Sehat, Utuh dan Halal). Demikian halnya pada konsumsi daging, selain aman, utuh dan halal, daging yang sehat

umumnya terkait dengan kandungan asam lemak jenuh (*Saturated fatty Acid/SFA*) dan tidak jenuhnya (*Unsaturated Fatty Acid/UFA*), karena tingginya kandungan SFA merupakan salah satu pemicu timbulnya beberapa penyakit

Salah satu kandidat gen yang mempengaruhi komposisi asam lemak pada

susu, jaringan lemak dan daging adalah gen *Stearoyl-CoA desaturase/ SCD1* (Milannesi *et al.* 2008; Jiang *et al.* 2008 Orru *et al.* 2011). Ekspresi gen SCD1 mempengaruhi komposisi asam lemak membran pospolipid *triglyceride* dan *cholesteryl ester* dan metabolisme lemak hal ini menunjukkan, regulasi dari SCD1 penting dalam proses fisiologis (Scalgia *et al.* 2010). Beberapa hasil penelitian menunjukkan adanya hubungan keragaman gen SCD1 dengan rasio asam lemak jenuh (SFA) dengan asam lemak tidak jenuh (PUFA dan MUFA) pada jaringan lemak dan daging sapi (Taniguchi *et al.* 2004; Ohsaki *et al.* 2009; Barton *et al.* 2010; Orru *et al.* 2011).

### **Materi dan Metode Penelitian Waktu dan Lokasi Penelitian**

Pengambilan sampel daging dilakukan di TPH Kecamatan Rancah Kabupaten Ciamis. Isolasi dan multiplikasi DNA serta identifikasi SNP V293A pada gen SCD1 (*Stearoyl CoA Desaturase*) dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler Fakultas Peternakan IPB.

### **Materi Penelitian**

Sampel daging yang diperoleh sebanyak 14 sampel daging dari sapi lokal dara umur 1,5 – 2,5 tahun, yang diberi pakan rumput lapangan, dengan genotip yang berbeda yaitu 6 ekor TT, 4 CT dan 4 CC.

### **Pengambilan Sampel Daging**

Pengambilan sampel daging dilakukan pada daerah *striploin* yaitu otot *longissimus dorsi* (udamaru) diantara rusuk ke- 12 dan 13. Daging disimpan di suhu ruang selama 3 – 4 jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam refrigerator selama 24 jam kemudian dibekukan. Analisis asam lemak menggunakan bagian daging udamaru sebanyak 50 gr.

### **Analisis PCR-RFLP**

Amplifikasi DNA bertujuan untuk memperbanyak gen target yang akan dianalisis lebih lanjut dengan PCR-RFLP (*Restricted Fragment Length Polimorphism*). Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi DNA target sepanjang 343 bp pada exon 5 adalah F : 5'TGCCCATATGTATGGATACCG3' dan R:3'CCCAAAGGGGTTTCATCATA 5'. Setiap pereaksi PCR dibuat volume 15 µl

dengan komposisi, 50 ng DNA *template*, *thermal buffer* 10x, 25mM MgCl<sub>2</sub>, 150 µM dNTP, 0,25 µM primer F/R dan 0,5 U*Taq DNA polymerase*. Mesin PCR yang digunakan *Gene Amp System 9700 Applied Biosystem* dan *Mastercycler Personal 22331*, Eppendorf. Amplifikasi dimulai dengan denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit dilakukan satu kali, dilanjutkan dengan 35 kali denaturasi pada suhu 95° selama 30 detik, *annealing* pada suhu 56°C selama 45 detik dan ekstensi pada suhu 72°C selama 60 detik. Selanjutnya dilakukan ekstension lagi pada suhu 72°C selama 5 menit. Hasil Amplifikasi dievaluasi menggunakan elektroforesis agarose 1,5% dengan buffer 0,5x TBE yang mengandung 200 ng/ml *ethidium bromide*. Selanjutnya divisualisasi dengan UV transluminator

Keragaman gen SCD1 dianalisis dengan PCR-RFLP, menggunakan enzim pemotong *AciI* (*SsiI*) dengan situs pemotongan pada *GCGG/CGCC*. Komposisi pereaksinya adalah 0.7 µl DW (*destilate water*), 0.8 µl buffer O dan 0.5 µl enzim *AciI* Selanjutnya diinkubasi selama 16 jam pada suhu 37°C. Hasil pemotongan dievaluasi dengan elektroforesis Agarose 2%. Penentuan genotipe dilakukan dengan melihat pita pada hasil elektroforesis, genotipe homozigot (TT dan CC) ditunjukkan dengan satu pita dengan panjang yang berbeda (343 bp atau 264 bp), sedangkan heterozigot (CT) dengandua pita, masing-masing panjangnya 343 bp dan 264 bp.

### **Komposisi Asam Lemak**

Analisis komposisi asam lemak dari lemak *intramuscular* peubahnya adalah asam lemak jenuh (*Saturated Fatty Acid*) dan asam lemak tidak jenuh (MUFA dan PUFA). Metode analisis asam lemak yang digunakan adalah metoda Gas Kromatografi (AOAC, 1995).

### **Analisis Hubungan Keragaman Gen SCD1 Komposisi Asam Lemak**

Hubungan keragaman gen SCD1 berdasarkan SNP V293A pada exon 5 dengan komposisi asam lemak daging dianalisis menggunakan Uji T. Model Matematikanya sebagai berikut :

$$t = \frac{X_1 - X_2}{\sigma^2 \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \sigma^2 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - X_1)^2 + \sum_{i=1}^n (X_i - X_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

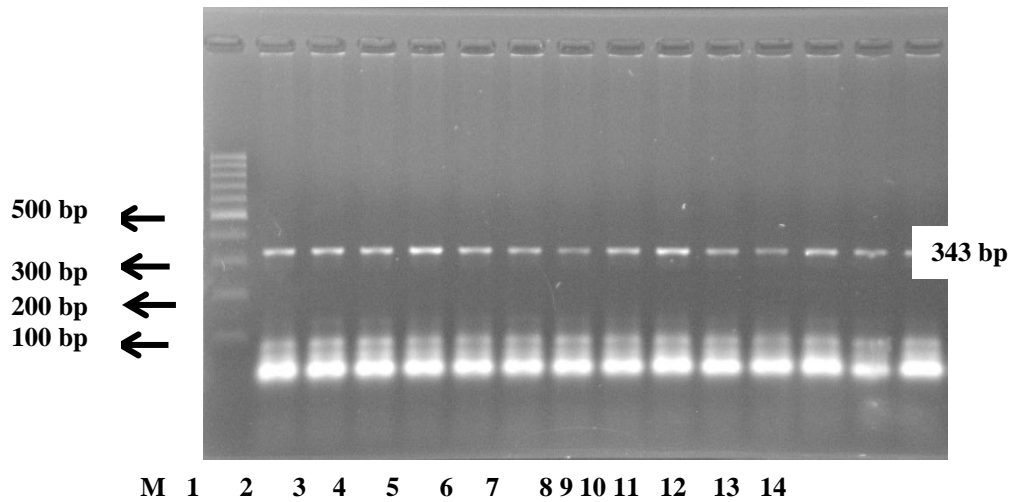
Keterangan :

$X_1$  dan  $X_2$  = rata-rata asam lemak dari genotipe 1 dan genotipe 2

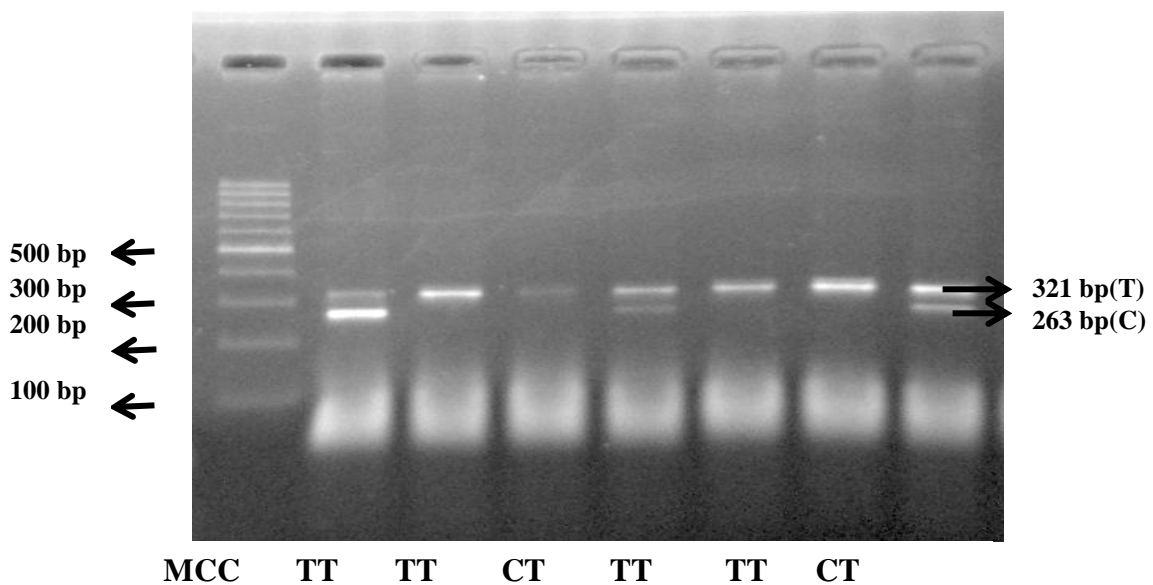
$n_1$  dan  $n_2$  = jumlah individu genotipe 1 dan 2

$\sigma^2$  = ragam gabungan

### Hasil dan Pembahasan



Gambar 1. Hasil Amplifikasi gen SCD1 dengan panjang 343 bp, M = Marker 100bp, 1-14= individu sampel



Gambar 2. Pola pita dan genotipe hasil PCR- RFLP gen SCD1 dengan panjang 321 bp dan 263 bp

### Keragaman Gen SCD1

DNA target gen SCD1 pada posisi sebagian exon 5 dan intron 6 berhasil diamplifikasi dengan primer forward dan reverse yang telah didesain untuk analisis lanjut PCR-RFLP. Produk PCR yang diperoleh diprediksi mempunyai panjang basa 343 bp (Gambar 3).

Analisis PCR-RFLP menggunakan enzim AciI dengan situs pemotongan pada GCGG/CGCC, memotong produk PCR pada dua titik, yaitu 22 bp dan 80 bp dan pasangan hasil potongannya adalah 321 bp dan 263 bp. SNP (*single nucleotide polymorphism*) target pada posisi pemotongan 263 bp tepatnya pada pengkodean asam amino V293A atau posisi 10329 T>C (NCBI no akses AY241932.1). Hasil pemotongan pada posisi 20 bp untuk selanjutnya diabaikan karena bukan daerah target, namun pasangan potongannya 321 bp dianggap sebagai sekuens yang tidak mutasi

Hasil Analisis PCR-RFLP menunjukkan polimorfisme pada gen SCD1 (polimorfik), dengan ditemukannya 2 pola pita pada elektroforesis agarose hasil PCR-RFLP dengan panjang basa yang berbeda, yaitu 321 bp (alel T) dan 263 bp (alel C). SNP pada daerah akhir exon 5 tersebut, mengindikasikan adanya mutasi pada situs tersebut, yang merupakan *non synonymous mutation*, yaitu kejadian mutasi yang merubah pengkodean asam amino oleh codon karena adanya perubahan satu basa pada daerah tersebut. Dua alel yang diperoleh menghasilkan tiga genotipe yang berbeda, yaitu TT, CT dan CC (Gambar 2).

### Hubungan Genotipe SCD1 dengan Komposisi Asam Lemak

Hasil analisis asam lemak berdasarkan genotipe gen SCD1 pada sapi lokal Ciamis disajikan pada Tabel 2. Hasil analisis hubungan genotipe gen SCD1 dengan komposisi asam lemak menunjukkan genotipe yang berbeda tidak menyebabkan perbedaan komposisi asam lemak daging sapi lokal Ciamis ( $P > 0.05$ ). Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Taniguchi *et al.* (2004), Oka *et al.* (2007) dan Ohsaki *et al.* (2009) pada sapi kebiri Japanese Black, yang menyatakan perubahan basa T menjadi C pada posisi basa 10329 atau T878C yang

mengubah pengkodean asam amino dari valina (V) menjadi alanina (A) menyebabkan perbedaan komposisi asam lemak. Selanjutnya Taniguchi *et al.* (2004) menggunakan 1003 karkas sapi Japanese Black yang diklasifikasikan ke dalam tiga genotip VV, VA dan AA menunjukkan terdapat perbedaan proporsi asam lemak tidak jenuh dan titik leleh pada tiga genotipe diatas. Persentase MUFA padagen SCD1 tipe AA adalah tinggi, VA sedang dan VV rendah. Terdapat perbedaan yang signifikan, titik leleh lemak intramuskuler pada tiga genotip, tipe VV menunjukkan titik leleh yang paling tinggi, VA sedang dan AA rendah.

Selanjutnya penelitian Barton *et al.* (2010) yang menganalisis asam lemak dari 367 daging pejantan Fleckvieh, mengungkapkan lemak daging pejantan dengan genotip AA dan AV mempunyai asam lemak jenuh yang lebih rendah ( $P < 0.01$ ), MUFA yang lebih tinggi dan rasio MUFA : SFA yang lebih tinggi dari pejantan bergenotip VV. Penelitian Orru *et al.* (2011) dengan menggunakan 103 pejantan Simental, menunjukkan SNP pada V293A berhubungan dengan persentase total MUFA yang lebih tinggi, penurunan stearat sebesar 0,51% ( $P < 0.01$ ) oleh satu kopia alel A, dan terdapat peningkatan oleat C18:1n-9 sebesar 0,93% ( $P < 0.01$ ), serta total indeks desaturase juga meningkat ( $P < 0.09$ ).

Komposisi asam lemak pada daging diatur oleh banyak pasangan gen. Analisis QTL menunjukkan kromosom yang berpengaruh nyata terhadap komposisi asam lemak pada daging babi berada di kromosom 4 dan gen FAT1 serta H-FABP berada di kromosom tersebut (Houba and Te Pas *et al.* 2004). Gen-gen yang terlibat dalam pembentukan asam lemak pada jaringan otot diantaranya adalah LPL, FABPpm, FAT, dan FATP (Gerbens *et al.* 2004). Gen Sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1) dan FASN adalah gen yang mempengaruhi komposisi asam lemak (Hoashi *et al.* 2007; Abe *et al.* 2009). Selanjutnya Orru *et al.* (2011) mengemukakan SNP pada gen Leptin exon 3 (Asn99Ser) berkontribusi terhadap komposisi asam lemak daging pejantan Simental

**Tabel 1. Rataan lemak dan asam lemak daging sapi lokal Ciamis berdasarkan genotip gen SCD1**

Komponen (% w/w)	Genotipe		
	TT	CT	CC
	n = 6	n = 4	n = 4
Lemak Total	0.35 ± 0.24	0.52 ± 0.46	0.28 ± 0.13
SFA	33.16 ± 3.44	32.57 ± 5.35	35.42 ± 4.71
Palmitic acid C16 : 0	17.04 ± 2.30	18.1 ± 3.54	16.66 ± 1.65
Stearic Acid C18;0	13.15 ± 1.25	11.45 ± 1.72	15.55 ± 2.91
MUFA	24.67 ± 4,51	27.29 ± 6.53	25.68 ± 3.25
Palmitoleic C16:1	1.67 ± 0.71	2.27 ± 0.72	1.95 ± 0.37
Oleic Acid C18: 1n9c	22.13 ± 4.06	24.16 ± 5.38	22.91 ± 3.01
PUFA	4.32 ± 2.02	3.19 ± 0.75	3.59 ± 0.78
linoleic Acid C18:2n6c	2.27 ± 0,92	1.77 ± 0.44	2.02 ± 0.59
Linolenic Acid C18:3n3	0.30 ± 0.35	0.33 ± 0.17	0.41 ± 0.27
MUFA : SFA	0.74 ± 007	0.84 ± 0.13	0.73 ± 0.1
PUFA : SFA	0.13 ± 0.07	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.02
Palmitoleat : Palmitat	0.10 ± 0.04	0.13 ± 0.02	0.12 ± 0.03
Oleat : Stearat	1.69 ± 0.28	2.11 ± 0.51	1.50 ± 0.30

Keterangan : ns tidak terdapat perbedaan nyata pada parameter yang dianalisis (non signifikan) (P>0,05).

Selain hal tersebut di atas, perbedaan hasil penelitian ini dengan penelitian sebelumnya disebabkan sampel daging pada penelitian ini berasal dari sapi dara umur 1.5 – 2.5 tahun, yang pembentuk lemak intramuskulernya masih rendah. Pada ternak muda, timbunan lemak biasanya terlihat pertama kali di *areavisceral*, kemudian ketika asupan nutrisi memadai lemak akan ditimbun di dekat jaringan dibawah kulit (*subcutans*), diantaraotot (*intermuscular*) dan diantara serabut otot (*intramuscular*). Timbunan lemak *intramuscular* yang paling terakhir berkembang dan terjadi pada sel lemak yang bergabung dengan jaringan penghubung perimycial ((Aberle *et al.* 2001).

Selain itu cakupan sampel daging yang diperoleh berdasarkan genotip yang berbeda, terlalu sedikit, yaitu masing masing hanya 6, 4 dan 4 sampel untuk genotipe TT, CT dan CC, jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya dengan hasil yang signifikan.

### Kesimpulan

Gen SCD1 pada sapi lokal Ciamis adalah polimorfik, dengan ditemukannya SNP V293A pada exon 5 posisi 10329T>C yang mengubah asam amino Valina menjadi Alanina. Gen SCD 1 pada sapi lokal Ciamis memiliki dua alel yaitu T dan C dengan tiga genotipe yaitu TT, CT dan CC. Keragaman Gen SCD1 berdasarkan SNP V293A tidak berpengaruh terhadap komposisi asam lemak jenuh dan tidak jenuh, maupun rasio keduanya pada daging sapi lokal di Ciamis

### Daftar Pustaka

- Abe T, Saburi J, Hasebe H, Nakagawa T, Misumi S, Nade T, Nakajima H, Shoji N, Kobayashi M, and Kobayashi E. 2009. Novel mutations of the FASN gene and their effect on fatty acid composition in Japanese Black beef. *Biochem Genet.* 47:397-411.

- Aberle DE, Forrest JC, Gerrard DE, and Milles EW. 2001. *Principles of Meat Science*. 4<sup>th</sup> edition San Francisco (US). W.H. Freeman and Company.
- Alfaia CPM, Alves SP, Martins SIV, Costa ASH, Fontes CMGA, Lemos JPC, Bessa RJB, and Prates JAM. 2009. Effect of feeding system on intramuscular fatty acids and conjugated linoleic acid isomers of beef cattle, with emphasis on their nutritional value and discriminatory ability. *Food Chem.* 114:939-46.
- AOAC (Association Official Analytical Chemist). 1995. *Official Methods of Analysis*. Washington DC. AOAC International.
- Barton L, Kott T, Bureš D, Ehak DR, Zahradkova R, and Kottova B. 2010. The polymorphisms of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) genes and their association with the fatty acid profile of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. *Meat Sci.* 85:15–20.
- Chung KY, Lunt DK, Kawachi H, Yano H, and Smith SB. 2007. Lipogenesis and stearoyl-CoA desaturase gene expression and enzyme activity in adipose tissue of short- and long-fed Angus and Wagyu steers fed corn- or hay-based. *J Anim Sci.* 2(85):380-387. doi: 10.2527/jas.2006-087
- Do Prado IN, Arietti JA, Rotta PP, Do Prado RM, Perotto D, Visentainer JV, and Matshusita M. 2008. Carcass characteristic, chemical composition and fatty acid profile of the longissimus muscle of bulls (*Bos taurus indicus* vs. *Bos taurus taurus*) finished in pasture systems. *Asian-Aust J Anim Sci.* 21 (10):1449- 1457.
- Garcia PT, Pense NA, Sancho AM, Latimori NJ, Kloster AM, Amigone MA, and Casal JJ. 2008. Beef lipids in relation to animal breed and nutrition in Argentina. *Meat Sci.* 79:500-825.
- Gerbens F. 2004. Genetic control of intramuscular fat accretion. Te Pas MFW, Everst ME, Haagsmann HP. (Ed) *Muscle Development of Livestock Animals, Physiology, Genetics and Meat Quality*. CABI Publishing (US).p.343-356.
- Hoashi S, Ashida N, and Ohsaki H. 2007. DNA polymorphisms in SREBF1 and FASN genes affect fatty acid composition in Korean cattle (Hanwoo). *Mamm Genome*, 18:880-886.
- Houba PHJ and Te Pas MFW. 2004. The muscle regulatory factors gene family in relation to meat production. Te Pas MFW, Everst ME, Haagsmann HP. (Ed) *Muscle Development of Livestock Animals, Physiology, Genetics and Meat Quality*. CABI Publishing (US).p. 201-223
- Jiang Z, Michal JJ, Tobey DJ., Daniels TF., Rule DC and MacNeil MD. 2008. Significant associations of stearoyl-CoA desaturase (*SCD1*) gene with fat deposition and composition in skeletal muscle. *Int J Biol Sci.* 4(6):345-351.
- Milanesi E, Nicoloso L. and Crepaldi P. 2008. SCD gene polymorphisms in Italian cattle breeds. *J Anim Breed Genet.* 125:63-67.
- Ohsaki H. 2009. Effect of SCD & SREBP genotype on fatty acid composition in adipose tissue of Japanese Black cattle herds. *J Anim Sci* 80(3):225-32.
- Oka A, Iwaki F, Dohgo T, Ohtagaki S, Noda M, Shiozaki T, Endoh O, and Ozaki M. 2002. Genetic effect on fatty acid composition of carcass fat of Japanese Black Wagyu. *J Anim Sci.* 80:1005-1011.
- Orrù L, Cifuni GF, Piasentier E, Corazzin M., Bovolenta S, and Moioli B. 2011. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in the LEP and SCD1 genes on the fatty acid profile of muscle fat in Simmental bulls. *Meat Sci.* 87: 344–348.
- Rules DC, Broughton KS, Shellito SM, and Maiorano G. 2002. Comparison of muscle fatty acid profiles and cholesterol concentrations of bison, beef cattle, elk, and chicken *J Anim Sci.* 80:1202-1211.
- Scaglia N, Chisholm JW, and Igal RA. 2009. Inhibition of StearoylCoA Desaturase-1 inactivates Acetyl-CoA Carboxylase and impairs proliferation in cancer

- cells: Role of AMPK. *PLoS ONE*. 4: 1-14
- Smith SB, Gill CA, Lunt DK and Brooks MA. 2009. Regulation of fat and fatty acid composition in beef cattle. *Asian-Aust J Anim Sci*. 22(9):1225-1233.
- Spanghero M, Gracco L, Valusso R, and Piasentier E. 2004. In vivo performance, slaughtering traits and meat quality of bovine (Italian Simmental) and buffalo (italian Mediterranean) bulls. *LivestProduct Sci* 91:129-141.
- Taniguchi M. *et al.* 2004. Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black Cattle. *Mamm Genome*14 :142-148.
- Wood JD, Enser M, Fisher AV, Nute GR, Sheard PR, Richardson RI, Hughes SI, and Whittington FM. 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality. [Review]. *Meat Science*. 78:343-348
- Zubir, Soeparno dan Setiyono. 2002. Komposisi asam lemak otot sapi jantan hasil silang induk Bali dengan berbagai bangsa. *Agrosains*. 15:287-296.
- Zulkarnaim. 2010. Identifikasi Keragaman Genetik Gen Receptor Hormon Pertumbuhan (GHR/Alu1) pada Sapi Bali. [tesis]. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.