



Semarak Proceedings of Natural and Environmental Sciences

Journal homepage:
<https://semarakilmu.my/index.php/spnes/index>
ISSN: 3083 - 8191



Kajian Polimorfisme Nukleotida Tunggal (SNP) dalam Gen *Diacylglycerol Acyltransferase (DGAT1)* pada Lembu Tenusu di Pahang dan Melaka *Study of Single Nucleotide Polymorphism in the Diacylglycerol Acyltransferase (DGAT1) Gene in Dairy Cows in Pahang and Melaka*

Ifa Amira Naharuddin¹, Nadiatur Akmar Zulkifli^{1,*}

¹ Jabatan Sains Biologi dan Bioteknologi, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi, 43600, Selangor

ABSTRACT

Gen diacylglycerol acyltransferase (*DGAT1*) memainkan peranan penting dalam pengeluaran susu. Kehadiran polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) dalam gen *DGAT1* didapati mempengaruhi kualiti dan pengeluaran susu lembu. Oleh itu, kajian ini dijalankan untuk menyaring SNP dalam gen *DGAT1* pada lembu tenusu di Pahang dan Melaka. Kajian ini melibatkan pensampelan darah daripada 10 ekor lembu Australian Friesian Sahiwal (AFS) dari Pahang, lima ekor lembu Jersey, dan lima ekor lembu baka campuran dari Melaka. Sampel darah telah diekstrak untuk mendapatkan DNA. Amplifikasi PCR exon 8 gen *DGAT1* telah dilakukan, dan produk PCR jalur tunggal dihantar untuk penjujukan DNA. Perisian MEGA-7 digunakan untuk menyaring kehadiran SNP dalam jujukan DNA. Hasil kajian mendapati dua SNP pada kedudukan 134 dan 135. Di Pahang, frekuensi bagi genotip KK, AA, dan KA masing-masing adalah 0.30, 0.20, dan 0.50. Di Melaka, frekuensi bagi genotip KK, AA, dan KA masing-masing ialah 0.30, 0.30, dan 0.40. Daripada 10 lembu yang dikaji di Pahang, 30% lembu boleh menghasilkan susu yang lebih berkualiti, manakala 20% boleh menghasilkan kuantiti susu yang lebih tinggi. Di Melaka, daripada 10 lembu yang dikaji, 30% lembu boleh menghasilkan susu yang lebih berkualiti, manakala 30% lagi dapat menghasilkan kuantiti susu yang lebih tinggi. Kajian ini dapat membantu penternak dalam memilih lembu untuk pembiakan yang boleh meningkatkan kuantiti dan kualiti susu, seterusnya membantu meningkatkan industri tenusu di Malaysia.

The diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) gene plays a crucial role in milk production. The presence of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the DGAT1 gene has been found to affect the quality and production of cow's milk. Therefore, this study was conducted to screen for SNPs in the DGAT1 gene in dairy cattle in Pahang and Melaka. The study involved blood sampling from 10 Australian Friesian Sahiwal (AFS) cows from Pahang, five Jersey cows, and five mixed-breed cows from Melaka. Blood samples were extracted to obtain DNA. PCR amplification of exon 8 of the DGAT1 gene was performed, and the single-band PCR products were sent for DNA sequencing. MEGA-7 software was used to screen for the presence of SNPs in the DNA sequences. The results of the study found two SNPs at positions 134 and 135. In Pahang, the frequencies for the KK, AA, and KA genotypes were 0.30, 0.20, and 0.50, respectively. In Melaka, the frequencies for the KK, AA, and KA genotypes were 0.30, 0.30, and 0.40, respectively. Of the 10 cows studied in Pahang, 30% could produce higher-quality milk, while 20% were capable of producing higher milk quantities. In Melaka, of the 10 cows studied, 30% could produce higher-quality milk, while another 30% were capable of producing higher milk quantities. This study can assist breeders in selecting cows for breeding that can enhance both the quantity and quality of milk, ultimately helping to improve the dairy industry in Malaysia.

Kata kunci: Susu; kualiti; kuantiti; frekuensi alel; frekuensi genotip

Keywords: Milk; quality; quantity; allele frequency; genotype frequency

* Corresponding author.

E-mail address: nadia.zulkifli@ukm.edu.my

<https://doi.org/10.37934/spnes.1.1.5256a>

1. Pengenalan

Di negara yang sedang pesat membangun, permintaan terhadap produk haiwan ternakan semakin meningkat disebabkan oleh faktor seperti peningkatan populasi, urbanisasi, kemajuan ekonomi, dan perubahan cita rasa pengguna [1]. Di Malaysia, industri tenusu semakin berkembang pesat berikutan peningkatan permintaan terhadap produk tenusu seperti susu, keju dan yogurt [2]. Susu adalah sumber nutrien yang sangat penting kerana ia mengandungi pelbagai zat seperti vitamin dan mineral yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan yang sihat dalam manusia [3]. Gen *diacylglycerol acyltransferase* (*DGAT1*) merupakan salah satu gen yang membantu dalam mempengaruhi penghasilan serta kualiti susu. Gen *DGAT1* mengekod enzim yang memainkan peranan utama dalam sintesis trigliserida, sejenis lemak yang terdapat dalam susu. Gen *DGAT1* yang dikenali kerana signifikannya terhadap ciri-ciri pengeluaran susu, khususnya kandungan lemak, telah dikaji dengan menyaring polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) (rs109421300) yang terletak pada kromosom 14 pada posisi 18801116 pb. Hubungan yang signifikan ditemui dengan kandungan lemak dan komposisi asid lemak pada lembu yang diperah [4]. SNP tersebut menunjukkan hubungan tertinggi dengan kandungan lemak dan juga berkait secara signifikan dengan komposisi lemak [4]. Oleh yang demikian, banyak kajian telah dilakukan untuk meningkatkan hasil pengeluaran susu termasuklah mengkaji varian dalam gen yang mungkin mempengaruhi pengeluaran susu. Sebagai contoh, di New Zealand, satu kajian telah dijalankan ke atas varian dalam gen *DGAT1*. Kajian ini telah membuktikan bahawa gen *DGAT1* boleh mempengaruhi tahap penghasilan susu dalam lembu [5]. Hasil dapatan kajian tersebut juga mendapati gen *DGAT1* mampu meningkatkan kandungan protein dan lemak susu dengan kehadiran (SNP) pada gen tersebut [5].

Kajian mengenai varian dalam gen *DGAT1* ini adalah satu langkah untuk membantu meningkatkan pengeluaran hasil serta kualiti tenusu. Namun begitu, masih belum ada kajian yang dijalankan ke atas gen *DGAT1* pada lembu di Malaysia bagi memastikan pemilihan lembu yang terbaik untuk pembiakbakaan. Oleh itu, kajian ini dilakukan untuk menyaring SNP dalam gen *DGAT1* pada lembu tenusu di Pahang dan Melaka. Kajian ini membantu memberi gambaran awal dan mengenal pasti lembu yang mampu menghasilkan susu yang lebih berkualiti dan jumlah penghasilan yang tinggi. Ini juga akan membantu dalam proses pemilihan untuk pembiakbakaan lembu tenusu pada masa hadapan.

2. Metodologi

2.1 Pensampelan Sumber Genetik, Pengekstrakan dan Penentuan Kepekatan DNA

Kajian ini dilakukan dengan melibatkan 10 sampel darah lembu tenusu baka Australian Friesian Sahiwal di Muadzam Shah, Pahang serta lima sampel darah lembu tenusu baka Jersey dan lima sampel darah lembu tenusu baka campuran di Lubuk China, Melaka. Kemudian, kesemua 20 sampel darah lembu diekstrak dengan menggunakan kit pengekstrakan *Dneasy Blood & Tissue Kit* (QIAGEN) mengikut protokol yang disediakan. Sebelum amplifikasi dilakukan, kepekatan DNA ditentukan untuk semua sampel darah lembu yang telah diekstrak. Untuk mengukur kepekatan sampel DNA yang diekstrak, mesin Nanodrop spektrofotometer (Thermo Scientific) telah digunakan.

2.2 Amplifikasi PCR, Penjujukan DNA dan Analisis

Kaedah Tindak Balas Berantai Polimerase (PCR) dilaksanakan menggunakan templat DNA yang diekstrak dari 20 sampel darah. Untuk mengamplifikasikan saiz produk 278 bp bagi kawasan *DGAT1* ekson 8, pencetus yang digunakan adalah pencetus hadapan 5'-AAGCCAAGGCTGGTGAG-3' dan

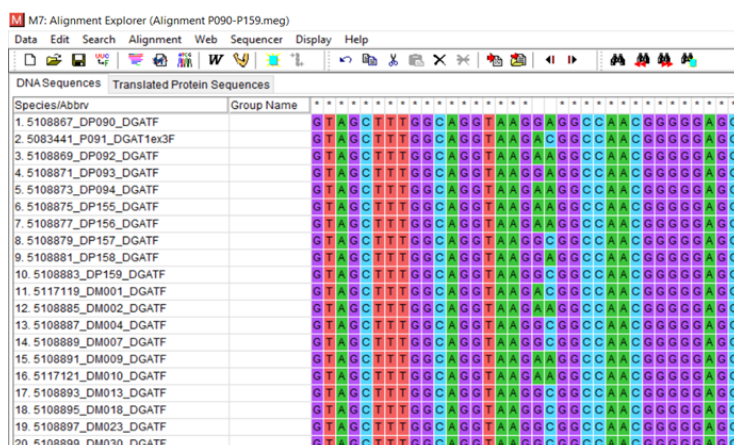
pencetus belakang 5'-GGCGAAGAGGAAGTAGTAG-3'. PCR telah dijalankan dalam jumlah isipadu 25 µL yang mengandungi, 5U/µl Master Mix (12.5 µl), 20 µM pencetus hadapan (1 µl), 20 µM pencetus ke belakang (1 µl), 50 ng/µl templat DNA (3 µl) dan air ternyahion ternyahkuman (7.5 µl). Mesin mini16 thermal cycler(miniPCR®) telah digunakan berdasarkan profil kitaran yang dioptimumkan: pra-pemanasan (95°C selama 180 saat), 33 kitaran untuk penyahaslian (95 °C selama 15 saat), penyepuhan (57 °C selama 30 saat), pemanjangan (72 °C selama 10 saat) dan pemanjangan lanjut (72 °C selama 600 saat).

Produk PCR yang berjaya diamplifikasikan dihantar ke Apical Scientific Sdn. Bhd. (Seri Kembangan) untuk menjalani proses penjujukan. Hasil jujukan disemak dan disusun dengan teliti sebelum dikenal pasti menggunakan perisian BLAST (Basic Local Alignment Tool). Proses penyaringan SNP dalam jujukan DNA telah dilakukan dengan menggunakan perisian *Sequencher* dan *MEGA-7*. Setelah penyaringan dilakukan, frekuensi alel dan genotip dikira.

3. Hasil dan Perbincangan

3.1 Saringan Kehadiran SNP

Perisian Sequencher dan MEGA-7 telah digunakan untuk menyaring kehadiran SNP bagi kesemua 20 sampel yang telah berjaya diamplifikasikan. Dua SNP dikesan pada posisi yang bersebelahan iaitu posisi 134 (SNP#134) dan posisi 135 (SNP#135). Rajah 1 menunjukkan kehadiran SNP #134 dan #135 pada perisian MEGA-7. Jadual 1 menunjukkan bilangan SNP yang berjaya disaring dari sampel mengikut negeri.



Rajah 1. Saringan kehadiran SNP #134 dan #135 menggunakan *Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA-7)*

Jadual 1

Bilangan SNP yang berjaya disaring dari sampel mengikut negeri

Negeri	SNP #134			SNP #135		
	AA	GG	AG	AA	CC	AC
Pahang	3	2	5	3	2	5
Melaka	3	3	4	3	3	4

Berdasarkan saringan SNP yang dilakukan, penggantian nukleotida Adenina kepada Guanina (A→G) pada SNP #134 dan Adenina kepada Sitosina (A→C) pada SNP #135 telah dikenalpasti. Kehadiran kedua-dua SNP menyebabkan berlakunya pertukaran asid amino ke 232, dari lisin (K) kepada alanin (A). Sekiranya tiada SNP didapati pada kedudukan 134 dan 135, asid amino yang terbentuk ialah lisin (K) yang diwakilkan dengan genotip KK. Sekiranya SNP didapati pada kedudukan

134 dan 135, amino asid yang terbentuk ialah alanin (A) iaitu AA. Sekiranya SNP didapati bersifat heterozigot pada kedudukan 134 dan 135, amino asid yang terbentuk ialah lisin/alanin yang diwakilkan dengan genotip KA. Lisin mampu meningkatkan kandungan lemak dan protein, serta meningkatkan penghasilan lemak manakala alanin pada *DGAT1* pula mampu meningkatkan penghasilan susu serta protein [6,7].

3.2 Analisis Frekuensi Alel dan Genotip

Jadual 2 menunjukkan frekuensi bagi alel dan genotip pada SNP #134 dan #135 bagi sampel mengikut negeri manakala Jadual 3 menunjukkan frekuensi bagi alel dan genotip pada SNP #134 dan #135 bagi sampel mengikut baka lembu.

Jadual 2

Frekuensi genotip dan alel bagi sampel lembu mengikut negeri

Negeri	Jumlah	Frekuensi genotip			Frekuensi alel	
		KK	AA	KA	K	A
Pahang	10	0.30	0.20	0.50	0.55	0.45
Melaka	10	0.30	0.30	0.40	0.50	0.50

Jadual 3

Frekuensi genotip dan alel bagi sampel lembu mengikut baka lembu

Baka	Jumlah	Frekuensi genotip			Frekuensi alel	
		KK	AA	KA	K	A
Australian Friesian Sahiwal	10	0.30	0.20	0.50	0.55	0.45
Jersey	5	0.20	0.40	0.40	0.40	0.60
Campuran	5	0.40	0.20	0.40	0.60	0.40

Hasil ini menunjukkan persamaan dengan kajian yang dilakukan oleh Rahmatalla *et al.*, [8] yang juga mendapati frekuensi heterozigot KA pada lembu German Holstein Friesian adalah yang paling tinggi berbanding dengan genotip yang lain. Hal ini mungkin disebabkan oleh penggunaan baka campuran Friesian yang digunakan untuk kajian ini dan kajian yang dilakukan oleh Rahmatalla *et al.*, [8] menyebabkan frekuensi bagi genotip KA bagi kedua-dua lembu baka campuran Friesian adalah yang paling tinggi. Berdasarkan kajian Grisart *et al.*, [9] dan Tăbăran *et al.*, [10], lembu Jersey dengan alel K menghasilkan lebih banyak lemak susu. Alel K pada *DGAT1* dikaitkan dengan peningkatan kandungan protein dan lemak susu tetapi pengurangan dalam jumlah susu menurut Li *et al.*, [11]. Berry *et al.*, [12] juga mengatakan alel K dikaitkan dengan penurunan hasil susu dalam lembu Holstein-Friesian. Bagi baka campuran, disebabkan lembu tersebut adalah baka campuran dan jenis baka yang dicampurkan tidak diketahui, frekuensi genotip dan alel tetap dikira. Namun, hasil ini tidak boleh dibincangkan atau dibandingkan dengan kajian-kajian lepas kerana ketiadaan maklumat tepat mengenai asal usul genetiknya. Oleh itu, sebarang analisis lanjut mengenai pola genetik dan kesan fenotipiknya memerlukan kajian yang lebih mendalam dengan pengesahan baka yang lebih terperinci. Ini adalah penting untuk memastikan kesahihan dan kebolehpercayaan data yang diperoleh.

4. Kesimpulan

Secara keseluruhannya, objektif kajian ini iaitu penyaringan SNP dalam gen *DGAT1* pada lembu tenusu di Pahang dan Melaka yang boleh digunakan sebagai penanda genetik untuk pembiakbakaan telah dicapai. Lebu yang mempunyai amino asid lisin pada kedudukan 232 amino asid adalah lembu

yang mampu meningkatkan penghasilan lemak, peratusan lemak dan peratusan protein. Manakala, lembu yang mempunyai amino asid alanin pada kedudukan 232 adalah lembu yang mampu meningkatkan penghasilan susu. Bagi negeri Pahang, 30% lembu yang dikaji mampu menghasilkan susu yang tinggi kandungan lemak dan protein serta penghasilan lemak yang tinggi. Manakala 20% lembu yang dikaji mampu menghasilkan susu yang lebih banyak. Bagi negeri Melaka, 30% lembu yang dikaji mampu menghasilkan susu yang tinggi kandungan lemak dan protein serta penghasilan lemak susu yang tinggi manakala 30% lagi adalah lembu yang mampu menghasilkan susu yang lebih banyak.

Penghargaan

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua yang terlibat dalam kajian ini.

Rujukan

- [1] Davoodi, Seyed Hossein, Roghiyeh Shahbazi, Saeideh Esmaeili, Sara Sohrabvandi, AmirMohamamd Mortazavian, Sahar Jazayeri, and Aghdas Taslimi. "Health-related aspects of milk proteins." *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR* 15, no. 3 (2016): 573.
- [2] Jabatan Perkhidmatan Veterinar. Pelan Strategik Pembangunan Industri Tenusu Negara 2021-2025. Kementerian Pertanian dan Industri Makanan. (2021)
- [3] Franzoi, Marco, Giovanni Niero, Giulio Visentin, Mauro Penasa, Martino Cassandro, and Massimo De Marchi. "Variation of detailed protein composition of cow milk predicted from a large database of mid-infrared spectra." *Animals* 9, no. 4 (2019): 176. <https://doi.org/10.3390/ani9040176>
- [4] Sanjayaranj, Inthujaa, Alastair KH MacGibbon, Stephen E. Holroyd, Patrick WM Janssen, Hugh T. Blair, and Nicolas Lopez-Villalobos. "Association of single nucleotide polymorphism in the DGAT1 gene with the fatty acid composition of cows milked once and twice a day." *Genes* 14, no. 3 (2023): 767. <https://doi.org/10.3390/genes14030767>
- [5] Li, Yunhai, Huitong Zhou, Long Cheng, Grant R. Edwards, and Jonathan GH Hickford. "Effect of DGAT1 variant (K232A) on milk traits and milk fat composition in outdoor pasture-grazed dairy cattle." *New Zealand Journal of Agricultural Research* 64, no. 1 (2021): 101-113. <https://doi.org/10.1080/00288233.2019.1589537>
- [6] Winter, Andreas, Wolfgang Krämer, Fabian AO Werner, Sonja Kollers, Srinivas Kata, Gregor Durstewitz, Johannes Buitkamp, James E. Womack, Georg Thaller, and Ruedi Fries. "Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, no. 14 (2002): 9300-9305. <https://doi.org/10.1073/pnas.142293799>
- [7] Thaller, G., Ch Kühn, A. Winter, G. Ewald, O. Bellmann, J. Wegner, H. Zühlke, and R. Fries. "DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle." *Animal genetics* 34, no. 5 (2003): 354-357. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.2003.01011.x>
- [8] Rahmatalla, S., M. ReiBmann, U. Mueller, and G. Brockmann. "Identification of genetic variants influencing milk production traits in Sudanese dairy cattle." *Res J Anim Sci* 9, no. 2-4 (2015): 12-22.
- [9] Grisart, Bernard, Wouter Coppieters, Frédéric Farnir, Latifa Karim, Christine Ford, Paulette Berzi, Nadine Cambisano et al. "Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition." *Genome research* 12, no. 2 (2002): 222-231. <https://doi.org/10.1101/gr.224202>
- [10] Tăbăran, A., V. A. Balteanu, E. Gal, D. Pusta, R. Mihaie, S. D. Dan, A. F. Tăbăran, and M. Mihaie. "Influence of DGAT1 K232A polymorphism on milk fat percentage and fatty acid profiles in Romanian Holstein cattle." *Animal biotechnology* 26, no. 2 (2015): 105-111. <https://doi.org/10.1080/10495398.2014.933740>
- [11] Li, Xu, Garrick WK Spencer, Lydia Ong, and Sally L. Gras. "Beta casein proteins—A comparison between caprine and bovine milk." *Trends in Food Science & Technology* 121 (2022): 30-43. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.023>
- [12] Berry, Donagh P., Dawn Howard, Pdraig O'Boyle, S. Waters, J. F. Kearney, and Matthew McCabe. "Associations between the K232A polymorphism in the diacylglycerol-O-transferase 1 (DGAT1) gene and performance in Irish Holstein-Friesian dairy cattle." *Irish Journal of Agricultural and Food Research* (2010): 1-9.