

GEN PENGONTROL PRODUKSI SUSU BERKADAR LAKTOFERIN TINGGI PADA SAPI PERAH FH

CECE SUMANTRI

*Bagian Pemuliaan dan Genetika Ternak, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan
Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Jl. Agathis Kampus Darmaga Bogor*

ABSTRAK

Laktoferin merupakan protein yang bersifat antimikroba dan antivirus, oleh karena itu susu berlaktoferin tinggi dapat berpotensi sebagai pangan kesehatan dan pengobatan. Penulisan ini bertujuan untuk mendiskusikan tentang fungsi dari laktoferin dan pengaruh gen terhadap kadar laktoferin susu. Kadar laktoferin sangat bervariasi, tergantung pada individu. Peningkatan produksi susu berkadar laktoferin tinggi pada sapi FH lokal perlu dilakukan melalui seleksi. Seleksi tersebut dapat diakselerasi dengan pemanfaatan gen penciri yang diasosiasikan mempunyai peranan dalam mengontrol sifat produksi susu berlaktoferin tinggi.

Kata kunci : Laktoferin, antimikroba, antivirus, penciri gen, seleksi

ABSTRACT

GENE CONTROLLING HIGH MILK LACTOFERRIN CONTENT IN HOLSTEIN FRIESIAN COWS

Lactoferrin is considered as an antimicrobial and antiviral protein, therefore milk that contains high lactoferrin is potential for health-enhancing nutraceuticals for food and pharmaceutical applications. The main objective of this paper is to discuss in more detail about lactoferrin function and how gene could control high lactoferrin content in milk. Milk lactoferrin content is still various among individual. Therefore, selection should be carried out to increase lactoferrin content in local Friesian Holstein. The selection could be accelerated by using lactoferrin gene as a gene marker that directly contributes to the milk lactoferrin content.

Key words: Lactoferrin, antimicrobial, antiviral, selection, gene marker

PENDAHULUAN

Susu mempunyai komponen aktif sebagai pangan kesehatan dan obat (*nutraceuticals*) karena kaya akan nutrisi yang berpengaruh terhadap aktivitas biologis, diantaranya pencegahan dan pengobatan diare, hipertensi, trombosis, sakit gigi, penyerapan mineral yang kurang sempurna, dan immunodefisiensi. Selain itu, *whey* proteinnya mengandung laktoferin, laktoferoksidase, lisozim dan immunoglobulin yang sering disebut sebagai protein antimikroba. Susu juga mengandung zat bioaktif alami seperti oligosakarida, hormon, zat pertumbuhan, musin dan gangliosida (SEVERIN dan WENSHUI, 2005). Menurut LONNERDAL dan IYER (1995), laktoferin merupakan asam amino glikoprotein-703 yang berasal dari susu. Plasma laktoferin adalah derivasi dominan dari neutrofil, tetapi indikasi menunjukkan bahwa laktoferin mungkin juga diproduksi oleh sel-sel lain. Laktoferin dalam cairan tubuh didapatkan berikatan dengan Fe dalam bentuk bebas, baik bentuk monoferrik maupun diferrik. Tiga bentuk laktoferin telah berhasil diisolasi, yaitu laktoferin alpha, beta dan gamma berhubungan dengan aktivitas *ribonuclease* (RNAase), sedangkan laktoferin-

alpha tidak mempunyai hubungan dengan aktivitas RNAase. Reseptor dari laktoferin dapat dijumpai dalam jaringan intestinal, monosit, makrophage, neutrofil, limfosit, dan pada bakteri tertentu. Fungsi yang berhubungan dengan spektrum yang luas telah digambarkan dari laktoferin, yang berkisar pada perannya untuk mengontrol kemampuan Fe pada modulasi imunitas. Laktoferin terdiri atas rantai polipeptida tunggal dengan dua *globular lobes* (N-lobe dan C-lobe) dan relatif resisten terhadap proteolisis. Laktoferin merupakan protein yang disekresikan oleh jaringan *ectodermal* dan mempunyai struktur mirip transferin. Hasil penelitian SACHARCZUK *et al.* (2005), menunjukkan laktoferin pada mamalia mempunyai fungsi utama yaitu berhubungan langsung dengan sistem kekebalan tubuh. Berdasarkan kemampuannya dalam mengikat Fe, laktoferin mempunyai peran yang penting dalam pengikatan Fe di mukosa usus dan beraksi sebagai agen bakteriostatik dengan mengikat Fe yang berasal dari Fe yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri. Keberadaannya di neutrofil dan pelepasannya selama radang, memperkuat dugaan bahwa laktoferin juga berperan dalam pemusnahan fagosit dan imunitas. Sebagai tambahan, laktoferin

dapat bergantung pada pengikatan Fe, contoh sebagai faktor pertumbuhan, dan sebagai suatu agen antibakteri. AL-NABULSI dan HOLLEY (2006) melaporkan bahwa, daya antimikroba laktoferin pada sapi terhadap bakteri *E. coli* 0157:H7 dapat di tingkatkan dengan penambahan NaCl sebagai "chelator" pada suhu 10°C.

Industri susu di Indonesia sudah mulai memasarkan produk barunya berupa susu bubuk bersuplementasi laktoferin untuk anak balita, walaupun bahan dasarnya masih impor. Diharapkan ke depan Pemerintah Indonesia akan dapat menyediakan sapi-sapi yang mampu menghasilkan susu berkadar laktoferin tinggi.

Penelitian-penelitian yang berhubungan dengan laktoferin sangat penting dilakukan terutama untuk mendapatkan klarifikasi yang berhubungan dengan mekanisme yang sebenarnya dari aktivitas laktoferin. Tulisan ini bertujuan untuk membahas laktoferin secara komprehensif melalui pendekatan genetik, imunologi dan mikrobiologi, sehingga diharapkan dapat memberikan informasi mengenai identifikasi, isolasi, purifikasi dan karakterisasi laktoferin. Dengan demikian, diharapkan penelitian tentang laktoferin dapat dilakukan secara mendalam dan terintegrasi.

PERANAN LAKTOFERIN DALAM SISTEM KEKEBALAN TUBUH

RAINARD (1992), melaporkan bahwa laktoferin mampu menghambat aktifitas bakteri uji, dan menyebabkan bakteri kehilangan kemampuannya untuk membentuk koloni dengan cepat, yang diduga berupa bagian struktural yang merupakan salah satu sifat utama bakteri, selanjutnya laktoferin sapi merupakan protein yang mengikat Fe dan dapat ditemukan dalam sekresi kelenjar ambing. Konfrontasi *Streptococcus agalactiae* pada laktoferin sapi menghasilkan pengikatan protein ini pada 12 strain bakteri asal sapi yang diuji, dan juga, walaupun dengan derajat yang lemah pada lima strain asal manusia. Pengikatan bergantung pada waktu, dosis dan kejenuhan. Pengikatan laktoferin sedikit dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan bakteri, dan tahan dalam kondisi panas. NAGASAKO *et al.* (1993) telah mempelajari kemampuan laktoferin asal sapi dalam mengikat Fe pada larutan kaya Fe. Fe adalah larutan yang tidak stabil dan mudah berubah ke kondisi Fe tidak larut, tetapi kelarutan Fe dapat stabil dengan adanya laktoferin. Kejadian ini menunjukkan, bahwa laktoferin berfungsi sebagai *chelator*. Menurut LONNERDAL dan IYER (1995) laktoferin telah dikenal mempunyai kemampuan sebagai antimikroba. Kemampuan tersebut dimungkinkan oleh adanya peptida tunggal yang aktif, yang mempunyai lokasi di dekat N-terminal dari laktoferin, yaitu wilayah yang berbeda dari tempat

pengikatan Fe. Sekuen laktoferin yang bersifat antimikroba pada manusia terdiri dari 18 residu asam amino yang dibentuk dari ikatan disulfida antara residu sistein 20 dan 37, sedangkan pada sapi 19 dan 36. Peptida aktif yang berasal dari susu sapi didapatkan lebih potensial dari pada yang berasal dari manusia. Peptida ini efektif melawan bakteri Gram negatif dan Gram positif pada konsentrasi antara 0,3 µM dan 3,0 µM, dengan hasil hambatan yang bervariasi tergantung dari strain bakteri sarannya. Selanjutnya, TERAGUCHI *et al.* (1995) melaporkan bahwa pemberian laktoferin asal sapi secara oral menghambat translokasi bakteri pada mencit yang mengkonsumsi susu sapi. TERAGUCHI *et al.* (1996) menambahkan, bahwa laktoferin asal sapi sangat kuat menghambat aktivitas hemaglutinasi dan fimbrial tipe 1 *E. coli*. Reaksi aglutinasi secara spesifik dihambat oleh glikopeptida derivat dari laktoferin sapi atau alfa-metil-D-mannosida. Penelitian ini menunjukkan, bahwa glikan dari laktoferin sapi dapat sebagai reseptor untuk fimbrial lektin tipe 1. Hasil penelitian SUZUKI *et al.* (2005) menunjukkan bahwa struktur dan fungsi reseptor laktoferin pada mamalia memperlihatkan aktifitas sangat tinggi di usus kecil bayi, sedangkan dalam jumlah normal tersebar di seluruh jaringan. Lebih lanjut dijelaskan bahwa laktoferin masuk ke sel dari serum dan ditransportasikan ke dalam nukleus dan mengikat *Deoxyribose nucleate* (DNA). Sekuen spesifik DNA telah diidentifikasi dapat bekerja sama dengan laktoferin yang menginduksi gen transkripsi dari suatu gen *reporter*. Potensi langsung fungsi transkripsi dari laktoferin adalah unik dan harus dikonfirmasi pada seluruh sel atau jaringan. Penelitian ini mempunyai potensi yang besar untuk menjelaskan dasar molekuler peranan laktoferin dalam menanggulangi radang ambing dan transfer imunitas dari ibu ke anak. Pemberian pakan berupa susu sapi pada mencit menyebabkan terjadinya translokasi bakteri dari jaringan usus ke *mesenteric lymph nodes*, dan bakteri yang berperan terutama anggota dari famili *Enterobacteriaceae*. Penambahan atau suplementasi dalam susu, sebagai pakan dengan laktoferin sapi atau laktoferin yang dihidrolisa dengan pepsin dan digenerasikan, menghasilkan penekanan yang signifikan dari translokasi bakteri. Penemuan ini diduga bahwa kemampuan laktoferin untuk menghambat translokasi bakteri kemungkinan disebabkan penghambatan bakteri untuk tumbuh berkembang di saluran pencernaan dari mencit yang mendapat pakan susu. VORLAND *et al.* (1998) melaporkan bahwa laktoferin yang berasal dari sapi mempunyai antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* lebih tinggi bila dibandingkan dengan laktoferin yang berasal dari manusia, tikus dan kambing. Secara alami protein yang bersifat antimikroba mempunyai kemampuan aktivitas sebagai antiviral. Laktoferin

mempunyai kemampuan menghambat replikasi Herpes simplex virus (HSV) dengan cara memblokir masuknya virus tersebut ke dalam sitoplasma sel inang (JENSSEN, 2005). Selain bersifat sebagai antimikroba dan antivirus, laktoferin juga mempunyai kemampuan sebagai antistres seperti dilaporkan oleh ZIMECKI *et al.* (2005) pemberian laktoferin melalui air minum pada mencit dapat meningkatkan respon imunitas baik secara seluler maupun humoral.

MANFAAT SAPI PERAH PENGHASIL SUSU BERLAKTOFERIN TINGGI DI INDONESIA

Manfaat pembentukan sapi perah FH lokal penghasil susu berlaktoferin tinggi diantaranya:

- (1) Menurunkan kemungkinan terjadi mastitis. Mastitis adalah peradangan kelenjar ambing yang disertai dengan perubahan fisik, kimia dan mikrobiologi baik pada susu maupun pada ambing. Penyakit ini pada sapi perah di Indonesia menyebar hampir ke seluruh wilayah produksi susu, terutama mastitis subklinis yang terus meningkat setiap tahunnya. SUDARWANTO (1995) melaporkan bahwa kasus mastitis subklinis di Jawa Tengah mencapai 62,5% dengan tingkat infeksi kwartir sebesar 30%. Terinfeksi sapi perah oleh mastitis tersebut menurunkan produktivitas sapi dan berakhir pada pengafkiran susu yang dihasilkan dan sapi yang dipelihara. Menurut CHIEN *et al.* (2004) pada kambing adanya mastitis bisa juga ditunjukkan dengan kadar laktoferin yang sangat tinggi di luar kewajaran (587 microg/ml) dan dalam keadaan normal (218 microg/ml).
- (2) Menurunkan *total plate count* (TPC) susu. TPC menunjukkan jumlah bakteri dalam susu dan merupakan salah satu komponen kualitas susu terpenting. Susu layak konsumsi menurut Standar Nasional Indonesia (SNI, 2001) mempunyai nilai TPC < satu juta sel bakteri/ml. Pada umumnya susu terutama dari peternakan rakyat banyak ditolak oleh Industri Pengolahan Susu karena nilai TPC lebih dari satu juta sel bakteri/ml. Upaya-upaya untuk menekan nilai TPC sangat diperlukan dan berdampak positif terutama untuk industri peternakan sapi perah rakyat.
- (3) Menurunkan cemaran antibiotik pada produk susu, akibat langsung dari pengobatan mastitis adalah meningkatnya penggunaan antibiotik oleh peternak. Keamanan pangan merupakan isu internasional dalam rangka melindungi konsumen.

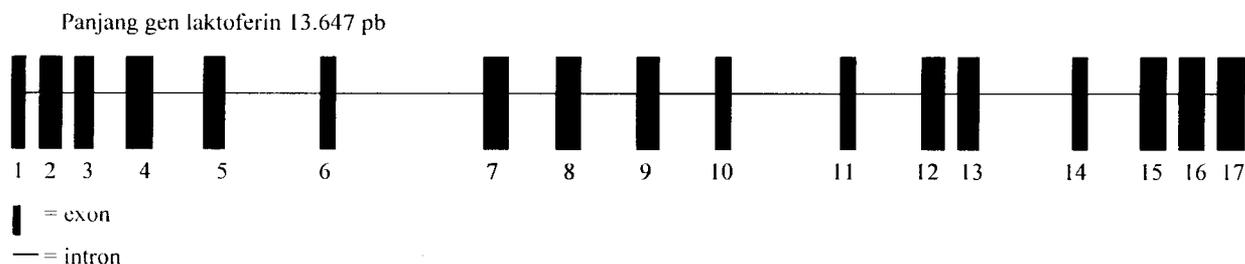
SUDARWANTO (1990) melaporkan adanya residu antibiotika terdeteksi pada susu segar dari Malang (Nongkojajar, Ngantang dan Songgoriti). Kondisi demikian menunjukkan bahwa penggunaan antibiotika di dalam manajemen peternakan sapi perah cukup intensif. Secara umum, kandungan rata-rata residu antibiotika dalam susu masih berada di bawah batas minimum residu antibiotika yang ditetapkan oleh SNI (2001), kecuali untuk klortetrasiklin (89 dan 51,7 ppb) yang terjadi pada susu asal Ngantang dan Nongkojajar dan oksitetrasiklin (64,6 ppb) pada susu asal Songgoriti.

- (4) Menurunkan kejadian diare pada anak balita. Di Indonesia kasus terjadinya diare atau infeksi saluran pencernaan masih cukup tinggi dan membutuhkan penanganan serius sehingga tidak terjadi *loss generation* di masa yang akan datang. Kebutuhan akan pangan sehat kaya gizi (terutama susu) yang murah tapi berkualitas tinggi perlu mendapatkan perhatian pemerintah. Susu berlaktoferin tinggi dapat dijadikan minuman kesehatan sebagai susu anti-diare. Laktoferin bisa pula disuplementasikan dengan minuman kesehatan lainnya.

GEN PENGONTROL KADAR LAKTOFERIN

Sekuensi lengkap mRNA laktoferin telah dilakukan oleh SCHANBACHER *et al.* (1993) dan didapatkan homologi yang tinggi antara laktoferin dengan transferin. Namun, terdapat perbedaan wilayah deduksi sekuen AA (asam amino) antara laktoferin sapi dibandingkan dengan laktoferin manusia dan transferin. Hal ini menunjukkan adanya fungsi yang berbeda di antara ketiganya. Identifikasi menunjukkan bahwa mRNA dari laktoferin sapi mungkin berkontribusi (a) pada regulasi yang berbeda antara laktoferin dengan protein susu dan (b) pada konsentrasi laktoferin yang berbeda di antara spesies. Sekresi laktoferin oleh sel-sel ambing yang tumbuh *in vitro* tidak tampak bergantung pada prolaktin dan menunjukkan regulasi oleh substratum, serum dan populasi sel yang berbeda dari kasein. Berlawanan dari kasein, efisiensi sekresi laktoferin dari sel tidak memerlukan perontokan kolagen substratum.

Struktur gen laktoferin (Gambar 1) sudah diidentifikasi oleh SEYFERT *et al.* (1994) yaitu mempunyai 17 ekson dan 16 intron dengan panjang total 13647 pasangan basa (pb). Selanjutnya SEYFERT dan KUHN (1994) telah menemukan adanya mutasi pada intron 6 dengan menggunakan enzim restriksi EcoR-I.



panjang:		panjang:	
Exon 1	81 pb	Intron 1	32 pb
Exon 2	163 pb	Intron 2	49 pb
Exon 3	108 pb	Intron 3	292 pb
Exon 4	182 pb	Intron 4	478 pb
Exon 5	147 pb	Intron 5	941 pb
Exon 6	55 pb	Intron 6	1486 pb
Exon 7	178 pb	Intron 7	447 pb
Exon 8	174 pb	Intron 8	526 pb
Exon 9	154 pb	Intron 9	527 pb
Exon 10	90 pb	Intron 10	1092 pb
Exon 11	47 pb	Intron 11	630 pb
Exon 12	155 pb	Intron 12	12 pb
Exon 13	141 pb	Intron 13	918 pb
Exon 14	68 pb	Intron 14	495 pb
Exon 15	183 pb	Intron 15	79 pb
Exon 16	189 pb	Intron 16	60 pb
Exon 17	224 pb		

Gambar 1. Struktur gen laktoferin

LEE *et al.* (1997) melaporkan adanya polimorfisme gen laktoferin pada kambing asli Korea yang disebabkan oleh adanya mutasi di 15 titik cDNA. Mutasi mengakibatkan adanya variasi sebanyak lima asam amino di bagian N-lobe dan satu asam amino di bagian C-lobe, mutasi ini sangat berhubungan langsung dengan kadar laktoferin dan kemampuannya sebagai antibakteri lebih tinggi bila dibandingkan dengan kambing Saanen. Kadar laktoferin sangat nyata dipengaruhi oleh genetik dan gen laktoferin di kontrol oleh dua alel A dan B, individu bergenotipe AA mempunyai kadar laktoferin lebih tinggi dari AB dan BB. Dengan demikian laktoferin diwariskan secara kodominan dan mengikuti hukum Mendel. Lebih jauh NAM *et al.* (1999) melaporkan bahwa hasil karakterisasi laktoferin kambing asli Korea dengan menggunakan *ion-exchange chromatography* CM-

Toyopearl 650 M mempunyai berat molekul 82 kDa dengan kadar Fe saturasi 30%, dengan masing-masing struktur alpha-helix 24,5%, beta-helix 39,5% dan tidak berstruktur 26,0% dan kemampuan mengikat heparin hamster sama dengan sapi tetapi lebih rendah dari laktoferin manusia.

USULAN PEMULIAAN SAPI PERAH BERLAKTOFERIN TINGGI

Salah satu langkah strategis dalam meningkatkan kemampuan produksi susu segar dengan kadar laktoferin tinggi di dalam negeri adalah menyediakan sapi perah (FH) bibit yang berkemampuan memproduksi susu tinggi pada jumlah mencukupi. Akan tetapi, pelaksanaan seleksi yang dilakukan secara

konvensional untuk mendapatkan sapi FH bibit berkemampuan superior dalam menghasilkan susu berkadar laktoferin tinggi masih berjalan lambat dan kurang akurat (kendala institusi, SDM, aspek teknis, sarana, dsb.). Dengan demikian, perbaikan mutu genetik tersebut perlu diakselerasi dan ditingkatkan hasilnya dengan dukungan teknologi molekuler genetik melalui pemanfaatan gen penciri (*marker-assisted selection*) yang diasosiasikan mempunyai peranan dalam mengontrol sifat produksi susu berlaktoferin tinggi. Laktoferin intron 6 akan menjadi target utama sebagai penciri genetik pada penelitian ke depan dikarenakan laktoferin intron 6 menjadi lokasi dari gen yang berperan langsung dalam pengontrolan sifat produksi laktoferin susu. SUMANTRI (2000) telah merancang primer pada intron 6 berdasarkan struktur gen laktoferin (SEYFERT *et al.*, 1994) dan hasil amplifikasinya dengan mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sebesar 631 pasangan basa (pb). Produk PCR kemudian dipotong oleh enzim restriksi EcoR-I. Alel A ditunjukkan oleh satu fragmen yang tidak terpotong sehingga berukuran 631 pb dan alel B terpotong ditunjukkan oleh dua fragmen dengan ukuran 533 pb dan 98 pb. Individu bergenotipe AA akan mempunyai satu fragmen 631 pb, AB tiga fragmen masing-masing berukuran 631, 533 dan 98, sedangkan BB dua fragmen 533 dan 98 pb. Dengan melihat pola pita elektroforesis kemungkinan besar sifat ini akan diwariskan oleh gen tunggal mengikuti hukum Mendel secara kodominan/ intermediet, dengan kadar laktoferin AA > AB > BB seperti telah dilaporkan pada kambing Korea (LEE *et al.*, 1997).

Hasil analisis polimorfisme gen laktoferin dengan menggunakan primer yang sudah ada pada sapi perah Indonesia khususnya di Balai Pembibitan Ternak Unggul (BPTU) Baturraden, ada kemungkinan hasil yang diperoleh berbeda dengan hasil perhitungan yang disebabkan oleh sekuen DNA berbeda dengan pustaka genom SEYFERT *et al.* (1994) atau ada mutasi lain. RAHMANI *et al.* (2004) melaporkan bahwa pada gen hormon pertumbuhan (exon III – IV) sapi perah di BPTU Baturraden telah terdeteksi adanya 4 alel (A, B, C dan D), sedangkan pada sapi Eropa hanya ditemukan dua alel.

Untuk itu, diperlukan seleksi sapi sehingga diperoleh sapi superior yang dapat memproduksi susu dalam jumlah besar dan dengan kualitas yang diinginkan. Hal ini dapat dilakukan dengan cara percepatan proses melalui teknologi molekuler dengan memanfaatkan gen penciri yang mempunyai peranan dalam mengontrol sifat produksi susu yang

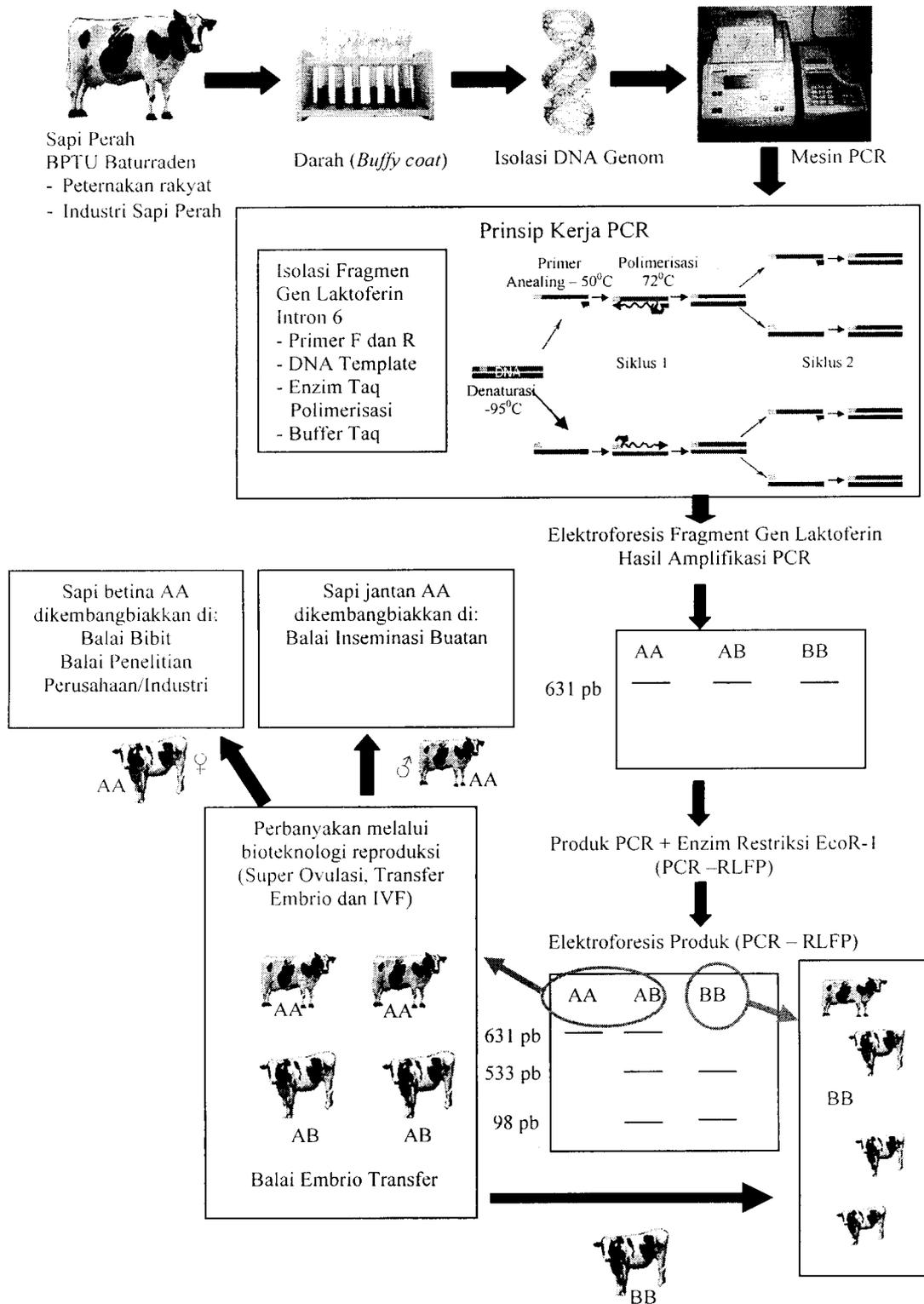
berlaktoferin tinggi. Aplikasi biologi molekuler (isolasi DNA, amplifikasi fragmen gen dengan PCR dan pemotongan produk PCR dengan enzim) untuk mendeteksi genotipe gen laktoferin individu sapi sudah umum dilakukan, dan hambatan secara teknis sudah bisa diatasi.

Identifikasi genotipe gen laktoferin terhadap sapi-sapi FH di Indonesia belum pernah dilakukan, sehingga untuk mendapatkan sapi yang bergenotipe gen laktoferin perlu dilakukan identifikasi melalui isolasi DNA, amplifikasi fragmen gen laktoferin dan pemotongan produk PCR dengan enzim EcoR-I serta menghitung frekuensi gennya. Selanjutnya, dilakukan uji korelasi antara genotipe gen laktoferin dengan kadar laktoferin, *Somatic cell count* (SCC) dan jumlah mikrobia susu. Purifikasi dan karakterisasi laktoferin selanjutnya diharapkan akan mendapat hasil sifat-sifat kimiawi laktoferin, sifat antibakteri laktoferin sapi FH serta stabilitas laktoferin pada suhu dan kondisi penyimpanan yang berbeda.

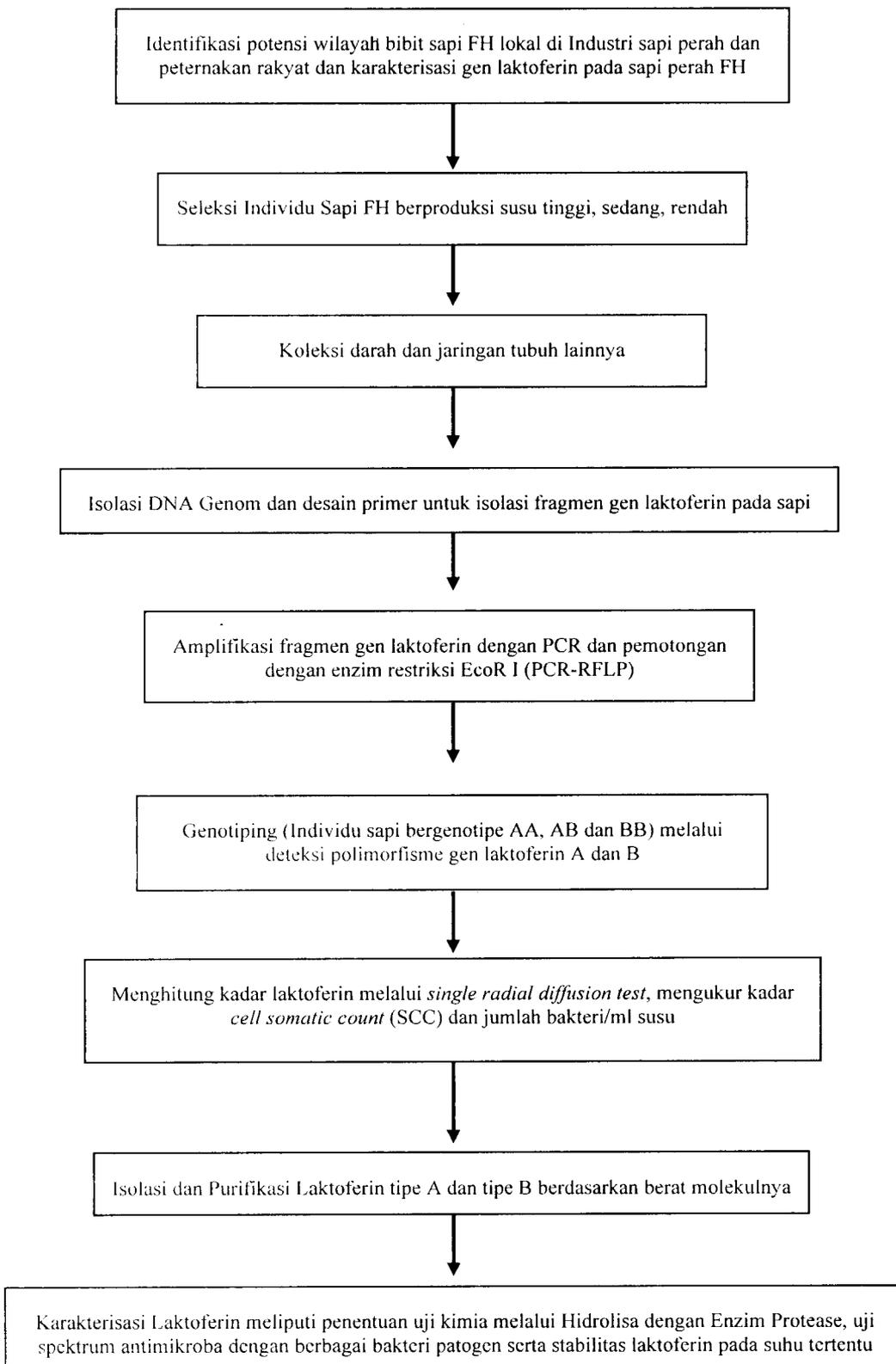
Sapi FH yang akan dipakai sebaiknya berasal dari BPTU Baturraden Purwokerto atau industri peternakan sapi perah yang mempunyai identitas, silsilah dan produktivitas jelas dengan *recording* yang baik. Sapi-sapi yang teridentifikasi genotipe gen laktoferinnya akan baik dijadikan sebagai sumber bibit dan bisa dikembangkan lebih lanjut.

Tahapan penelitian meliputi (1) identifikasi polimorfisme gen laktoferin melalui: (a) isolasi DNA, (b) amplifikasi fragmen gen laktoferin dengan PCR, (c) pemotongan produk PCR dengan enzim tertentu (PCR-RFLP), (d) elektroforesis, (e) genotyping gen laktoferin. (2) menghitung kadar laktoferin hasil purifikasi dengan metode imunodifusi; (3) menguji korelasi antara genotipe dengan kadar laktoferin, SCC dan jumlah bakteri susu; (4) isolasi dan purifikasi laktoferin melalui *cation exchange chromatography*; dan (5) pengkarakterisasian laktoferin yang meliputi: (a) penentuan *nature* laktoferin, (b) bobot molekul laktoferin, (c) uji kemampuan antibakteri laktoferin terhadap bakteri patogen maupun bakteri yang menguntungkan di dalam saluran pencernaan dan (d) stabilitas laktoferin pada suhu penyimpanan yang berbeda.

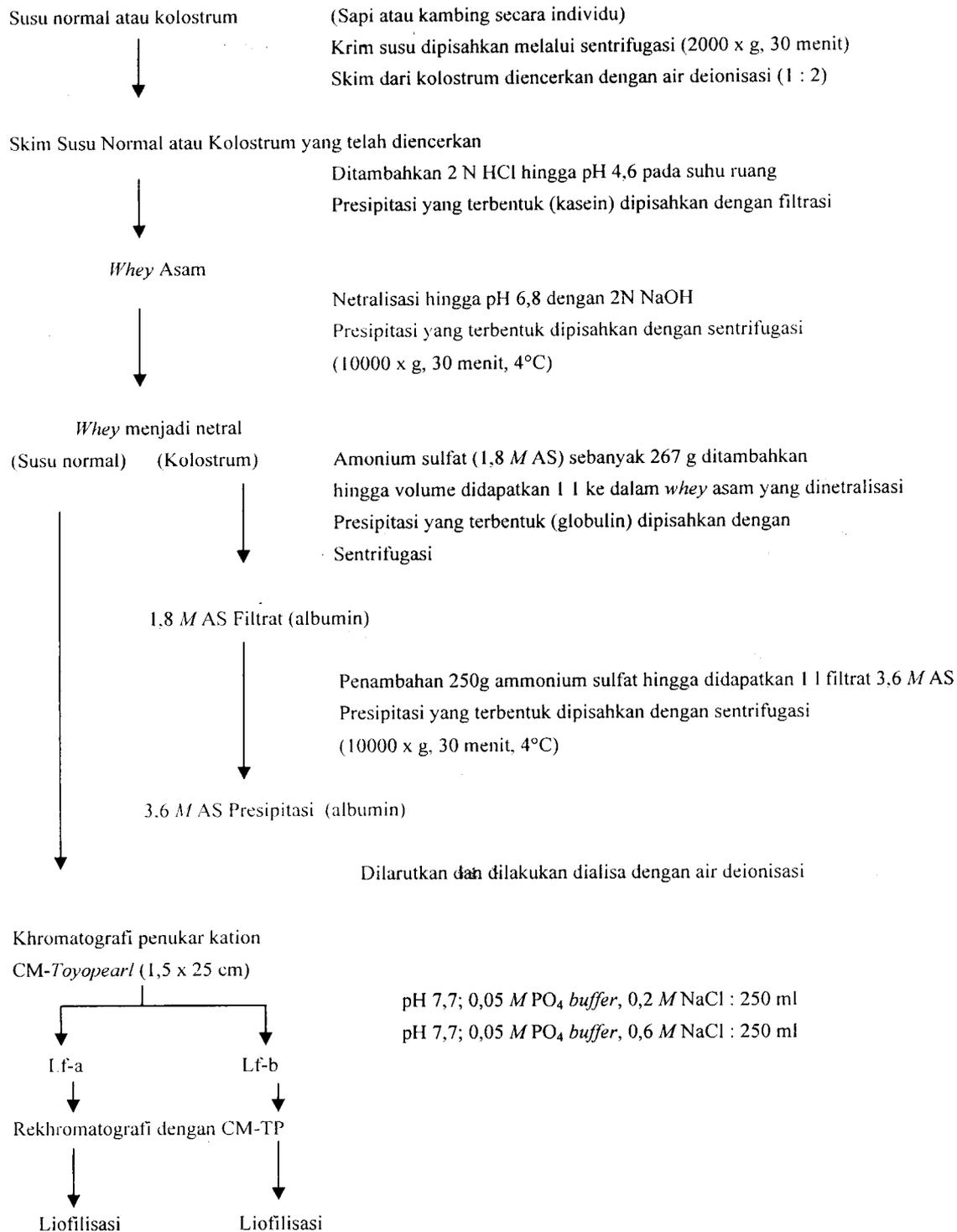
Tahapan identifikasi, genotyping dan perbanyakan individu dengan genotipe AA dan AB dapat dilihat diagram skematis pada Gambar 2, sedangkan untuk karakterisasi gen pada diagram alir pada Gambar 3 dan untuk isolasi laktoferin dilakukan berdasarkan YOSHIDA *et al.* (2000) dengan cara seperti diagram pada Gambar 4.



Gambar 2. Diagram identifikasi gen laktoferin pada sapi FH di Indonesia



Gambar 3. Diagram alir identifikasi dan karakterisasi gen laktoferin pada sapi perah FH



Gambar 4. Diagram alir isolasi laktoferin -a (Lf-a) dan -b (Lf-b) dari kolostrum dan susu normal

CM-TP = carboxy-methyl-toyopearl

Sumber: YOSHIDA et al. (2000)

KESIMPULAN DAN SARAN

Laktoferin intron 6 dapat dijadikan sebagai penciri genetik untuk seleksi peningkatan kadar laktoferin pada ternak perah dikarenakan laktoferin intron 6 berperan langsung dalam pengontrolan sifat produksi laktoferin susu.

Identifikasi dapat dilakukan melalui (1) isolasi DNA genom; (2) amplifikasi fragmen gen laktoferin dengan primer spesifik; (3) dan pemotongan produk PCR dengan enzim EcoR-I; (4) melakukan genotyping pada populasi tertentu, dengan mengelompokkan individu sapi bergenotipe AA, AB dan BB; (5) mencari korelasi antara genotipe dengan kadar laktoferin individu tersebut; (6) memperbanyak populasi.

Pembentukan sapi FH lokal penghasil susu berkadar laktoferin tinggi melalui seleksi dapat memberikan beberapa keuntungan diantaranya (1) meningkatkan kesehatan sapi perah itu sendiri, seperti menurunkan terjadinya kasus mastitis; (2) meningkatkan kualitas susu baik secara fisik (seperti menurunnya jumlah bakteri susu) dan secara kimiawi maupun secara biologik yang bersifat *pharmaceutical* (peningkatan kualitas zat imunitas seperti antimikrobal, antiviral dan antistres); (3) meningkatkan nilai ekonomis bibit sapi perah bergenotipe laktoferin AA.

Penelitian tentang identifikasi dan karakterisasi gen laktoferin pada sapi perah di Indonesia kemungkinan besar sudah bisa dilakukan dengan melihat pertimbangan sebagai berikut:

- (1) Aplikasi genetika molekuler dalam pemuliaan dari segi teknis operasional sudah ada dan tidak menjadi hambatan.
- (2) Jejaring kerjasama antar lembaga terkait (Balai Penelitian, Perguruan Tinggi, Balai Pembibitan, Balai Inseminasi Buatan, Balai Embrio Transfer) sudah mulai terbentuk.
- (3) Populasi sapi perah bibit bergenotipe laktoferin AA dapat diperbanyak melalui teknik aplikasi bioteknologi reproduksi (Superovulasi, Transfer Embrio, *In Vitro* Fertilisasi, dan Embrio Beku). Sapi indukan dapat dikembangkan di Balai Pembibitan dan untuk jantannya bisa di Balai Inseminasi.

DAFTAR PUSTAKA

AL-NABULSI, A.A. and R.A. HOLLEY. 2006. Enhancing the antimicrobial effects of bovine lactoferrin against *Escherichia coli* O157 : H7 by cation chelation, NaCl and temperature. *J. Appl. Microbiol.* 100(2): 244 – 255.

CHEN, P.W., W.C. CHEN and F.C. MAO. 2004. Increase of lactoferrin concentration in mastitic goat milk. *J. Vet. Med. Sci.* 66(4): 345 – 350.

JENSSEN, H. 2005. Anti herpes simplex virus activity of lactoferrin/lactoferricin -- an example of antiviral activity of antimicrobial protein/peptide. *Cell. Mol. Life Sci.* 62(24): 3002 – 3013.

LEE, T.H., K. SHIMIZAKI, S.L. YU, M.S. NAM, S.J. KIM, K.K. LEE and D.Y. YU. 1997. Polymorphic sequence of Korean native goat lactoferrin exhibiting greater antibacterial activity. *Anim. Genet.* 28(5): 367 – 369.

LONNERDAL, B. and S. IYER. 1995. Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annu. Rev. Nutr.* 15: 93 – 110.

NAGASAKO, Y., H. SAITO, Y. TAMURA, S. SHIMAMURA and M. TOMITA. 1993. Iron-binding properties of bovine lactoferrin in iron-rich solution. *J. Dairy Sci.* 76(7): 1876 – 1881.

NAM, M.S., K. SHIMIZAKI, H. KUMURA, K.K. LEE and D.Y. YU. 1999. Characterization of Korean native goat lactoferrin. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 123(2): 201 – 208.

RAHMANI, N., MULADNO dan C. SUMANTRI. 2004. Analisis polimorfisme gen bovine growth hormone (bGH) exon III-IV pada sapi perah Friesian Holstein di BPTU Baturraden. *Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor.* 4 – 5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 183 – 194.

RAINARD, P. 1992. Binding of bovine lactoferrin to *Streptococcus agalactiae*. *FEMS Microbiol. Lett.* 177(1 – 3): 235 – 239.

SACHARCZUK, M., T. ZAGULSKI, B. SADOWSKI, M. BARCHIKOWSKA and R. PLUTA. 2005. Lactoferrin in the central nervous system. *Neurol. Neurochir. Pol.* 39(6): 482 – 489.

SCHANBACHER FL. R.E. GOODMAN, R.S. TALLHOUK. 1993. Bovine mammary lactoferrin: implication from messenger ribonucleic acid (mRNA) sequence and regulation contrary to other milk proteins. *J. Dairy Sci.* 1993 Dec.76(12): 3812 – 3831.

SEVERIN, S. and X. WENSHUI. 2005. Milk biologically active components as nutraceuticals: Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45(7): 645 – 656.

SEYFERT, H.M. and C. KUHN. 1994. Characterization of a first bovine lactoferrin gene variant, based on an EcoRI polymorphism. *Anim. Gen.* 25(1): 54 (abstract).

SEYFERT, H.M., A. TUCKORICZ, H. INTERTHAL, D. KOCZAN and G. HOBOM. 1994. Structure of the bovine lactoferrin-encoding gene and its promoter. *Gene.* 143(2): 265 – 269.

STANDARD NASIONAL INDONESIA. 2001. Cara Uji Susu Segar. SNI 01-3141-1998. Pusat Standardisasi Industri. Departemen Perindustrian.

- SUDARWANTO, M. 1990. Residu antibiotika dalam air susu ditinjau dari kesehatan masyarakat veteriner. Seminar Nasional Penggunaan Antibiotika dalam Bidang Kedokteran Hewan. hlm. 44 – 54.
- SUDARWANTO, M. 1995. Mastitis pada sapi perah. Pros. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner Jilid 1. Cisarua, Bogor, 7 – 8 Nopember 1995. Puslitbang Peternakan 1996. hlm. 249 – 256.
- SUMANTRI, C. 2000. Identification of casein haplotypes and growth hormone (bGH) gene to enhance milk production and quality in Indonesian Holstein Friesian. Paper presented in the One-Day International Seminar of Japan Science and Technology Corporation (JST) on 22 December 2000. Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Sapporo, Japan.
- SUZUKI, Y.A., V. LOPEZ and B. LONNERDAL. 2005. Mammalian lactoferrin receptors: structure and function. *Cell Mol. Life Sci.* 62(22): 2560 – 2575.
- TERAGUCHI, S., K. SHIN, T. OGATA, M. KINGAKU, A. KAINO, H. MIYAUCHI and Y. FUKUWARI. 1995. Orally administered bovine lactoferrin inhibits bacterial translocation in mice fed bovine milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 61(11): 4131 – 4134.
- TERAGUCHI S, K. SHIN, Y. FUKUWATARI and S. SHIMAMURA. 1996. Glycans of bovine lactoferrin function as receptors for the type 1 fimbrial lectin of *Escherechia coli*. *Infect. Immun.* 64(3): 1075 – 1077.
- VORLAND, L.H., H. ULVATNE, J. ANDERSEN, H. HAUKLAND, O. REKDAL, J.S. SVENDSEN and T.J. GUTTERBERG. 1998. Lactoferricin of bovine origin is more active than lactoferricins of human, murine and caprine origin. *Scand J. Infect. Dis.* 30(5): 513 – 517.
- YOSHIDA, S., Z. WEI, Y. SHINMURA and N. FUKUNAGA. 2000. Separation of lactoferrin -a and -b from bovine colostrum. *J. Dairy Sci.* 83(10): 2211 – 2215.
- ZIMECKI, M., J. ARTYM, G. CHODACZEK, M. KOCIEBA and M. KRUZEL. 2005. Effects of lactoferrin on the immune response modified by the immobilization stress. *Pharmacol. Rep.* 57(6): 811 – 817.