

“Allah (Pemberi) cahaya (kepada) langit dan bumi. perumpamaan cahaya Allah, adalah seperti sebuah lubang yang tak tembus, yang di dalamnya ada Pelita besar. Pelita itu di dalam kaca (dan) kaca itu seakan-akan bintang (yang bercahaya) seperti mutiara, yang dinyalakan dengan minyak dari pohon yang berkahnya, (yaitu) pohon zaitun yang tumbuh tidak di sebelah timur (sesuatu) dan tidak pula di sebelah barat(nya), yang minyaknya (saja) hampir-hampir menerangi, walaupun tidak disentuh api. cahaya di atas cahaya (berlapis-lapis), Allah membimbing kepada cahaya-Nya siapa yang dia kehendaki, dan Allah memperbuat perumpamaan-perumpamaan bagi manusia, dan Allah Maha mengetahui segala sesuatu”.

(QS. An Nuur : 35)

**HUBUNGAN DAYA TAHAN PANAS DAN GEN HSP 70
(HEAT SHOCK PROTEIN) PADA SAPI BALI DAN BALI
PERSILANGAN DIKAITKAN DENGAN RIWAYAT
KEKEMBARAN**

*THE RELATIONSHIP BETWEEN HEAT RESISTANCE AND
HSP 70 GENE (HEAT SHOCK PROTEIN) IN BALI AND BALI
CROSS CATTLE IN RELATION WITH TWIN HISTORY*

NIRWANA MUIN

P0100210009



**SISTEM-SISTEM PERTANIAN
PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**HUBUNGAN DAYA TAHAN PANAS DAN GEN HSP 70
(HEAT SHOCK PROTEIN) PADA SAPI BALI DAN BALI
PERSILANGAN DIKAITKAN DENGAN RIWAYAT
KEKEMBARAN**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Sistem-Sistem Pertanian

Disusun dan diajukan oleh

NIRWANA MUIN

Kepada

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013
TESIS**

**HUBUNGAN DAYA TAHAN PANAS DAN GEN HSP 70
(HEAT SHOCK PROTEIN) PADA SAPI BALI DAN BALI
PERSILANGAN DIKAITKAN DENGAN RIWAYAT
KEKEMBARAN**

Disusun dan diajukan oleh :

NIRWANA MUIN

Nomor Pokok P 0100210009

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

Pada tanggal 19 Agustus 2013

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat

**Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA. DES
M.Sc**

Ketua

Ketua Program Studi
Pascasarjana
Sistem-Sistem Pertanian,

Prof. Dr. Ir. Syamsuddin Garantjang,

Anggota

Direktur Program
Universitas Hasanuddin,

Prof. Dr.Ir. Kaimuddin, M.Sc

Prof. Dr.Ir. Mursalim

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : NIRWANA MUIN

Nomor Pokok : P0100210009

Program Studi : Sistem-Sistem Pertanian

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apanila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebahagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Agustus 2013

NIRWANA MUIN

PRAKATA

Alhamdulillah ashsholatu wassalamu ala Rasulillah wa ala alihi wasahbihi ajmai'n amma ba'ad. Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Azza WaJalla atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul "Hubungan daya tahan panas dan gen HSP 70 (Heat Shock Protein) pada sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat kekembaran" pada Program Studi Sistem-sistem Pertanian Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis menyadari bahwa tesis ini dapat selesai berkat bantuan dan partisipasi berbagai pihak, maka dalam kesempatan ini dengan ketulusan hati dan keikhlasan penulis menghaturkan terima kasih kepada :

1. Direktur Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Prof. Dr. Ir. Mursalim.
2. Ketua Program Studi Sistem-Sistem Pertanian, Prof. dr. Ir. Kaimudin, MS.
3. Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA. DES. dan Prof. Dr. Ir. Syamsuddin Garantjang, M.Sc selaku pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam menyelesaikan karya akhir ini.
4. Prof. Dr. Ir. Sudirman Baco, M.Sc, Prof. Dr. Ir. Jasamal A. Syamsu, M.Sc dan Dr. Muhammad Yusuf, S.Pt selaku tim penguji atas kesedian waktunya dan saran-sarannya dalam melengkapi tesis ini.

5. Teman-teman di Jurusan Sistem-Sistem Pertanian dan prodi Ilmu dan Teknologi Peternakan atas ukhuwah dan kerjasamanya.
6. Teman penelitian yang begitu mendukung dan membantu, saling menyemangati ketika godaan untuk berhenti begitu besar, Nurul Purnomo, S.Pt, M.Si dan kak Rasyidah Mappanganro, S.Pt, M.Si. Terima kasih atas pengertian dan kerjasamanya selama ini.
7. Teman-teman seperjuangan di Lembaga Muslimah DPP Wahdah Islamiyah atas bantuan doa dan semangat.
8. *Special thanks for all my friends* para “siloer” atas begitu banyak cerita kebersamaan dan mimpi yang terajut bersama, semoga ukhuwah ini kekal hingga ke syurga dan kepada teman yang jauh dimata tapi begitu dekat di hati ukhti Sarni dan ukhti Dewi atas dorongan dan motivasi agar tak pernah bosan menyelesaikan tugas akhir ini.
9. Saudara terkasih dan tercinta, kak Nur Asri, kak Murniati Muin, S.Pd, kak Nur Askin, S.ST, kak Megawati Muin, S.Pd, Hijrayanti Sari, S.Sos., M.Kom, Syarif Al Qadri, S.Kom dan Dede Saputra, terimakasih atas segala motivasi dan doa yang diberikan hingga tesis ini dapat dirampungkan.
10. Akhirnya ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua saya H. Abdul Muin dan Hj. Saripati atas dukungan, motivasi dan doa untuk penulis, sungguh jasa kalian tidak akan pernah mampu untuk penulis balas.

11. Dan kepada semua pihak yang tidak sempat penulis sebutkan pada kesempatan ini, penulis haturkan jazakumullahu khairan.

Penulis berharap agar tesis ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya bagi masyarakat pada umumnya dan keilmuan bidang peternakan khususnya.

Makassar , Agustus 2013

Penulis

ABSTRAK

NIRWANA MUIN. *Hubungan Daya Tahan Panas dan Gen HSP 70 (Heat Shock Protein) pada Sapi Bali dan Bali Persilangan Dikaitkan dengan Riwayat Kekembaran* (dibimbing oleh Herry Sonjaya dan Syamsuddin Garantjang).

Tujuan penelitian ini adalah melihat hubungan antara daya tahan panas ternak dengan gen HSP 70 pada sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat kekembaran.

Penelitian telah dilaksanakan pada peternakan rakyat di Kabupaten Bantaeng Sulawesi Selatan dan Kabupaten Polman Sulawesi Barat serta di Laboratorium Biologi Molekuler Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin pada bulan Januari sampai dengan Juni 2013. Variable yang diamati dalam penelitian ini adalah daya tahan panas sapi Bali dan Bali persilangan dengan hasil uji PCR-RFLP gen HSP 70 BSoB1 pada sapi bali dan Bali Persilangan dengan riwayat kekembaran. Sampel yang digunakan yaitu : Induk Bali tunggal (8 ekor), induk Bali kembar (4 ekor), induk Bali persilangan tunggal (8 ekor) dan induk Bali persilangan kembar (3 ekor). Primer HSP 70 yang digunakan adalah *forward* GCCAGGAAACCAGAGACAGA-3 dan *revers* CCTACGCAGGAGTAGGTGGT-3 dan digesti menggunakan enzim BSoB1. Analisis data melihat perbedaan daya tahan panas sapi Bali dan Bali persilangan dengan menggunakan program SPSS 17 dan analisis data terhadap frekuensi alel, frekuensi genetic, heterozigositas, keseimbangan *Hardy-Weinberg* menggunakan persamaan Nei and Kumar (2000), hubungan fenotipe kelahiran kembar dan tunggal dengan genetic gen HSP 70 dianalisa menggunakan program SPSS 17

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa tidak terdapat perbedaan daya tahan panas antara sapi Bali dan Bali persilangan yang memiliki riwayat kekembaran, gen HSP 70 BSoB1 pada sapi Bali dan sapi Bali persilangan kembar bersifat monomorfik. Adapun sapi Bali tunggal dan sapi Bali persilangan tunggal bersifat polymorfik dalam keseimbangan *Hardy-Weinberg*. tidak terdapat perbedaan genotype antara sapi Bali kembar dan sapi Bali persilangan kembar tapi terdapat perbedaan dengan sapi Bali tunggal dan sapi Bali persilangan tunggal. Sebagai kesimpulan, tidak terdapat hubungan yang signifikan antara daya tahan panas dengan gen HSP 70 pada sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat kekembaran.

Kata kunci : Sapi bali, daya tahan panas, gen HSP 70, kelahiran kembar

ABSTRACT

NIRWANA MUIN. *The Relationship Between Heat Resistance And HSP 70 Gene (Heat Shock Protein) In Bali And Bali Cross Cattle In Relation With Twin History* (Supervised by **Herry Sonjaya** and **Syamsuddin Garantjang**)

This study aims to find out the relationship between heat resistance and HSP 70 gene in Bali and Bali cross cattle in relation with twin history.

The research was conducted at the farms in Bantaeng district, South Sulawesi and Polman district, West Sulawesi; and the Molecular Biologi Laboratory of Hasanuddin University Teaching Hospital from January to June 2013. The variables observed in the study were heat resistance of Bali and cross Bali cattle with twin history. The samples were 8 single Bali cows, 4 twin Bali cows, 8 single Bali cross cows and 3 twin Bali cross cows. The HSP 70 primer used in the research was forward GCCAGGAAACCAGAGACAGA-3' and reverse CCTACGCAGGAGTAGGTGGT-3'; while the digestion used BSoB1 enzyme. The data were analysed to find out the difference between the heat resistance of Bali and Bali cross cattle by using SPSS 17 program. The analysis of allele frequency, genetic frequency, heterozygosity and *Hardy-Weinberg* balance used the equation of Nei and Kumar (2000). The phenotype relationship between twin and single birth, and the genetic characteristic of HSP 70 gene were analysed by using SPSS 17 program.

The results revealed that there was no difference between the heat resistance of Bali and Bali cross cattle that had twin history. HSP 70 BSoB1 gene in twin Bali cattle and twin Bali cross cattle had monomorphic characteristic; while the single Bali cattle and single Bali cross cattle had polymorphic characteristics in the *Hardy-Weinberg* balance. There was no genotype difference between twin Bali cattle and twin Bali cross cattle, but a difference was identified between single Bali cattle and single Bali cross cattle.

Keywords : Bali cattle, heat resistance, HSP 70 gene, twin birth.

DAFTAR ISI

Halaman

PRAKATA	vi
ABSTRAK	ix
<i>ABSTRACT</i>	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Identifikasi dan Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Kegunaan Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Sapi Bali dan Persilangannya	8
B. Dampak Cekaman Panas Terhadap Produktivitas Ternak Sapi.....	8
C. Keragaman Fenotipik dan Genotipik	8

D. Gen Heat Shock Protein	14
E. Metode PCR-RFLP	20
F. Kelahiran Kembar pada Sapi	23
G. Kerangka Konsep	27
H. Hipotesa	27
III. METODE PENELITIAN	32
A. Waktu dan Tempat Penelitian	34
B. Tahapan Penelitian	34
A. Daya Tahan Panas	36
A.1. Materi	37
A.2. Metode	37
A.3. Analisa Data	37
B. Identifikasi Gen HSP 70	37
B.1. Bahan dan Alat Penelitian	37
B.2. Prosedur Penelitian	37
B.3. Analisa Data	37
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	45
A. Daya Tahan Panas	45
B. Identifikasi Gen HSP 70	50
V. KESIMPULAN DAN SARAN	60
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN	71

DAFTAR TABEL

nomor	<u>Uraian</u>	Hal.
1.	Campuran bahan untuk proses PCR	42
2.	Rata-rata Suhu Rektal, Pernafasan dan nilai BC (Benezra Coefficient) Pada Sapi Bali dan Bali Persilangan dengan Riwayat kekembaran	46
3.	Frekuensi Alel, Frekuensi Genotip, Heterzigositas dan Keseimbangan Hardy-Weinberg Gen HSP 70 pada Sapi Bali dan Bali persilangan	55
4.	Hubungan daya tahan panas (BC) dengan gen HSP 70 pada sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat kekembaran	58

DAFTAR GAMBAR

nomor	<u>Uraian</u>	Hal.
1.	Kerangka Konsep	35
2.	Pita amplifikasi fragmen gen HSP 70 dengan metode PCR pada sapi Bali dan Bali persilangan dengan Riwayat kekembaran	51
3.	Pola pita gen HSP 70 sapi Bali dalam gel agarose 2 menggunakan Enzim restriksi BSoB1	53

DAFTAR LAMPIRAN

nomor	<u>Uraian</u>	Hal.
1.	Hasil pengamatan suhu tubuh, pernafasan dan daya tahan Panas sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat Kekembaran	71
2.	Genotipe Sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat Kekembaran.	73
3.	Analisa frekuensi alel, genotipe, heterozogositas dan Keseimbangan Hardy-Weinberg	74
4.	Genotipe pengamatan, harapan dan keseimbangan hardy-Weinberg HW pada sapi Bali dan Bali persilangan Dengan riwayat kekembaran	75
5.	Rekapitulasi hasil restriksi menggunakan enzim BSoB1 pada Sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat Kekembaran.	76
6.	Hasil restriksi Gen HSP 70 menggunakan enzim BSoB1	77

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Seiring dengan pertumbuhan penduduk yang semakin meningkat berdampak pada peningkatan kebutuhan daging sebagai kebutuhan protein masyarakat. Jumlah penduduk Indonesia tahun 2010 sebanyak 237 641 326 jiwa (BPS, 2013) dan akan semakin meningkat setiap tahunnya dengan peningkatan penduduk 1,6 %. Peningkatan penduduk ini selayaknya diiringi dengan peningkatan produksi sapi sebagai salah satu pemasok komoditi daging yang paling diminati masyarakat. Jumlah sapi potong di Indonesia tahun 2010 sebanyak 13.581.570 ekor (Disnak, 2013) dimana ketersediaan sapi potong ini belum mampu memenuhi kebutuhan daging di Indonesia. Hal ini terlihat dari jumlah konsumsi daging di Indonesia yang hanya mencapai 6,85 Kg/Kapita/Tahun (Disnak, 2010). Tingginya permintaan dan kurangnya persediaan akan menyebabkan terjadinya peningkatan impor daging untuk memenuhi permintaan masyarakat.

Pemasok kebutuhan daging di Sulawesi Selatan yang paling besar adalah sapi Bali. Sapi Bali merupakan salah satu dari empat sapi lokal utama (Aceh, Pesisir, Madura dan Bali) di Indonesia. Keunggulan sapi Bali antara lain memiliki tingkat fertilitas tinggi (80% - 82 %), daya adaptasi

yang baik terhadap lingkungan baru, produksi karkas yang tinggi, heterosis positif tinggi pada persilangan (Noor et al, 2001). Beberapa sifat produksi dan reproduksi tersebut merupakan sifat ekonomis dan biologis penting yang dapat digunakan sebagai indikator seleksi (Handirawan dan Sundariyo, 2004)

Upaya untuk peningkatan produktivitas dari ternak sapi Bali terus digalakkan. Keberhasilan produksi ternak disebabkan oleh dua hal yaitu genetik dan lingkungannya. Faktor genetik diturunkan oleh tetuanya baik dari induk jantan dan betinanya. Jika genetik tetuanya bermutu maka diharapkan keturunannya memiliki genetik yang tinggi. Disamping itu walaupun genetiknya bermutu tinggi tapi tidak didukung dengan lingkungan yang optimal maka produksi ternak tidak akan maksimal.

Sapi kembar berpeluang meningkatkan produksi sapi di Sulawesi Selatan, dimana telah terdapat bukti di Propinsi ini dengan frekuensi kelahiran kembar pada berbagai bangsa sapi berkisar 0,02 persen (Sonjaya dkk., 2009). Secara alamiah kelahiran sapi kembar memang sangat jarang terjadi. Menurut Lutledge (1975) sapi merupakan hewan ovulasi tunggal, dan frekuensi kelahiran kembar dizigot berkisar kurang dari 1 % untuk breed Inggris, 2 sampai 4 % untuk breed Kontinental dan lebih dari 4 % untuk breed sapi perah. Menurut Echternkamp (2000) dengan seleksi kembar, angka kelahiran kembar pada sapi meningkat secara linear dari 4 % pada tahun 1984 menjadi 35 % pada tahun 1996. Dengan adanya peningkatan persentase kelahiran kembar di Eropa

dengan cara seleksi diharapkan Sulawesi Selatan mampu meningkatkan persentase kekembaran yang dapat meningkatkan populasi ternak di Sulawesi Selatan.

Karakteristik genetik pada ternak banyak disebabkan oleh kondisi lingkungan. Rata-rata efek dari sebuah gen tergantung pada keadaan yang ekstrim akan diekspresikan oleh genetika lingkungan yang dibawa oleh gen tersebut yang dapat memberikan perubahan fenotipik sampai intra-lokus dominan, epistatis terhadap lokus yang mekanisme fungsinya berhubungan dengan lingkungan fisik dimana mempunyai dampak terhadap fenotipik, hal tersebut disebabkan dasar fisiologis menyebabkan dampak pada penampilan sifat yang diobservasi pada daerah yang berbeda. (Noor et al, 2001).

Kemampuan ternak sapi beradaptasi terhadap lingkungan yang marginal berpengaruh terhadap kemampuan reproduksinya hal ini ditunjukkan dari kemampuan reproduksi yang beragam pada kondisi lingkungan yang berbeda. Tingginya temperatur lingkungan akan menyebabkan cekaman panas (*Heat shock*) dan akan lebih diperparah lagi dampaknya bila kelembaban udara tinggi sehingga dapat menyebabkan penurunan tingkat kebuntingan pada sapi betina (Sprot et al, 2001; Ingraham et al 1974).

Salah satu faktor genetik yang mempunyai peranan dalam adaptasi terhadap cekaman panas adalah gen *Heat Shock Protein* (HSP). Heat

shock protein adalah suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat shock response* (HSR). Ekspresi gen HSP dapat diinduksi oleh berbagai macam stressor, diantaranya kenaikan temperatur, mutasi dan pengaruh lingkungan (Westerheide and Morimoto, 2005). Pada sapi Bali yang berada di daerah tropis seperti di Sulawesi Selatan, ekspresi Gen HSP sangat bergantung pada kondisi ternak dan lingkungan ternak tersebut. Berbeda dengan sapi sub tropis yang hidup di daerah tropis, dimana lingkungan hidupnya berbeda dengan lingkungan asalnya. Kemungkinan ekspresi gen HSP antara sapi Bali yang merupakan sapi lokal berbeda dengan sapi sub tropis yang lingkungan asalnya berbeda dengan lingkungan di Sulawesi selatan.

Cekaman panas berpengaruh secara tidak langsung pada munculnya kelahiran kembar dimana pada proses kelahiran kembar baik yang monozigot dan dizigot ketika terjadi perkembangan embrio menjadi dua sangat peka terhadap perubahan temperatur. Perlu penelitian yang lebih lanjut untuk melihat perbedaan kemampuan ternak sapi Bali dan persilangan yang memiliki riwayat kembar beradaptasi dengan cekaman panas dan mengidentifikasi gen HSP 70 yang berfungsi pada peningkatan produksi ternak. Oleh sebab itu dilakukan penelitian **Hubungan Daya Tahan Panas dan Gen HSP 70 pada Sapi Bali dan Bali Persilangan Dikaitkan dengan Riwayat Kekembaran**

B. Identifikasi dan Rumusan Masalah

Sapi Bali merupakan sapi lokal Indonesia yang didomestikasi dari *Bos banteng*. Salah satu keunggulan sapi Bali adalah adaptasi terhadap lingkungannya yang tinggi. Sapi Bali memiliki daya tahan panas (*heat tolerance*) yang lebih tinggi dibandingkan sapi lokal Indonesia lainnya. Salah satu respon lingkungan yang cukup berpengaruh terhadap produktivitas adalah kemampuan untuk mengatasi cekaman panas lingkungan. Disamping itu terdapat sebuah gen dalam tubuh ternak yang bertugas untuk merespon cekaman panas tersebut yaitu gen HSP 70. Gen HSP 70 merupakan protein yang muncul setelah sel mengalami cekaman panas dan berfungsi menjamin perlindungan sel bila terjadi cekaman panas berikutnya dan induksi cekaman lainnya (David et al, 2001)

Kemampuan ternak menghadapi stress cekaman panas dapat mempengaruhi proses reproduksi ternak. Cekaman panas pada tingkat embrio mempengaruhi jumlah embrio dua tahap sel dan empat – delapan sel tetapi tidak mempengaruhi perkembangan morula yang sedang bertumbuh. Atau dengan kata lain cekaman panas sangat berpengaruh terhadap perkembangan embrio dua sel menjadi tahap balstosis. (Edward and Hansen, 1997). Untuk sapi pejantan cekaman panas dapat menurunkan kualitas semen selama 8 minggu setelah pejantan mendapat perlakuan cekaman panas (Meyyerhofer et al, 1985).

Rumusan masalah :

1. Apakah terdapat perbedaan daya tahan panas sapi Bali dengan sapi Bali persilangan dengan riwayat kekembaran?
2. Apakah terdapat polymorphisme gen HSP 70 (*Heat shock protein*) pada sapi Bali dan sapi Bali persilangan dengan riwayat kekembaran?
3. Apakah terdapat hubungan antara daya tahan panas ternak dengan gen HSP 70 pada sapi Bali dan sapi Bali persilangan dengan riwayat kekembaran?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah

1. Untuk melihat kemampuan daya tahan panas sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat kekembaran
2. Mengidentifikasi gen HSP 70 (*Heat Shock Protein*) menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat kekembaran.
3. Untuk melihat hubungan antara daya tahan panas ternak dengan gen HSP 70 pada sapi Bali dan sapi Bali persilangan dengan riwayat kekembaran.

D. Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah :

1. Kegunaan teoritis : diharapkan menjadi salah satu informasi dasar tentang kemampuan daya tahan panas dan manfaat gen HSP 70 (*Heat Shock Protein*) pada sapi Bali dan persilangannya sehingga mampu mengaplikasikannya dalam upaya peningkatan produksi sapi.

2. Kegunaan praktis :

- a. Bagi penulis :

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan penulis terhadap ilmu-ilmu peternakan khususnya genetika, fisiologi dan reproduksi ternak dan dapat mengaplikasikannya di lapangan.

- b. Bagi stake holder :

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi tambahan bagi stake holder yang berkepentingan terhadap peningkatan populasi dan produksi daging sapi di Indonesia, sehingga program swasembada daging sapi dapat tercapai yang pada gilirannya dapat meningkatkan pembangunan manusia Indonesia melalui peningkatan konsumsi daging.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Sapi Bali dan Persilangannya

Menurut Romans et al., (1994) dan Blakely dan Bade, (1992) bangsa sapi mempunyai klasifikasi taksonomi sebagai berikut :

Phylum	: <i>Chordata</i>
Subphylum	: <i>Vertebrata</i>
Class	: <i>Mamalia</i>
Sub class	: <i>Theria</i>
Infra class	: <i>Eutheria</i>
Ordo	: <i>Artiodactyla</i>
Sub ordo	: <i>Ruminantia</i>
Infra ordo	: <i>Pecora</i>
Famili	: <i>Bovidae</i>
Genus	: <i>Bos (cattle)</i>
Group	: <i>Taurinae</i>
Spesies	: <i>Bos taurus</i> (sapi Eropa) <i>Bos indicus</i> (sapi India/sapi zebu) <i>Bos sondaicus</i> (banteng/sapi Bali)

Secara garis besar, bangsa-bangsa sapi (*Bos*) yang terdapat di dunia ada dua, yaitu (1) kelompok sapi Zebu (*Bos Indicus*) atau jenis sapi

yang berpunuk, yang berasal dan tersebar di daerah tropis serta (2) kelompok *Bos Primigenius* sapi tanpa punuk yang tersebar di daerah sub tropis atau dikenal *Bos Taurus*. Seiring perkembangan teknologi sampai sekarang diperkirakan terdapat lebih dari 300 bangsa sapi potong. Semua sapi domestik berasal dari *Bos Taurus* dan *Bos Indicus*

Sapi Bali merupakan sapi potong asli Indonesia yang merupakan hasil domestikasi dari banteng (*Bibos banteng*) adalah jenis sapi yang unik, hingga saat ini masih hidup liar di Taman Nasional Bali Barat, Taman Nasional Baluran dan Taman Nasional Ujung Kulon. Sapi asli Indonesia ini sudah lama didomestikasi suku bangsa Bali di pulau Bali dan sekarang sudah tersebar di berbagai daerah di Indonesia. Ciri-ciri sapi Bali adalah warna bulu pada waktu pedet berwarna sawo matang dan kemerahan kadang pada sapi betina tidak berubah warnanya dan jantan dewasa menjadi berwarna hitam; berat badan untuk jantan 450 kg sedang pada sapi betina 350 kg; bertanduk mempunyai bercak putih pada pantat (bentuk setengah lingkaran), bibir bawah tepi dan bagian dalam telinga serta keempat kakinya mulai dari tarsus dan carpus ke bawah sampai lutur berwarna putih dan pada pinggiran punggung terdapat garis hitam (Murtidjo, 1992)

Populasi ternak sapi Bali (*Bos Sondaicus*) telah menyebar luas di seluruh Indonesia. Populasi sapi Bali di Indonesia mencapai 3,5 juta ekor atau sekitar 26 % dari total sapi potong yang ada di Indonesia dan sampai

saat ini penyebaran populasi sapi Bali terkonsentrasi di Sulawesi Selatan, Bali dan Lombok (Gontoro, 2002).

Sapi Bali memiliki banyak keunggulan. Salah satunya adalah memiliki adaptasi terhadap lingkungan. Sapi Bali memiliki daya tahan panas (*heat tolerance*) yang lebih tinggi dan memiliki tenaga yang cukup sebagai tenaga kerja ternak serta tahan lama digunakan sebagai ternak pekerja. Sapi Bali cenderung lebih mampu mencerna hijauan bergizi rendah (serta tinggi) dibandingkan dengan jenis sapi Eropa, karena memiliki kandungan urea dalam darah sapi Bali lebih tinggi dibandingkan sapi Brahman atau Shorthorn (Guntoro, 2002). Sapi Bali juga memiliki sifat yang mudah dilahirkan dan dijinakkan kembali (ternak perintis), sehingga mudah dikembangkan di daerah minim pakan bergizi, daerah baru (daerah transmigran) dan daerah tepi hutan sebagai ternak pendahulu.

Sapi Bali sebagai ternak domestik Indonesia yang berasal dari hasil domestikasi Banteng liar *Bos Banteng* (Namikawa, et al, 1980), *Bos javanicus*, *Bos sondaicus* (Payne and Hodges, 1997), memiliki karakteristik genetik yang khas. Hal tersebut disebabkan, sapi Bali hidup dan didomestikasi di daerah tropis sehingga lingkungan mempengaruhi sifat fenotipik dan genotipiknya. Kondisi tersebut yang membuat sapi Bali berbeda dengan bangsa sapi lain di dunia.

Kemampuan sapi Bali beradaptasi pada lingkungan yang marginal menjadi hal yang penting, disebabkan kemampuan tersebut tidak dimiliki

oleh beberapa bangsa sapi lainnya. Sapi Bali dapat memanfaatkan pakan dengan kualitas rendah, mempunyai fertilitas dan *conception rate* yang sangat baik (Oka dan Dramadja, 1996) dan memiliki daging berkualitas baik dengan kadar lemak rendah (Bugiwati, 2007).

Penampilan reproduksi sapi Bali yaitu nilai *service per conception* 1,22 (Davendra *et al.*, 1973), antara 1-2 (Lubis dan Sitepu, 1998), Lama kebuntingan (*pregnancy rate*) sekitar 276-295 hari (Lubis dan Sitepu, 1998). Sapi Bali beranak pertama pada umur antara 29-39 bulan, rataan panen anak 60% dan jarak beranak berkisar antara 14-19 bulan (Liwa, 1990). Kemudian rata-rata kembali birahi setelah beranak (estrus post partus) antara 106-165 hari (Lubis dan Sitepu, 1998); Sedangkan jarak beranak (*calving interval*) dilaporkan antara 351-440 hari (Lubis dan Sitepu, 1998). Jarak beranak yang ideal adalah 12 bulan (Bozwort *et al.*, 1971), atau antara 12-14 bulan (Jainudeen dan Hafez, 1987). Rataan produksi susu sapi Bali 1,8 liter per hari selama 4 bulan sesudah beranak dan rataan produksi susu selama masa laktasi 10 bulan adalah 1,1 liter per hari. Produksi susu tertinggi terjadi pada induk laktasi ketiga dan keempat. Bobot badan anak sapi sangat dipengaruhi oleh umur dan produksi susu induk serta jenis kelamin anak (Liwa, 1990).

Rata-rata berat sapih dan penambahan berat badan (PBB) sapi Bali lebih rendah dari bangsa sapi Brahman cross. Berat sapih sapi Bali 87,46 kg lebih rendah dari sapi Brahman cross 150,14 kg. penambahan

berat badan sapi Bali 0,50 kg/hr, lebih rendah dari sapi Brahman cross 0,72 kg/hr (Rahim, 2005).

Perkawinan silang atau persilangan merupakan jalan pintas untuk memperoleh individu-individu yang memiliki sejumlah sifat unggul yang dipunyai oleh kedua bangsa tetuanya. Di negara berkembang, ternak tidak diseleksi secara intensif untuk sifat tertentu seperti penambahan bobot badan, akan tetapi bangsa ternak asli sering mempunyai resistensi yang tinggi terhadap parasit, toleransi tinggi terhadap keadaan cuaca yang kurang menguntungkan serta dapat tumbuh baik pada kondisi pakan yang berkualitas jelek.

Bila disilangkan dengan bangsa ternak produktif dari negara lain, maka turunan pertamanya sering lebih baik hasilnya dibanding dengan ternak asli. Turunan ini ternyata menggabungkan gen-gen untuk produktivitas dengan daya adaptasi dari kedua bangsa tetua dan meningkatkan heterosis effect. Tetapi perlu diperhatikan bahwa kelemahan grading up adalah bila persilangan dilakukan secara terus menerus ke arah ternak impor, maka sifat heterosis dan kualitas adaptasi dapat hilang serta produksi menjadi turun dan bahkan jauh lebih rendah dari bangsa ternak asli. Karena itu sebelum melaksanakan program grading up, harus direncanakan sampai generasi seberapa persilangan dilakukan dan untuk tujuan apa turunan persilangan tersebut digunakan.

Seperti diketahui, apa yang diharapkan dari persilangan adalah adanya efek heterosis dalam beberapa sifat produksi sehingga melebihi rata-rata kedua bangsa tetuanya. Pada ternak sapi Bali yang diharapkan adalah kecepatan pertumbuhan yang tinggi sehingga mencapai bobot potong muda yang cukup tinggi, kualitas karkas yang baik dan penggunaan pakan yang efisien serta daya adaptasi dengan lingkungan yang cukup baik. Metoda kawin silang digunakan untuk memperoleh individu yang memiliki sifat produksi unggul dalam waktu singkat.

Sebagai contoh, perbaikan mutu genetik sapi Bali melalui persilangannya dengan Sapi Brahman. Sapi Bali memiliki sifat unggul seperti daya tahan tinggi terhadap perubahan cuaca, kemampuan bertahan hidup pada kondisi pakan berkualitas rendah. Sifat unggul yang diharapkan dari sapi Brahman adalah sifat pertumbuhannya yang cepat, kualitas karkas yang cukup baik serta adaptasi terhadap lingkungan yang cukup baik pula, tahan terhadap penyakit serta tingkat reproduktivitas yang cukup tinggi. Dari sapi persilangan kita kehendaki adanya heterosis dalam performa produksinya. Heterosis merupakan fungsi dari perbedaan keturunan persilangan dari rata-rata keturunan murni (Rusfidra,2006)

B. Dampak Cekaman Panas Terhadap Produktivitas Ternak Sapi

Semua ternak domestik termasuk hewan berdarah panas (*homeotherm*) yang berarti ternak berusaha mempertahankan suhu tubuhnya pada kisaran yang paling cocok untuk terjadinya aktivitas biologis yang optimal. Kisaran yang normal pada jenis ternak mamalia adalah 37-39⁰C (Williamson dan Payne, 1993).

Faktor lingkungan yang langsung berpengaruh pada kehidupan ternak adalah iklim. Iklim merupakan faktor penentu ciri khas dan pola hidup dari suatu ternak, selain berpengaruh langsung terhadap ternak juga berpengaruh tidak langsung, melalui pengaruhnya terhadap faktor lingkungan yang lain. Misalnya, ternak pada daerah tropik tidak sama dengan ternak yang berada di daerah subtropis. McDowell (1980) dan Sastry dkk., (1982). Crowder dan Chheda (1982) menyatakan bahwa di daerah tropik unsur utama pembentukan iklim adalah kelembaban, suhu udara, penyinaran, serta angin. Williamson dan Payne (1993), menyatakan bahwa iklim adalah kombinasi dari suhu udara, kelembaban, presipitasi, angin, penyinaran, tekanan udara dan ionisasi. Suhu udara, kelembaban dan penyinaran berpengaruh besar terhadap pertanian pada umumnya dan peternakan pada khususnya.

Bila suhu lingkungan berada diatas atau dibawah suhu nyaman (*comfort zone*) untuk mempertahankan suhu tubuhnya ternak akan mengurangi atau meningkatkan laju metabolisme. Webster dan Wilson,

(1980) menyatakan bahwa bila suhu lingkungan berada di atas suhu nyaman (comfort zone) maka ternak akan mengalami cekaman panas, daya tahan ternak terhadap panas menurun, ternak akan banyak mengeluarkan keringat dan akumulasi dari kondisi tersebut suhu tubuh ternak akan tinggi. Untuk mempertahankan suhu tubuhnya ternak akan mengurangi laju metabolisme dan mengadakan penyesuaian melalui perubahan aktivitas fisiologis seperti suhu kulit dan suhu rektal meningkat, berkeringat, meningkatkan respirasi dan denyut jantung.

Ternak harus mengadakan penyesuaian secara fisiologis agar suhu tubuhnya tetap konstan antara 38-39⁰C. Seperti telah disebutkan, agar dapat mempertahankan kisaran suhu tubuhnya, ternak memerlukan keseimbangan antara produksi panas dengan panas yang dilepaskan tubuhnya (Purwanto dkk, 1995).

Daya tahan panas merupakan kemampuan hewan untuk mengatasi akibat yang ditimbulkan oleh pengaruh kondisi panas. Kesanggupan ini adalah aktivitas hewan akibat ditempatkan di daerah panas, seperti yang dikemukakan oleh Mc Dowell (1980), bahwa dalam lingkungan panas hewan akan memperlihatkan reaksi yang ditandai dengan peningkatan kegiatan proses-proses fisiologis tertentu, guna meningkatkan pembuangan panas.

Penerapan ternak di daerah yang iklimnya sesuai akan menunjang dihasilkannya produksi secara optimal. Salah satu unsur penentu iklim

adalah suhu lingkungan. Bagi sapi potong yang mempunyai suhu tubuh optimum $38,33^{\circ}\text{C}$, suhu lingkungan 25°C dapat menyebabkan peningkatan rata-rata pernafasan, suhu rektal dan pengeluaran keringat, yang semuanya merupakan manifestasi tubuh untuk mempertahankan diri dari cekaman panas (Widoretno dan Dyah Kusuma Utari, 1983).

Suhu tubuh merupakan hasil dari dua proses yaitu panas yang diterima dari lingkungan luar maupun dalam tubuh sendiri dan panas yang dilepaskan ke lingkungan (Johnson, 2005). Panas terutama dihasilkan oleh tubuh sebagai hasil aktivitas metabolisme dan hilang dari tubuh secara *konduksi, konveksi, radiasi* dan *evaporasi* melalui kulit dan saluran pernafasan (Ewing, 1999). Suhu tubuh pada ternak *homeotherm* bervariasi yang dipengaruhi umur, jenis kelamin, musim, siang atau malam, lingkungan, *exersice*, pencernaan, makan dan minum (Swenson, 1970).

Pusat pengaturan panas adalah *hyphotalamus* dan *hyphotalamus rostral* memerintah untuk mengeluarkan panas sedangkan *hyphotalamus caudal* memerintahkan untuk menjaga panas yang diinformasikan oleh kulit melalui aliran darah (Heath and Olusanya, 1985). Suhu lingkungan yang mengakibatkan cekaman panas akan mempengaruhi kerja *hyphotalamus* dan sistem syaraf pusat yang akan mempengaruhi konsumsi pakan, produksi dan penghilangan panas tubuh yang pada akhirnya dapat menurunkan produksi (Johnson, 2005). Penguapan merupakan penyebab terpenting hilangnya panas dalam tubuh. Jika suhu

lingkungan tinggi maka penguapan akan meningkat. Ternak yang banyak mengeluarkan keringat, akan banyak merasakan penguapan. Kelambatan atau kecepatan pelepasan panas tubuh secara *evaporasi* akan mengganggu keseimbangan panas tubuh (Yousef, 1985).

Tingginya temperatur lingkungan akan menyebabkan cekaman panas (*heat shock*) dan akan lebih diperparah lagi dampaknya bila kelembaban udara tinggi sehingga dapat menyebabkan penurunan tingkat kebuntingan pada sapi betina (Sprot et al., 2001. Ingraham et al 1974. memperlihatkan bahwa tingkat kebuntingan sapi perah menurun dari 55 sampai 10 % bila indek tempertur – kelembaban (THI) meningkat dari 70-84. Rataan temperatur harian dan kelembababan relatif digunakan untuk menghitung THI (Amundson 2006) dengan rumus sebagai berikut; ; $THI = 90,8 \times temperatur) + [(\% kelembaban raltif / 100) \times (temperatur - 14,4)] + 46,4$ Cekaman panas juga menyebabkan lambatnya pubertas pada sapi dara, tidak timbulnya berahi pada sapi induk, menekan aktivitas berahi, menyebabkan aborsi dan meningkatkan kematian anak sebelum disapih (Vincent 1972) .Terdapat hubungan negatif antara THI dengan tingkat kebuntingan selama periode musim kawin (Amundson et al., 2006) hal ini mengindikasikan bahwa pada awal musim kawin sebaiknya dihindari tingginya kondisi THI untuk meningkatkan performan reproduksi dalam hal ini meningkat tingkat pembuahan selama musim kawin.

Peningkatan suhu tubuh yang merupakan fungsi dari suhu rektal dan suhu kulit, akibat dari kenaikan suhu udara, akan meningkatkan aktivitas penguapan melalui keringat dan peningkatan jumlah panas yang dilepas persatuan luas permukaan tubuh. Demikian juga dengan naiknya frekuensi nafas akan meningkatkan jumlah panas persatuan waktu yang dilepaskan melalui saluran pernafasan (Purwanto, 2004).

Suhu tubuh dan frekuensi pernafasan merupakan parameter dasar yang dipakai untuk menduga daya adaptasi ternak (Amakiri and Funsho, 1979). Semakin besar kenaikan suhu tubuh dan frekuensi pernafasan maka *Heat Tolerance Coefficient* (HTC) semakin tinggi. Ternak dengan peningkatan suhu tubuh rendah pada hari yang panas mempunyai keseimbangan panas yang terbaik dan akan memberikan produksi yang terbaik pula (Monstma, 1984).

Penurunan fertilitas terutama disebabkan oleh naiknya temperatur tubuh yang mempengaruhi fungsi ovarium, ekspresi berahi, kesehatan oosit dan perkembangan embrio (Biggers et al., 1987; Lucy, 2002). Alasan lain untuk gangguan performans reproduksi pada sapi selama temperatur lingkungan naik termasuk penurunan intensitas berahi, gagalnya ovulasi, kekurangan implantasi, disintegrasi embrio dan aborsi fetus. Peningkatan temperatur udara, indek temperatur – kelembaban dan meningkatnya temperatur rektum diatas nilai ambang kritis berkaitan dengan penurunan konsumsi bahan kering, produksi susu dan mengurangi efisiensi produksi susu (West, 2003).

Pengaruh panas yang mencekam sangat berpengaruh terhadap ternak dan mempengaruhi sistem reproduksinya. Dilaporkan bahwa meningkatnya temperatur tubuh akibat naiknya temperatur lingkungan menurunkan kualitas semen selama 8 minggu setelah pejantan mendapat perlakuan cekaman panas (Meyyerhoffer et al.,1985) dan menurunkan motilitas spermatozoa sapi, tetapi pengaruh genetik (bangsa sapi) bukan faktor penting yang menentukan kualitas sperma yang dieyakulasikan setelah mendapat cekaman panas. (Chandolia, et al., 1999)

Respon perkembangan embrio terhadap cekaman panas ini berbeda-beda menurut bangsa sapi. Embrio yang berasal dari betina sapi Brahman (*Bos Indicus*) lebih resisten terhadap cekaman panas dibanding embrio sapi Holstein atau Angus (*Bos Taurus*) (Paula Lopes, et al, 2003). Perbedaan genetik ini juga diperlihatkan pada termotoleransi untuk respon apoptosis (dalam limfosit) terhadap cekaman panas, dimana sapi Brahman lebih resisten terhadap cekaman panas dibanding sapi Holstein atau Angus. Hal ini membuktikan bahwa sapi-sapi *bos indicus* mempunyai fertilitas yang tinggi bila dipelihara pada daerah yang lebih panas.

Pada tingkat embrio, pengaruh cekaman panas terhadap perkembangan embrio, mengurangi jumlah embrio tahap dua sel dan empat – delapan sel, tetapi tidak mempengaruhi perkembangan morula yang sedang tumbuh (Edward et al, 1997). Selanjutnya perkembangan oosit yang dibuahi menjadi embrio tahap dua sel tidak dipengaruhi

cekaman panas, sebaliknya cekaman panas berpengaruh nyata terhadap perkembangan embrio dua sel menjadi tahap blastosis. Hal ini membuktikan bahwa pengaruh meningkatnya temperatur terhadap perkembangan embrio lebih nyata menghambat pada embrio sapi tahap dua sel dibanding pada tahap morulla. Kemampuan tahap awal embrio untuk menahan penyimpangan dalam tingginya temperatur merupakan hasil perkembangan. Kemampuan yang berhubungan dengan perkembangan embrio dalam mentoleransi cekaman panas adalah kapasitas memproduksi molekul-molekul yang terlibat dalam perlindungan terhadap panas (temperatur) seperti *heat shock protein* (HSP) (Neuer *et al.*, 1999).

C. Keragaman Fenotipik dan Genotipik

Era penemuan materi genetik dibuka oleh F. Miescher dengan menggunakan mikroskop sederhana, ia menyatakan bahwa bahan aktif yang ada dalam nucleus disebut sebagai nuclein. Peneliti pada saat ini belum bisa menentukan apakah nuclein ini merupakan kromosom ataukah DNA. Kromosom merupakan struktur seperti benang pada nucleus sel eukariotik yang nampak pada saat sel mulai membelah, ditemukan pada awal abad ke-19. Pada organisme diploid, kromosom berjumlah diploid (2 set) pada setiap selnya. Kromosom dapat dibedakan menjadi kromosom

autosomal dan kromosom seks. Kedua set kromosom tersebut membawa gen-gen yang berpasangan kecuali kromosom Y (Fatchiyah, 2000)

Gen adalah unit hereditas suatu organism hidup. Gen ini dikode dalam materi genetis organism yang kita kenal sebagai molekul DNA atau RNA pada beberapa virus. Molekul DNA membawa informasi hereditas dari sel. Komponen protein (molekul-molekul histon) dari kromosom mempunyai fungsi penting dalam pengemasan dan pengontrolan molekul DNA yang sangat panjang sehingga dapat muat di dalam nuklues dan mudah diakses ketika dibutuhkan. Selama reproduksi, jumlah kromosom yang haploid dan materi genetis DNA hanya separuh dari masing-masing parental, dan ini disebut sebagai genom. (Fatchiyah dkk, 2002).

Keragaman fenotipik merupakan ciri-ciri umum yang terdapat di dalam suatu populasi. Keragaman terjadi tidak hanya antar bangsa tetapi juga didalam satu bangsa yang sama, antar populasi maupun didalam populasi. Keragaman pada sapi dapat dilihat dari ciri-ciri (karakteristik) yang dapat diamati atau terlihat secara langsung. Setiap sifat yang diekspresikan seekor hewan disebut fenotipe (Martoyo 1992; Hardjosubroto 1994; Noor 2008). Potensi biologik seekor ternak diukur berdasar kemampuan produksi dan reproduksinya dalam lingkungan pemeliharaan yang tersedia, karena data kuantitatif potensi biologik yang berupa fenotipe produksi dan reproduksi tidak terlepas dari pengaruh lingkungan tempat ternak dipelihara. Seekor hewan atau ternak menunjukkan fenotipenya (P) sebagai hasil pengaruh seluruh gen atau

genotipnya (G), lingkungan (E) dan interaksi antara genotipe dan lingkungan (IGE) (Martoyo 1992; Hardjosubroto 1994). Populasi Sapi Jawa yang menyebar pada lokasi-lokasi yang berbeda menunjukkan keragaman performan yang tinggi pada beberapa sifat kuantitatif, hal ini disebabkan karena kondisi pakan pada setiap lokasi tidak sama (Soeroso 2004), kondisi yang relatif sama dilaporkan oleh Bugiwati (2007) pada Sapi Bali di Sulawesi Selatan.

Karakterisasi merupakan kegiatan dalam rangka mengidentifikasi sifat-sifat penting yang bernilai ekonomis, atau yang merupakan penciri dari varietas yang bersangkutan. Karakterisasi dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif (Sarbaini 2004; Noor 2008).

Ukuran-ukuran tubuh yang merupakan sifat kuantitatif mempunyai peranan yang penting untuk melihat produktivitas ternak. Rekwot *et al.* (2000) melakukan penelitian dengan menghubungkan antara sifat kuantitatif (bobot badan) dengan umur pubertas sapi. Ukuran-ukuran tubuh banyak dikaitkan dengan bobot badan. Pada sapi ukuran tubuh yang digunakan untuk menentukan bobot badan adalah lingkaran dada dan panjang badan (Abdullah, 2008).

Warna bulu dan bentuk tanduk merupakan bentuk ekspresi gen lainnya selain ukuran tubuh yang dikenal dengan sifat kualitatif (Noor 2008). Sifat kualitatif menurut Soeroso (2004) dan Noor (2008) tidak banyak dipengaruhi oleh lingkungan (lokasi penyebaran), oleh karena itu sifat kualitatif seperti warna bulu kulit memiliki keragaman yang rendah.

Warna bulu kulit pada sapi dan mamalia disebabkan kehadiran melanin. Melanin ada 2 tipe yaitu *eumelanin* yang responsif terhadap warna hitam dan coklat dan *phaeomelanin* yang responsif terhadap warna merah dan kuning (Russo, 2004). Menurut Fries and Ruvinsky (1999), hewan-hewan dengan warna bulu terang yang menutupi kulit berpigmen gelap akan beradaptasi dengan baik di daerah tropis dimana tingkat radiasi matahari tinggi.

D. Gen Heat Shock Protein

HSP adalah suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat Shock Response* (HSR). HSR adalah suatu respon berbasis genetik untuk menginduksi gen-gen yang mengkode *molecular chaperone*, protease dan protein-protein lain yang penting dalam mekanisme pertahanan dan pemulihan terhadap jejas seluler yang berhubungan dengan terjadinya *misfolded protein*. HSR merupakan suatu tanggapan sel terhadap berbagai macam gangguan, baik yang bersifat fisiologik maupun yang berasal dari lingkungan. (Westerheide *et al*, 2005).

HSP merupakan suatu *molecular chaperone* yang berfungsi untuk melindungi protein lain dari agregasi, melonggarkan protein yang beragregasi, membantu pelipatan protein baru atau pelipatan kembali protein yang rusak, mendegradasi protein yang rusak cukup parah dan dalam kasus kerusakan yang sangat berat, mengasingkan protein yang rusak menjadi agregat yang lebih besar. (Widjaja, dkk. 2009)

Klasifikasi kelas-kelas HSP dilakukan berdasarkan ukuran molekul dan fungsinya. Ada subkelas HSP 100, HSP 90, HSP 70, HSP 60, HSP 40 (*J-domain proteins*) dan *small heat shock protein* (sHSP). Angka yang mengikuti kata HSP menunjukkan berat molekulnya, contoh : angka 100 menunjukkan berat molekul dari HSP yakni 100 kDa. sHSP adalah sub kelas dari HSP yang mempunyai karakter massa molecular monomer yang rendah (9-40 kDa). (Westerheide and Morimoto, 2005).

Lima keluarga utama Hsps / pendamping adalah diakui secara konservatif : Hsp70 (DnaK) family, chaperonins (GroEL dan Hsp60); keluarga Hsp90, Hsp100 (CLP) family; dan HSP family (sHsp) kecil. Selain keluarga-keluarga besar, ada protein lain dengan fungsi pendamping, seperti protein disulfida isomerase dan calnexin / calreticulin, yang membantu dalam protein lipat dalam retikulum endoplasma (ER) Hsps molekul / pendamping yang terletak di baik sitoplasma dan organel, seperti nukleus, mitokondria, kloroplas dan ER [3-5]. berbeda kelas dari molekul chaperone muncul untuk mengikat secara substrat dan area. Protein pendamping tidak kovalen mengikat dengan target mereka dan tidak membentuk bagian dari final produk. Dua terbaik dipelajari dengan keluarga adalah chaperonins dan pendamping keluarga Hsp70 [6]. (Wang, *et al*, 2004).

Kemampuan yang berhubungan dengan perkembangan embrio dalam mentoleransi cekaman panas adalah kapasitas memproduksi molekul-molekul yang terlibat dalam perlindungan terhadap panas

(temperatur) seperti *Heat Shock Protein* (HSP) (Neuer *et al.*, 1999). Protein HSP merupakan protein yang muncul setelah sel mengalami cekaman panas dan berfungsi menjamin suatu perlindungan terhadap sel bila terjadi cekaman panas berikutnya dan induksi cekaman lainnya. (David & Grongnet, 2001).

Protein cekaman panas merupakan suatu protein yang terbentuk akibat adanya pemicu stres, terutama yang berasal dari peningkatan suhu lingkungan. Semua organisme yang hidup bereaksi terhadap peningkatan suhu. Keadaan ini akan menginduksi pembentukan HSP. Tanggapan ini disebut sebagai respons cekaman panas. Respons ini merupakan mekanisme utama untuk melindungi sel terhadap berbagai pemicu stres pada organisme tersebut. Respons protein cekaman panas ini diatur oleh transkripsi gen cekaman panas (King *et al.*, 2002; Inouye *et al.*, 2003). Protein cekaman panas bekerja sebagai kaperon, suatu fungsi yang mengatur pelipatan kembali (*refolding*) protein-protein secara benar akibat pemicu stres, sehingga dapat melindungi kerusakan sel akibat perubahan fisiologis, patologis, dan lingkungan yang abnormal (Wang *et al.*, 2004). Protein (HSP70) berfungsi sebagai respons *shock* panas yang paling banyak terlibat terhadap termotoleransi akibat kenaikan suhu lingkungan (King *et al.*, 2002)

Terdapat tiga famili HSP berdasarkan ukuran berat molekulnya, yaitu : 27 kDa, 70 kDa dan 90 kDa (Kawarsky dan King, 2001) dalam mengidentifikasi dan melokalisasi HSP 70 pada kultur oosit dan embrio

sapi melalui teknik RT-PCR memperlihatkan bahwa ekspresi HSP 70 mRNA dibawah kontrol cekaman panas dan embrio tahap awal dapat merespon cekaman panas dengan munculnya HSP 70 mRNA dan distribusi HSP 70 dalam plasma sel oosit dan oosit belum matang tidak dipengaruhi oleh pemaparan peningkatan temperatur.

Dalam konteks reproduksi, HSP berpartisipasi dalam dua proses penting fisiologi ovarium, terlibat dalam proliferasi / mekanisme apoptosis dan beraksi pada hormon steroid yang dimediasi oleh reseptor mereka. Ini proses biologis yang sangat penting dalam ovarium seluruh fisiologi dan khususnya untuk perkembangan folikel dan keduanya telah terlibat dalam patogenesis fibrosis Penyakit ovarium (COD) (Isobe dan Yoshimura, 2007; D'Haeseleer *et al*, 2005;. Salvetti *et al*, 2007, 2008;. Ortega *et al*, 2009.).

Toleransi seluler terhadap stres panas dimediasi oleh keluarga protein bernama protein heat shock (HSP). Di antara anggota dari keluarga HSP, HSP70 (yaitu, HSP70.1 dan HSP70.2) adalah yang paling melimpah dan suhu sensitif (Beckham dkk. 2004). Transkripsi HSP70 meningkat oleh heat shock juga sebagai rangsangan stres lainnya seperti stres oksidatif, iskemia, peradangan, atau penuaan (Favatier *et al*. 1997) dan dapat merupakan indikator stres dalam sel (Sonna *et al*. 2002). HSP 70 adalah pendamping yang mempromosikan perlindungan sel terhadap kerusakan akibat panas, mencegah denaturasi protein dan menghalangi apoptosis

Pengaturan produksi HSP sangat penting untuk kelangsungan hidup sel. Bukti kuat menunjukkan bahwa ekspresi Gen HSP70 bukan hanya pada saat dibawah kontrol transkripsi, tetapi juga pada pasca-transkripsi mekanisme (Schwerin *et al.* 2002). Sementara stres akibat sintesis protein HSP merupakan mekanisme yang ditampilkan oleh hampir semua sel, hewan individu akan tetapi berbeda dalam kapasitas mereka untuk mengelola dengan stres. Selain itu, perubahan nukleotida yang terjadi secara alami di daerah mengait [5'-dan 3'-diterjemahkan wilayah (UTR)] dari HSP gen dapat mempengaruhi inducibility, tingkat ekspresi, dan / atau stabilitas mRNA HSP70 dan berkontribusi pada perbedaan toleransi stres individu pada tingkat sel.

E. Metode PCR-RFLP

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu teknik untuk menggandakan jumlah molekul DNA secara *in vitro*. Proses ini berjalan dengan bantuan enzim *polymerase* dan primer. Primer merupakan oligonukleotida spesifik yang menempel pada bagian sampel DNA yang akan diperbanyak (Williams, 2005) enzim *polymerase* merupakan enzim yang dapat mencetak urutan DNA baru. Hasil dari proses PCR dapat langsung divisualisasikan dengan elektroforesis atau dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut (Williams, 2005).

Menurut Muladno (2002), *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu reaksi *in vitro* untuk menggandakan jumlah molekul

DNA pada target tertentu dengan mensintesa molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target tersebut dengan bantuan enzim *polymerase* dan oligonukleotida pendek sebagai primer dalam suatu *thermocycler*. Secara umum reaksi yang terjadi dalam mesin PCR dapat dibagi menjadi tiga tahap yaitu tahap denaturasi (pemisahan untai ganda DNA), tahap annealing (penempatan primer) dan tahap ekstensi (pemanjangan primer).

Prinsip dasar dari teknik PCR adalah amplifikasi materi genetik yang terkandung dalam setiap organisme hidup. PCR dapat dilakukan dalam waktu kurang dari satu hari dan jutaan DNA dapat berhasil dibuat. Karena DNA setiap organisme adalah spesifik, maka dengan menggunakan teknik PCR dapat diidentifikasi secara akurat organisme asalnya. Pada identifikasi virus, proses ini sangat membantu karena dalam proses isolasi virus sangatlah rumit dan membutuhkan waktu yang lama, tetapi dengan teknik PCR akan lebih sensitive dan spesifik (Muladno, 2001; Lestari 2003).

Analisis *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) adalah salah satu teknik pertama yang secara luas digunakan untuk mendeteksi variasi pada tingkat sekuens DNA. Deteksi RFLP dilakukan berdasarkan adanya kemungkinan untuk membandingkan profil pita-pita yang dihasilkan setelah dilakukan pemotongan oleh enzim restriksi terhadap DNA target atau individu yang berbeda. Perbedaan panjang fragmen dapat dilihat setelah dilakukan elektroforesis pada gel, hibridisasi dan

visualisasi. Aplikasi teknik RFLP biasa digunakan untuk mendeteksi diversitas genetic, hubungan kekerabatan, sejarah domestikasi, asal dan evolusi suatu spesies, aliran gen (genetic drift) dan seleksi, pemetaan keseluruhan genom, pengamanan gen-gen target yang akan diekspresikan (tagging gen), mengisolasi gen-gen yang berguna dari spesies liar serta mengkontruksi pustaka DNA. (Fatchiyah, 2000).

Informasi genetic pada suatu organism tingkat tinggi tersimpan dalam sekuen DNA pada kromosom yang ada dalam nukleus maupun organel. Pergantian basa dapat terjadi pada sekuen DNA tersebut, selain perubahan dalam skala besar sebagai hasil dari proses substitusi, inverse, translokasi, insersi, delesi atau transposisi. Perubahan ini mengakibatkan pergeseran distribusi relatif dari situs restriksi untuk sejumlah enzim pemotong. DNA yang telah mengalami perbedaan satu sama lain dalam sekuennya akan menghasilkan fragmen yang berbeda setelah dipotong oleh enzim restriksi. Perbedaan dalam ukuran fragmen DNA nukleus (kromosom), organel atau total DNA sebagai hasil pemotongan enzim restriksi dinamakan *Restriction Fragment Length Polymorphisme* (RFLPs) yang diterjemahkan sebagai restriksi fragmen polymorfisme panjang. Teknik RFLP diidentifikasi menggunakan enzim yang memotong DNA hanya pada sisi yang sesuai, misal EcoRI memotong sisi yang terdefinisi oleh palindrom sekuen GAATTC. Pada saat ini pemakaian paling sering dari RFLP diturunkan dari PCR atau dikenal sebagai Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphisme (PCR-RFLP).

Teknik PCR-RFLP ini umum digunakan untuk mendeteksi alel berbeda dalam sekuen DNA dari satu sisi restriksi tertentu. Satu potongan gen pertama diamplifikasi dengan PCR, kemudian diekspos terhadap suatu enzim restriksi spesifik yang memotong hanya satu bentuk alelik, amplicon yang dipotong umumnya diselesaikan dengan elektroforesis (Anggraeini dkk., 2010).

Hasil PCR dapat dilihat dengan melakukan elektroforesis pada gel agarose. Elektroforesis merupakan metode standar untuk memisahkan dan mengidentifikasi fragmen DNA sesuai dengan ukurannya. Prinsip dasarnya adalah jika molekul DNA yang bermuatan negatif ditempatkan pada penghantar listrik (buffer), molekul tersebut akan bergerak menuju ke muatan positif. Molekul DNA yang bermuatan kecil akan bergerak lebih cepat dari pada yang berukuran besar. Ukuran fragmen DNA hasil elektroforesis dapat diketahui dengan menggunakan penanda ukuran (*marker*) yang salah satunya didapat dari lambda yang telah dipotong oleh enzim restriksi (Dawson *et al.*, 1996; dalam Muladno, 2001)

Untuk melihat dan menganalisa hasil elektroforesis, DNA di dalam gel agarose diwarnai (*staining*) menggunakan ethidium bromide (EtBr), yaitu zat pewarna yang dapat berfluoresensi di bawah sinar ultraviolet. EtBr dapat menyisip di antara basa-basa DNA serta membuat rantai DNA menjadi kaku. DNA hasil amplifikasi tampak sebagai pita yang jelas dan

terang apabila gel agarose yang membawa DNA tersebut di tempatkan di atas sinar ultraviolet (Sambrok dan Russel, 1989)

Kekurangan RFLP diantaranya adalah ; (1) dibutuhkannya DNA dengan kemurnian tinggi dalam jumlah banyak, (2) tidak mungkin dilakukan otomatis, (3) pada beberapa spesies mempunyai level polimorfisme yang rendah, (4) sedikit lokus yang terdeteksi, (5) memerlukan pustaka probe yang sesuai, (6) membutuhkan waktu yang banyak, (7) membutuhkan biaya yang besar.

Pemanfaatan PCR dalam bidang peternakan yaitu :

1. Membantu dalam proses pemetaan gen, terutama gen terkait sifat kuantitatif (*Quantitative Trait Loci*; QTL),
2. Membantu dalam mengidentifikasi penyakit ternak secara cepat dan tepat,
3. Membantu dalam mengidentifikasi adanya mutasi genetik pada individu ternak,
4. Membantu dalam mengetahui frekuensi gen tertentu dalam populasi ternak dan mengetahui adanya variasi genetik dalam populasi atau antar populasi ternak,
5. Membantu dalam mengidentifikasi adanya kontaminasi produk lain dalam bahan makanan atau makanan olahan hasil ternak.

F. Kelahiran Kembar pada Sapi

Sapi merupakan hewan monoovulatori (Rutledge, 1975), yang berarti bahwa, pada kebanyakan kondisi, satu kebuntingan menghasilkan kelahiran satu anak. Meskipun demikian, terkadang proses reproduksi pada sapi, seperti kebanyakan spesies monotokus lainnya, menghasilkan kelahiran kembar. Pada beberapa sistem produksi sapi pedaging, kelahiran kembar dianggap sebagai sifat yang diinginkan yang dapat meningkatkan keuntungan keseluruhan produksi usaha dengan peningkatan berat produksi anak yang disapih per induk. Sebaliknya, kelahiran kembar pada sapi perah adalah sifat yang tidak diinginkan yang menurunkan keuntungan keseluruhan pada operasional sapi perah melalui efek negatif pada sapi yang melahirkan kembar serta pada anak yang lahir kembar (Fricke, 2000).

Kelahiran kembar pada sapi dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis: kelahiran kembar monozygot dan kelahiran kembar dizygot. Setiap folikel ovarium mengandung oosit tunggal atau telur yang dikeluarkan dari folikel ke dalam saluran telur setelah ovulasi, di mana ia menunggu pembuahan. Sebuah zigot adalah sel tunggal yang terbentuk setelah oosit yang dibuahi oleh sperma. Dengan demikian, kembar yang muncul dari pembuahan satu oosit yang kemudian membelah dan membentuk dua embrio selama perkembangan di dalam uterus ini disebut kembar monozygot, sedangkan kembar yang muncul dari pembuahan dua oosit selama siklus estrus yang sama ini disebut kembar dizygot (Fricke, 2000).

Kelahiran kembar relatif jarang terjadi, dengan frekuensi umumnya tidak lebih dari 1% pada sebagian besar ternak sapi, di mana seleksi pada sifat ini belum dipraktekkan (Rutledge 1975). Pada peternakan sapi perah, kejadian kelahiran kembar lebih tinggi (rata-rata 4-5%), dan sangat dipengaruhi oleh umur dan paritas induk, mulai dari sekitar 1% untuk heifer menjadi hampir 10% pada sapi yang lebih tua (Berry *et al.*, 1994).

Kelahiran kembar dapat meningkat dari periode sapi umur 10-tahun, dan peningkatan terbesar diamati antara paritas pertama dan kedua (Berry *et al.*, 1994, Cady and Van Vleck 1978, Kinsel *et al.*, 1998, Nielen *et al.*, 1989, Ryan and Boland 1991). Kelahiran kembar juga sedikit dipengaruhi oleh efek musiman, dengan kecenderungan menuju kelahiran lebih banyak selama musim semi (Cady and Van Vleck 1978, Karlsen *et al.*, 2000) atau musim gugur (Gregory *et al.*, 1990). Sifat efek musiman, meskipun tidak pasti, diduga berhubungan dengan perubahan suhu, lamanya siang hari atau pakan pada saat pembuahan (Fricke, 2000).

Meskipun banyak penelitian telah menunjukkan efek musiman terhadap kejadian kelahiran kembar, yang lain telah gagal untuk menunjukkan suatu kecenderungan (Hendy *and* Bowman, 1970). Sebagai contoh, peningkatan musiman pada kelahiran kembar telah dilaporkan terjadi dari bulan April sampai September di Belanda (Nielen *et al.*, 1989) dan dari bulan Mei sampai Juni di Arab Saudi (Ryan *and* Boland, 1991), sedangkan penelitian terhadap sapi perah di Amerika Utara tidak menunjukkan adanya efek musiman (Kinsel *et al.*, 1998). Meskipun saat

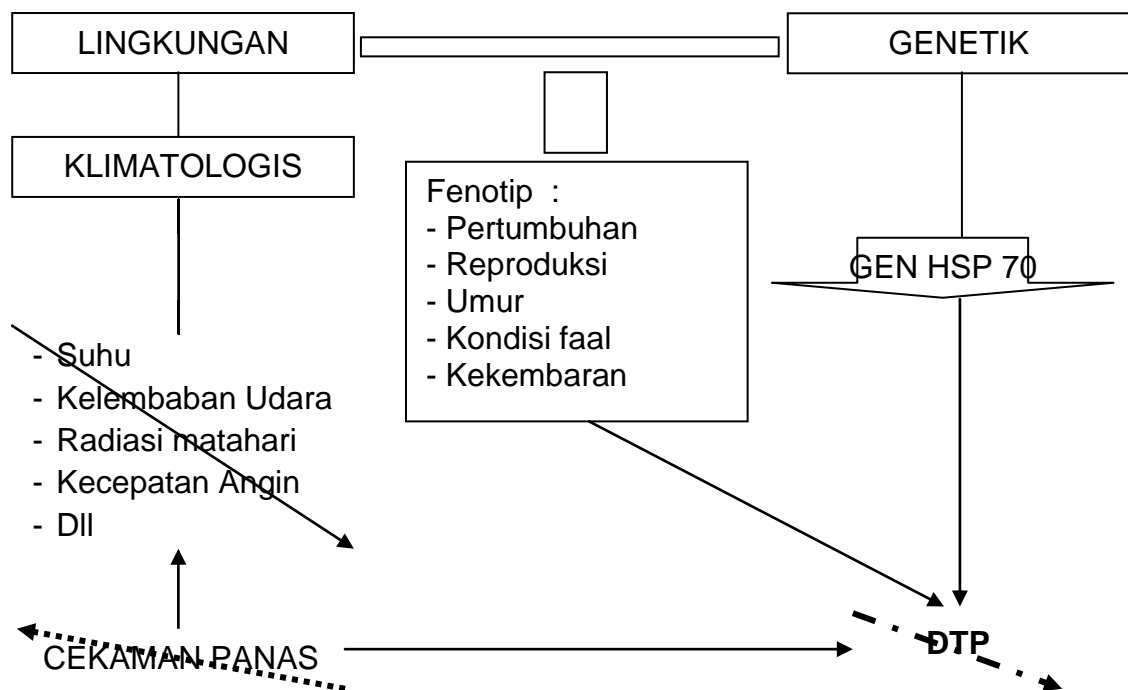
ini spekulatif, kecenderungan kelahiran kembar meningkat selama musim panas yang dikaitkan dengan sebuah program peningkatan gizi selama musim gugur ketika kelahiran sapi yang dikandung selama musim panas, sebuah penurunan cahaya matahari, atau penurunan langsung tahap awal embrio hidup yang dikandung selama bulan musim panas dibandingkan dengan mereka yang dikandung selama bulan musim gugur lebih dingin (Cady and Van Vleck. 1978; Nielen *at al.*, 1998).

G. Kerangka Konsep

Keberhasilan produksi ternak disebabkan oleh dua hal yaitu genetik dan lingkungan. Lingkungan dipengaruhi oleh banyak faktor yaitu manajerial, klimatologis, pakan dan makluk lain. Untuk faktor klimatologis dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya suhu, kelembaban udara, radiasi matahari, kecepatan angin dan lain-lain. Sapi merupakan ternak homeotherm yang berarti berusaha mempertahankan suhu tubuhnya pada kisaran paling cocok untuk terjadinya aktivitas biologis optimal (Williamson and Payne, 1993).

Gen Heat Shock Protein (HSP) adalah protein yang dihasilkan karena adanya *Heat Shock Response*. Merupakan protein yang terbentuk akibat adanya pemicu stress terutama yang berasal dari peningkatan suhu lingkungan. Protein cekaman panas bekerja sebagai kaperon, suatu fungsi yang mengatur pelipatan kembali (*refolding*) protein-protein secara benar akibat pemicu stress, sehingga dapat melindungi kerusakan sel akibat

perubahan fisiologis, patologis dan lingkungan yang abnormal (Wang *et al.*, 2004). Dengan adanya ekspresi gen HSP pada ternak maka akan membantu ternak dalam menghadapi cekaman panas yang bisa merusak proses produksi dan reproduksi ternak.



Gambar 1. Kerangka Konsep

H. Hipotesis

Adapun hipotesis penelitian ini adalah :

1. Diduga daya tahan panas sapi Bali lebih tinggi daripada sapi Bali persilangan dengan riwayat kekembaran.
2. Diduga terdapat polymorphisme gen HSP 70 pada sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat kekembaran.
3. Diduga terdapat perbedaan genotipe antara sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat kekembaran.
4. Diduga terdapat hubungan antara gen HSP 70 dengan daya tahan panas pada sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat kekembaran.