

DOI: 10.21009/Bioma19(1).3

Research article

ANALISIS KEANEKARAGAMAN GEN *MYOSTATIN* (*MSTN*) SECARA *IN-SILICO* PADA *CATTLE* DI INDONESIA

Naufal Ma'arif^{1*}, Hanum Isfaeni¹, Asep Gunawan²¹ Program Studi Pendidikan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Jakarta² Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, IPB University

* Corresponding author: nmaarif25@gmail.com

ABSTRACT

Cattle is one of the largest livestock products in Indonesia. The purpose of this study was to determine the diversity of the myostatin (*MSTN*) gene found in several cattle in Indonesia. This research was a descriptive analysis research based on several literature studies. Gene data was taken from the National Center for Biotechnology Information (NCBI). The gene data taken were from several species such as *Bos indicus*, *Bos indicus*×*Bos taurus*, and *Bos taurus* acts as an in-group found in Indonesia. Meanwhile, several species of *Bubalus bubalis*, *Capra hircus*, and *Cervis* sp. which are members of the Bovidae family were selected as outgroups. DNA sequence data analysis was aligned using MEGA XI software. *MSTN* gene parameters showed the results between the kinship of several cattle in Indonesia. From these results it can be found that there were still several species of cattle in Indonesia that were not yet found in the NCBI database on the *MSTN* gene. For example, Madura cattle (*Bos javanicus*), PO Kebumen, PO Aceh, and several livestock products that do not yet have the *MSTN* gene characterization database. Therefore, to improve the quality of beef in Indonesia, it is necessary to characterize the *MSTN* gene in several species that are not yet in the database as a benchmark for the quality level of cattle in Indonesia.

Keywords: *Cattle*, *MSTN*, Gene, *In-silico*

PENDAHULUAN

Cattle merupakan salah satu hasil peternakan terbesar di Indonesia. *Cattle* berbeda dengan sapi secara umum. Sapi (*cow*) hanya mengacu pada sapi betina dewasa, sementara itu, *cattle* mengacu pada seluruh jenis sapi tanpa melihat jenis kelamin. Pemilihan kata *cattle* lebih berfokus kepada hasil dari daging sapi yang dikembangkan. Sementara itu, penggunaan kata *cow* berfokus pada hasil perahan dari suatu sapi (Ginger, 2022).

Untuk memenuhi kebutuhan pangan, *cattle* perlu dikembangkan dengan memerhatikan kualitas dari hasil ternak (Agus & Widi, 2018). Terdapat beberapa jenis *cattle* yang dikembangkan di Indonesia seperti *Cattle* Madura, *Cattle* Bali, *Cattle* PO (peranakan Ongole), Semintal, Brahman, *Belgian blue*, dan *cattle* peranakan *Bos taurus*×*Bos indicus*. Untuk memperbaiki kualitas daging *cattle* untuk produksi daging yang berkualitas maka diperlukan beberapa pendekatan, seperti pendekatan nutrisi dan pangan yang baik. Selain itu, pendekatan perawatan kandang serta manajemen peternakan juga berperan penting dalam kualitas hasil daging dari *cattle*. Namun, selain faktor eksternal terdapat faktor internal yang turut mempengaruhi

kualitas produksi daging *cattle* seperti metabolisme dan gen. Gen merupakan salah satu faktor penting yang berperan dalam sifat (*trait*) daging *cattle* (Bordbar *et al.*, 2019; Khasanah *et al.*, 2016).

Beberapa gen penting yang berperan dalam sifat daging *cattle* seperti *DGATI* (*Diacylglycerol O-acyltransferase 1*) yang berperan dalam produksi asam lemak, gen *CYP2E1* (*Cytochrome P450 Family 2 Subfamily E Member 1*) yang berperan dalam kelembutan dan juga susut daging (Guo *et al.*, 2015). *Calpastatin* (*CAST*) merupakan gen yang terlibat dalam pemecahan otot protein dan berperan dalam kelembutan daging. Selain itu, terdapat *Insulin-like growth factor* (*IGF1*) yang berperan dalam diferensiasi sel-sel otot (Bordbar *et al.*, 2019). Gen lain yang berperan penting dalam sifat daging pada *cattle* adalah *myostatin* (*MSTN*). *Myostatin* merupakan salah satu gen yang berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan kualitas otot rangka pada *cattle* (Konovalova *et al.*, 2021a).

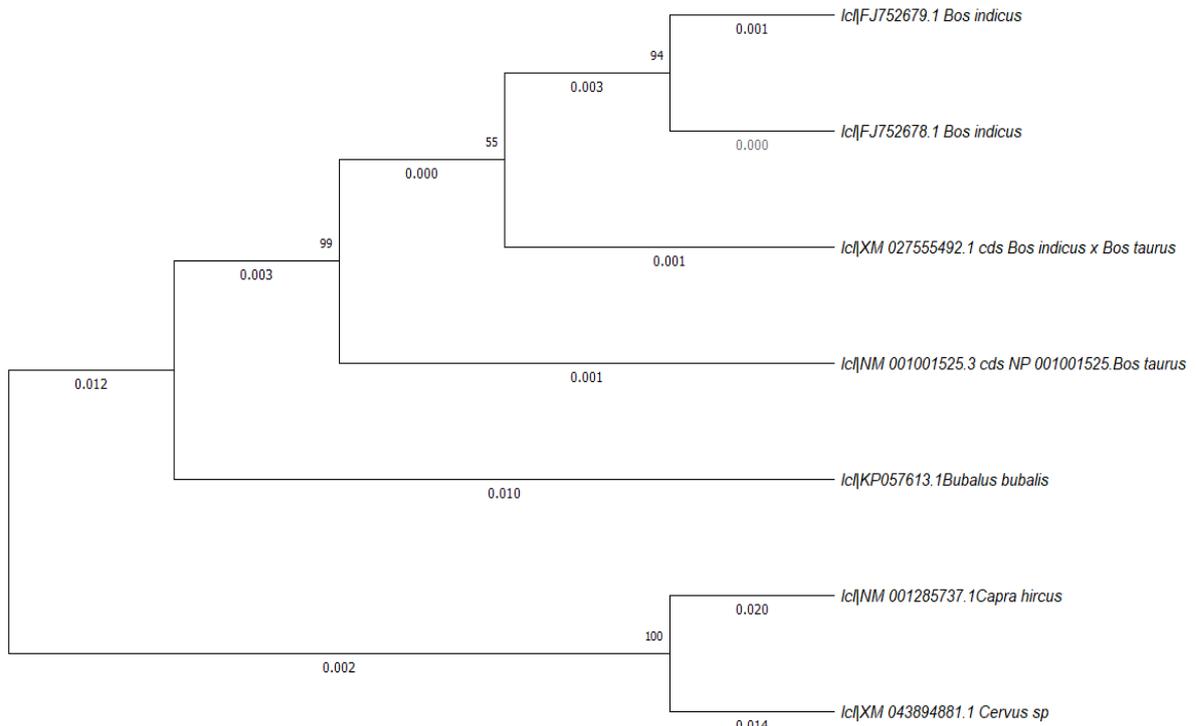
Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakterisasi gen *myostatin* (*MSTN*) yang terdapat pada beberapa *cattle* di Indonesia. Salah satu gen yang belum banyak diidentifikasi dan berperan cukup penting dalam peningkatan kualitas sifat *cattle* adalah *myostatin* (*MSTN*). Artikel ini akan membahas karakterisasi gen *MSTN* yang diambil dari beberapa spesies seperti *Bos indicus*, *Bos indicus*×*Bos taurus*, dan *Bos taurus*. Hasil dari prediksi karakterisasi ini dibandingkan dengan gen *MSTN* dari beberapa hewan yang nantinya memiliki peran penting dalam produksi hasil ternak di Indonesia (Daulay *et al.*, 2022).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian analisis deskriptif dengan berdasarkan pada studi literatur. Data gen diambil dari *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) dengan menggunakan gen *myostatin* (*MSTN*) dari beberapa spesies yaitu *Bos indicus*, *Bos indicus*×*Bos taurus*, dan *Bos taurus* sebagai *in group*. Selanjutnya dipilih beberapa spesies sebagai *outgroup* yaitu *Bubalus bubalis*, *Capra hircus*, dan *Cervis* Sp. *outgroup* dipilih berdasarkan karakteristik kedekatan secara evolusioner. Kedekatan *Bubalus bubalis*, *Capra hircus*, dan *Cervis* sp dengan *Bos* sp. merupakan kedekatan evolusioner karena masih merupakan famili Bovidae. Oleh karena faktor kedekatan evolusioner dan juga keragaman genetik yang cukup tinggi pada spesies ini, dipilihlah spesies tersebut sebagai *outgroup*. Data *Bubalus bubalis*, *Capra hircus*, dan *Cervis* sp. dianalisis sekuens (urutan) DNA disejajarkan menggunakan *software* MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021). Analisis data pada penelitian ini menggunakan model *Kimura 2-Parameter* (nilai *Bootsrap* 1,000) (Wiley & Lieberman, 2011).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dengan menggunakan sekuens dari NCBI pada spesies *Bos indicus* ACN65836 dan ACN65835 (kode gen. NCBI), *Bos taurus* 001001525, *Bos indicu*×*Bos taurus* 027411293. Didapatkan hasil analisis pada gen *MSTN* (*Myostatin*) pada **Gambar 1**. Dari pohon filogenetik yang dibuat dapat dilihat dengan menggunakan gen *MSTN* (*myostatin*). Hasil analisis *bootsrap* (1000) dengan menggunakan perhitungan metode *Kimura 2-Parameter* menjelaskan jarak setiap spesies. Model *Kimura 2-Parameter* dipilih karena peneliti ingin melihat ada di tingkat mana transisi dan transversi terjadi mungkin berbeda, sehingga model ini digunakan untuk menghitung dua cabang pada tingkatan yang berbeda.



Gambar 1. Hasil analisis Pohon filogenetik dengan menggunakan Software MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021).

Peneliti sengaja mengambil dua lokasi kromosom dari *Bos indicus* sebagai pembandingan bahwa kedua kromosom tersebut berasal dari spesies yang sama. Selain itu jarak antara *Bos indicus*×*Bos taurus* dengan *Bos indicus* menunjukkan kekerabatan yang cukup dekat dengan jarak sebesar 0,001 dan juga 0,003 dengan akurasi nilai *Bootsrap* 55. Angka ini sudah cukup baik untuk mengetahui terdapat kekerabatan antara *Bos taurus*×*Bos indicus* dengan *Bos indicus*. Selanjutnya adalah *Bubalus bubalis* masih termasuk dalam satu famili dengan *Bos taurus*. Famili tersebut tergolong ke dalam *Bovidae* yang merupakan keluarga berkuku belah dan termasuk hewan pemamah biak. Hasil analisis dari *Bootsrap* menunjukkan nilai 94 dengan jarak kekerabatan sebesar 0,003 sehingga dapat dikatakan bahwa *Bubalus bubalis* masih termasuk ke dalam *sister group* dari famili *Bovidae*.

Namun, untuk membandingkannya dengan *outgroup*, penulis memilih spesies *Capra hircus* (kambing) dan *Cervidae* (rusa) yang ternyata masih memiliki kekerabatan yang cukup dekat dengan parameter gen *MSTN*. Dapat dilihat ternyata *Capra hircus* termasuk ke dalam famili yang sama dengan dengan *Bubalus* dan *Bos* yaitu *Bovidae*, tetapi lebih dekat dengan *Cervus sp.* Kekerabatan tersebut berada pada jarak 0,012 dari *in group* *Bos* dan *Bubalus*.

Tabel 1. Analisis jarak genetik dari spesies *Bos taurus*, *Bos indicus*, *Bos taurus*×*Bos indicus* dengan menggunakan metode Kimura 2-Parameter (dengan nilai *Bootsrap* 1000).

Spesies	<i>Capra hircus</i>	<i>Bos indicus</i>	<i>Bubalus bubalis</i>	<i>B indicus</i>	<i>Cervus sp.</i>	<i>B taurus</i>	<i>B indicus</i> × <i>B taurus</i>
<i>Capra hircus</i>		0.006	0.006	0.006	0.005	0.005	0.005
<i>Bos indicus</i>	0.040		0.004	0.000	0.005	0.002	0.002
<i>Bubalus bubalis</i>	0.043	0.017		0.003	0.005	0.003	0.003
<i>Bos indicus</i>	0.039	0.000	0.016		0.005	0.001	0.001

<i>Cervus_sp</i>	0.033	0.034	0.037	0.033		0.005	0.005
<i>Bos_taurus</i>	0.037	0.004	0.014	0.003	0.031		0.001
<i>Bos_indicus</i> × <i>Bos_taurus</i>	0.037	0.004	0.014	0.003	0.031	0.001	

Tabel 1 tersebut menunjukkan jumlah substitusi basa per jarak dari antara urutan ditampilkan. Estimasi kesalahan standar ditunjukkan di atas diagonal. Analisis dilakukan dengan menggunakan model *2-parameter Kimura*. Analisis ini melibatkan 7 sekuens nukleotida. Posisi kodon yang disertakan adalah 1 + 2 + 3 + *Noncoding* (tanpa kode). Semua posisi yang memiliki makna samar telah dihapus untuk setiap pasangan urutan (opsi penghapusan berpasangan). Ada total 1128 posisi dalam dataset akhir. Analisis evolusioner dilakukan di MEGA 11.

Dari hasil tersebut jarak antara populasi spesies dapat dilihat bahwa jarak kekerabatan antar spesies pada *Bos indicus* dengan *Capra hircus* adalah 0,040 dengan std. 0,006. Sementara itu, *Bos indicus* dengan *bubalus bubalis* adalah 0,003. spesies *Bos taurus* dengan *Capra hircus* dan *Cervus sp.* adalah masing-masing 0,037 dan 0,031. Spesies persilangan antara *Bos indicus* dengan *Bos taurus* memiliki masing-masing jarak kekerabatan dengan *Capra hircus*, *Cervus sp.*, dan *Bubalus bubalis* adalah 0,037; 0,031; dan 0,014. Selain itu, pada *Bos taurus* memiliki jarak kedekatan genetic dengan sesamanya yaitu *Bos indicus* adalah 0,004.

Data tersebut menunjukkan masih terdapat beberapa spesies *cattle* yang belum terdapat karakteristik gen *MSTN* yang terdata di NCBI. Seperti contoh *Cattle Madura (Bos javanicus)*, PO kebumen, PO Aceh, dan beberapa hasil peternakan yang belum memiliki karakterisasi gen *MSTN*. Karakteristik khusus dari gen *MSTN* adalah eksonnya mengkode protein laten 375 asam amino yang menjadi aktif secara biologis setelah mengalami modifikasi pasca-translasi yang signifikan. Fragmen matang terminal-C 12 kDa dari *MSTN* memulai kaskade persinyalan intraseluler sesuai dengan pengikatan dan mengaktifkan reseptor aktivin tipe II di permukaan sel (Zhao *et al.*, 2022). Aktivasi reseptor *MSTN* juga menghambat aktivitas *Akt* (protein kinase B) yang menunjukkan peran penting dalam sintesis protein otot dan proliferasi sel. Mutasi yang mengganggu fungsi *MSTN* memiliki konsekuensi selama perkembangan dan menimbulkan serat otot supernumerer (hiperplasia) (Konovalova *et al.*, 2021b).

MSTN juga merupakan *sentromer bovine kromosom 2 (BTA 2)* dan dikodekan 375 asam amino kemudian menghasilkan protein *myostatin* dengan berat molekul 26 kDa (Kambadure *et al.*, 2004). *Myostatin* berperan penting dalam homeostasis otot skletal seperti menginduksi atrofi otot, poliferasi *myoblast*, meningkatkan *ubiquitin proteasomal*, *downregulation* jalur *IGF*, dan glukolisis (Elliott *et al.*, 2012). Fungsi gen *MSTN* adalah sebagai *inhibitor* (regulator negatif) proliferasi dan diferensiasi siklus sel selama miogenesis pada sel embrionik dan dewasa (Miyake *et al.*, 2010) (Grade *et al.*, 2019; Konovalova *et al.*, 2021b).

Myostatin diatur oleh beberapa faktor, termasuk faktor pertumbuhan, hormon, dan olahraga. *Insulin-like growth factor 1 (IGF-1)* dan *fibroblast growth factor (FGF)* telah terbukti menghambat ekspresi *myostatin* dan meningkatkan pertumbuhan otot. Testosteron dan androgen lainnya juga berperan dalam mengatur *myostatin*, dengan penelitian yang menunjukkan bahwa pengebirian menyebabkan peningkatan ekspresi *myostatin* dan penurunan massa otot. Selain itu, ekspresi *myostatin* diatur oleh berbagai jalur pensinyalan, termasuk jalur *Smad*, yang diaktifkan oleh pengikatan *myostatin* ke reseptornya, dan jalur *Akt/mTOR*, yang terlibat dalam sintesis protein otot (Bruno *et al.*, 2022; Grade *et al.*, 2019; Konovalova *et al.*, 2021b).

Pada beberapa penelitian gen *MSTN* juga ditemukan mengalami mutasi pada hewan terkhusus *cattle*. Mutasi pada gen *MSTN* telah diidentifikasi pada *Belgian Blue*, *Piedmontese*, *Aberdeen Angus*, *Limousin*, dan *Simmental*. Secara nyata jika dilihat *cattle* dengan mutasi gen *MSTN* memiliki bentuk tubuh yang lebih kekar (Bi *et al.*, 2020; Bruno *et al.*, 2022; Grade *et al.*, 2019). Seperti contoh, Mutasi *nt821 (del11)* dikaitkan dengan cacat genetik otot ganda pada

Belgian Blue, sedangkan mutasi *F94L* telah terbukti memiliki efek aditif pada sifat karkas pada beberapa jenis *cattle*. Namun, Mutasi pada *nt821 (del11)* dapat menyebabkan kesulitan melahirkan atau distosia pada *Belgian Blue* homozigot, yang mengarah pada meluasnya penggunaan bedah sesar (Gim *et al.*, 2022).

Karakterisasi gen *MSTN* akan sangat bermanfaat bagi beberapa *cattle* di Indonesia (Prihandini *et al.*, 2021). Namun, karakterisasi ini belum sepenuhnya dilakukan. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan tidak adanya data terkait gen *MSTN* pada *database* seperti NCBI terkhusus pada *cattle* di Indonesia. Manfaat dari karakterisasi gen *myostatin* ini adalah untuk meningkatkan kualitas otot rangka pada *cattle*. Manfaat lain dari karakterisasi gen *MSTN* adalah membantu peternak dalam melakukan seleksi genetik yang baik. Seleksi tersebut bertujuan untuk melihat *cattle* jenis mana yang memiliki pertumbuhan otot yang baik (Gaina & Amalo, 2022).

Peningkatan efisiensi dalam produksi daging *cattle* juga dapat dipengaruhi oleh gen *MSTN*. Gen *MSTN* yang berperan dalam pertumbuhan otot sehingga dapat mempercepat efisiensi produksi hasil ternak. Pertumbuhan massa otot yang baik juga cenderung menghasilkan daging dengan *trait* komposisi lemak yang sedikit. Pada beberapa spesies *cattle*, karakterisasi gen *MSTN* dapat membantu mengidentifikasi individu-individu yang memiliki potensi untuk menghasilkan daging yang lebih baik dari segi tekstur, rasa, dan nilai gizi. Dengan menjadikan *MSTN* sebagai *marker* (penanda molekuler), peternak dapat menentukan pemuliaan gen yang terbaik dalam perkawinan spesies *cattle* di Indonesia.

Oleh karena dengan mengetahui karakteristik gen *MSTN* pada *cattle* di Indonesia, peternak dapat membuat manajemen pengelolaan pemuliaan gen. Data genetik yang didapatkan dapat dioptimalkan dalam pemilihan induk dan meningkatkan *trait* (sifat) yang diinginkan ada pada ternak. Selain itu, peternak di Indonesia dapat mampu lebih bersaing dalam industri peternakan di pasar internasional dengan mengeluarkan produk-produk *cattle* dengan kualitas daging unggul.

SIMPULAN

MSTN merupakan gen yang berperan penting dalam karakterisasi *trait* daging *Cattle*. Selain itu, *myostatin* berperan penting dalam produksi otot pada rangka beberapa hewan termasuk pada spesies *cattle*. Analisis karakterisasi gen *MSTN* menunjukkan beberapa *cattle* di Indonesia berkerabat dekat dengan *cattle* yang berasal dari luar Indonesia. Namun, belum semua *MSTN* yang dikarakterisasi oleh beberapa peneliti seperti pada spesies *Bos javanicus*. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui karakterisasi gen *MSTN* pada seluruh *cattle* di Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus A, Widi TSM. 2018. Current situation and future prospects for beef cattle production in Indonesia - A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 31(7): 976–983. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0233>
- Bi Y, Feng B, Wang Z, Zhu H, Qu L, Lan X, Pan C, Song X. 2020. Myostatin (*MSTN*) gene indel variation and its associations with body traits in shaanbei white cashmere goat. *Animals* 10(1). <https://doi.org/10.3390/ani10010168>

- Bordbar F, Jensen J, Zhu B, Wang Z, Xu L, Chang T, Xu I, Du M, Zhang L, Gao H, Xu L, Li J. 2019. Identification of muscle-specific candidate genes in Simmental beef cattle using imputed next generation sequencing. *PLoS ONE* 14(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223671>
- Bruno S, Landi V, Senczuk G, Brooks SA, Almathen F, Faye B, Gaouar SSB, Piro M, Kim KS, David X, Eggen A, Burger P, Ciani E. 2022. Refining the *Camelus dromedarius* Myostatin Gene Polymorphism through Worldwide Whole-Genome Sequencing. *Animals* 12(16). <https://doi.org/10.3390/ani12162068>
- Daulay WL, Ningtias PI, Sumantri C, Jakaria J. 2022. Expression of Myostatin Gene in Belgian Blue and Ongole Grade Crossbred Cattle. *Buletin Peternakan* 46(1): 46–53. doi: 10.21059/buletinpeternak.v46i1.69784.
- Elliott B, Renshaw D, Getting S, Mackenzie R. 2012. The central role of myostatin in skeletal muscle and whole body homeostasis. *Acta Physiologica* 205: 324–340. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-1716.2012.02423>.
- Fedak G. 2022. *Exploited & Unnamed: What Do We Call Members of the Bovine Family?* [Www.Idausa.Org](http://www.idausa.org). <https://www.idausa.org/campaign/guardian/latest-news/difference-cows-cattle-meaning/>
- Gaina CD, Amalo FA. 2022. Genetic polymorphism of myostatin gene in Sumba Ongole (*Bos indicus*) cattle and its association with growth traits. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* 9(4): 565–572. <https://doi.org/10.5455/JAVAR.2022.I625>
- Gim GM, Kwon DH, Eom KH, Moon JH, Park JH, Lee WW, Jung DJ, Kim DH, Yi JK, Ha JJ, Lim KY, Kim JS, Jang G. 2022. Production of *MSTN*-mutated cattle without exogenous gene integration using CRISPR-Cas9. *Biotechnology Journal* 17(7). <https://doi.org/10.1002/biot.202100198>
- Grade CVC, Mantovani CS, Alvares LE. 2019. Myostatin gene promoter: structure, conservation and importance as a target for muscle modulation. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 10(1). <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0338-5>
- Guo B, Greenwood PL, Cafe LM, Zhou G, Zhang W, Dalrymple BP. 2015. Transcriptome analysis of cattle muscle identifies potential markers for skeletal muscle growth rate and major cell types. *BMC Genomics* 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1403-x>
- Khasanah H, Gunawan A, Priyanto R, Ulum MF, Jakaria. 2016. Polymorphism of Myostatin (*MSTN*) promoter gene and its association with growth and muscling traits in Bali cattle. *Media Peternakan* 39(2): 95–103. <https://doi.org/10.5398/medpet.2016.39.2.9>
- Kambadur R, Bishop A, Salerno MS, McVroskery S, Sharma M. 2004. Role of myostatin in muscle growth. P. 297-312. In: M. F. W Te Pas, M. E. Everts & H. P. Haagsman (ed). *Muscle development of livestock animals physiology, genetic and meat quality*. CABI, USA
- Konovalova E, Romanenkova O, Zimina A, Volkova V, Sermyagin A. 2021. Genetic variations and haplotypic diversity in the myostatin gene of different Cattle breeds in Russia. *Animals* 11(10): doi: 10.3390/ani11102810.
- Prihandini PW, Hariyono DNH, Tribudi YA. 2021. Myostatin Gene as a Genetic Marker for Growth and Carcass Traits in Beef Cattle. *Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences* 31(1): 37–42. doi: 10.14334/wartazoa.v31i1.2530.
- Tamura K, Stecher G, Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38: 3022–3027

Wiley EO, Lieberman BS. 2011. *Phylogenetics: Theory and Practice of Phylogenetic Systematics: Second Edition*, Phylogenetics: Theory and Practice of Phylogenetic Systematics: Second Edition. doi: 10.1002/9781118017883.

Zhao Y, Yang L, Su G, Wei Z, Liu X, Song L, Hai C, Wu D, Hao Z, Wu Y, Zhang L, Bai C, Li G. 2022. Growth Traits and Sperm Proteomics Analyses of Myostatin Gene-Edited Chinese Yellow Cattle. *MDPI Life* 12(5). <https://doi.org/10.3390/life>