



UNIVERSITAS INDONESIA

**PROFIL FISIOLOGI DAN EKSPRESI GEN TERMOREGULATOR SAPI
BALI (*Bos sondaicus*) BERDASARKAN PENGARUH CEKAMAN PANAS
DI BEBERAPA DAERAH DI INDONESIA**

TESIS

SETIA BETARIA ARITONANG

1406655942

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM PASCASARJANA

PROGRAM STUDI BIOLOGI

DEPOK

JANUARI 2017



UNIVERSITAS INDONESIA

**PROFIL FISILOGI DAN EKSPRESI GEN TERMOREGULATOR SAPI
BALI (*Bos sondaicus*) BERDASARKAN PENGARUH CEKAMAN PANAS
DI BEBERAPA DAERAH DI INDONESIA**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains**

**Oleh :
SETIA BETARIA ARITONANG
1406655942**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
JANUARI 2017**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar

Nama : SETIA BETARIA ARITONANG

NPM : 1406655942

TandaTangan : 

Tanggal : 11 Januari 2017

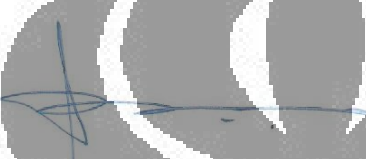


JUDUL : PROFIL FISIOLOGI DAN EKSPRESI GEN
TERMOREGULATOR SAPI BALI (*Bos sondaicus*)
BERDASARKAN PENGARUH CEKAMAN PANAS
DI BEBERAPA DAERAH DI INDONESIA

NAMA : SETIA BETARIA ARITONANG
NPM : 1406655942

Menyetujui:

1. Komisi Pembimbing



Dr. Anom Bowolaksone, M.Sc.

Pembimbing I



Dr. M. Imron, M.Si.

Pembimbing II

2. Penguji


Dr. Abinawanto, M.S.

Penguji I


Dr. Ratna Yuniati, M.Si.

Penguji II

3. Ketua Program Studi Pascasarjana Biologi FMIPA UI


Dr. Abinawanto, M.S.

Tanggal Lulus: 11 Januari 2017

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : Setia Betaria Aritonang
NPM : 1406655942
Program Studi : Pascasarjana Biologi
Judul Tesis : Profil Fisiologi dan Ekspresi Gen Termoregulator Sapi
Bali (*Bos sondaicus*) Berdasarkan Pengaruh Cekaman
Panas di Beberapa Daerah di Indonesia

Telah berhasil saya pertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Anom Bowolaksono, M.Sc. (.....)

Pembimbing II : Dr. M. Imron, M.Si. (.....)

Penguji : Dr. Abinawanto, M.S. (.....)

Penguji : Dr. Ratna Yuniati, M.S. (.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 11 Januari 2017

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Indonesia, saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Setia Betaria Aritonang
NPM : 1406655942
Program Studi : Pascasarjana Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Spesies Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Profil Fisiologi dan Ekspresi Gen Termoregulator Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Berdasarkan Pengaruh Cekaman Panas di Beberapa Daerah di Indonesia

Beserta perangkatnya yang ada jika diperlukan. Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengolah dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Depok
Pada tanggal: 11 Januari 2017
Yang Menyatakan



Setia Betaria Aritonang

KATA PENGANTAR

Segala puji dan hormat penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus, yang oleh kasih setiaNya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis ini. Penulisan tesis dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Sains pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa dengan adanya bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, tesis ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Anom Bowolaksono, M.Sc. selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan mendukung penulis serta memberikan motivasi dan arahan sepanjang penelitian dan penulisan tesis ini.
2. Dr. M. Imron, M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan mendukung penulis serta memberikan motivasi sepanjang penelitian dan penulisan tesis ini.
3. Dr. Abinawanto, M.S. selaku dosen penguji I dan Kaprodi Pascasarjana Biologi Departemen Biologi FMIPA UI yang baik hati memberikan masukan, saran dan semangat untuk menyelesaikan tesis ini.
4. Dr. Ratna Yuniati, M. S. selaku dosen penguji II yang dengan baik hati memberikan saran dan masukan untuk memperbaiki tesis ini.
5. Dr. Luthfirda Sjahfirdi, M.Biomed. selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberi saran dan nasihat selama masa studi penulis.
6. Kapuslabfor, Brigjend Drs. Alex Mandalika yang telah memberikan kesempatan melalui beasiswa kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan Pascasarjana di Universitas Indonesia.
7. Direktur DRPM yang telah memberikan hibah PITTA UI 2016 sehingga penelitian dapat berjalan lancar.
8. Suami tercinta, Maruasas Siagian, dan anakku tersayang, Bams F.C. Siagian serta keluarga besar di Sidikalang dan Batam yang selalu setia mendoakan dan mendukung penulis dalam menyelesaikan studi ini.

9. Mbak Pipih, Mbak Dein, Prima, Hani, Eka, Ana, Yiyik, dan mbak Asri yang telah membantu dan memberikan semangat juang serta tawa riang kepada penulis selama penelitian dan penulisan naskah.
10. Teman Pascasarjana Biologi UI khususnya angkatan 2014 Genap yang telah memberikan semangat dan tukar pikiran dalam menyelesaikan tesis ini.
11. AKBP I Made Wiranatha, S.Si, Kopol Sandhy Santosa, AKP Irfan Rofik, Iptu Rani Ismaya, Vira, Ana dan Bu ii yang mendukung penulis dalam penelitian di laboratorium.
12. Pak Bambang dan tim BET Cipelang; Kak Ase, Kak Erni, dan Pak Anto yang di Barru; Pak Slamet dan Pak Agus yang di Buleleng; Kak Desi, Drh. Hendra dan tim Keswan di Taliwang yang telah membantu peneliti mengambil data di daerah penelitian.
13. Mbak Evi yang selalu membantu kebutuhan administrasi penulis.
14. Seluruh pihak yang terlibat dalam proses penelitian dan penulisan naskah tesis ini.

Kiranya Tuhan berkenan membalas kebaikan seluruh pihak yang sudah terlibat secara langsung dan tidak langsung. Akhir kata, semoga naskah tesis ini bermanfaat bagi masyarakat serta perkembangan ilmu pengetahuan.

Bintaro, 11 Januari 2017

Setia Betaria Aritonang

ABSTRAK

Nama : Setia Betaria Aritonang
Program studi : Pascasarjana Biologi
Judul : Profil Fisiologi dan Ekspresi Gen Termoregulator Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Berdasarkan Pengaruh Cekaman Panas di Beberapa Daerah di Indonesia

Kenaikan suhu global bumi hingga 2 °C memberi pengaruh nyata terhadap produktivitas sapi. Efek negatif kenaikan suhu global dapat dikurangi dengan mempelajari adaptasi hewan pada tingkat individu hingga gen. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari respons fisiologi dan ekspresi gen termoregulator *Hsp90* dan *ATP1A1* sapi Bali di beberapa daerah di Indonesia. Pengumpulan data fisiologi sapi, sampel darah sapi dan kondisi lingkungan dilakukan di Cipelang Kabupaten Bogor, Desa Lompo Tengah Kabupaten Barru, Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng, dan Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat. Sampel darah diambil dari vena jugularis untuk diisolasi RNA, lalu ditranskripsi balik menjadi cDNA yang kemudian dilanjutkan dengan proses qRT-PCR. Ekspresi gen dilakukan dengan metode $\Delta\Delta C_t$ dengan normalisasi oleh gen *GADPH*. Analisis data fisiologi dan kondisi lingkungan dengan uji multivariate dan korelasi Pearson, sedangkan analisis ekspresi gen dengan uji Kruskal-Wallis. Suhu udara, kelembaban udara dan intensitas matahari di empat lokasi berbeda nyata ($p=0$), tetapi kecepatan angin tidak berbeda nyata ($p=0,056$), sehingga mempengaruhi perbedaan suhu kulit, suhu rektum, suhu tubuh, dan laju pernapasan. Respons sapi terhadap cekaman panas dengan cara peningkatan suhu kulit, suhu rektum, suhu tubuh, laju pernapasan, peningkatan regulasi gen *Hsp90* dan gen *ATP1A1*. Rasio ekspresi gen *Hsp90/GADPH* dan *ATP1A1/GADPH* berbeda setiap lokasi penelitian karena dipengaruhi oleh kondisi iklimnya.

Kata kunci: *ATP1A1*, *HSP90*, cekaman panas, sapi Bali, termoregulasi.

ABSTRACT

Name : Setia Betaria Aritonang
Study Program : Biology Graduate School
Title : Physiology Profiles and Thermoregulatory Gene
Expression of Bali Cattle (*Bos sondaicus*) by The Effect of
Heat Stress in Indonesia.

Earth's global temperature rise to 2 °C had a significant effect on the productivity of cattle. The negative effects of the global temperature rise can be reduced by studying the adaptation of animals at the individual level to the gene level. This research aims to study the physiology response and gene expression of *Hsp90* and *ATP1A1* on Bali cattle in some areas in Indonesia. The physiology profiles of cattle, blood samples and environmental conditions were collected from Cipelang, Lompo Tengah Barru village, Sumber Klampok village and Telaga Bertong village. Blood samples were taken from jugular vein to isolate RNA that was reverse transcribed into cDNA followed by qRT-PCR process. Gene expression was performed by the $\Delta\Delta C_t$ method which *GAPDH* as internal control gene. Analysis of physiological data and environmental conditions were done by multivariate test and Pearson correlation test, whereas gene expression analyzed by Kruskal-Wallis test. Air temperature, air humidity and the solar intensity at four locations were significantly different ($p=0$), but the wind speed did not differ significantly ($p=0.056$), thus affecting differences in skin temperature, rectal temperature, body temperature and respiratory rate. Bali cattle responded to heat stress by increasing the skin temperature, rectal temperature, body temperature, respiratory rate, and upregulated of *Hsp90* and *ATP1A1* genes. The ratio of the genes expression of *Hsp90/GAPDH* and *ATP1A1/GAPDH* were difference each study sites because caused by climatic conditions.

Keywords: Bali cattle, *ATP1A1*, *HSP90*, heat stress, thermoregulation.

xx + 104 pp ; 25 plates ; 32 tables; 16 appendices
Bibl.: 112 (1954 – 2015)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRAK.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
SUMMARY.....	xviii
PENGANTAR PARIPURNA.....	1
MAKALAH I: PROFIL FISILOGI SAPI BALI (<i>Bos sondaicus</i>) BERDASARKAN PENGARUH CEKAMAN PANAS DI BEBERAPA DAERAH DI INDONESIA	9
Abstrak.....	9
Pendahuluan.....	10
Metodologi Penelitian.....	12
A. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	12
B. Alat dan Bahan.....	12
C. Cara Kerja.....	13
1. Pengambilan data fisiologi.....	13
2. Pengambilan data lingkungan.....	15
3. Analisis data.....	15
Hasil dan Pembahasan.....	16
A. Data Fisiologi Sapi.....	16
1. Suhu permukaan kulit.....	16
2. Suhu rektum.....	21
3. Suhu tubuh.....	26
4. Laju pernapasan.....	32
5. HTC (<i>Heat Tolerance Coefficient</i>).....	37
B. Kondisi Lingkungan Penelitian.....	41
Kesimpulan.....	48
Saran.....	48
Ucapan terima kasih.....	49
Daftar Acuan.....	50
Lampiran.....	53
MAKALAH II: KUANTIFIKASI EKSPRESI GEN TERMOREGULATOR SAPI BALI DI BEBERAPA DAERAH DI INDONESIA DENGAN METODE REVERSE TRANSCRIPTION QUANTITATIVE PCR (RT-qPCR)	58
Abstrak.....	59
Pendahuluan.....	59
Metodologi Penelitian.....	61
A. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	61
B. Alat dan Bahan.....	61

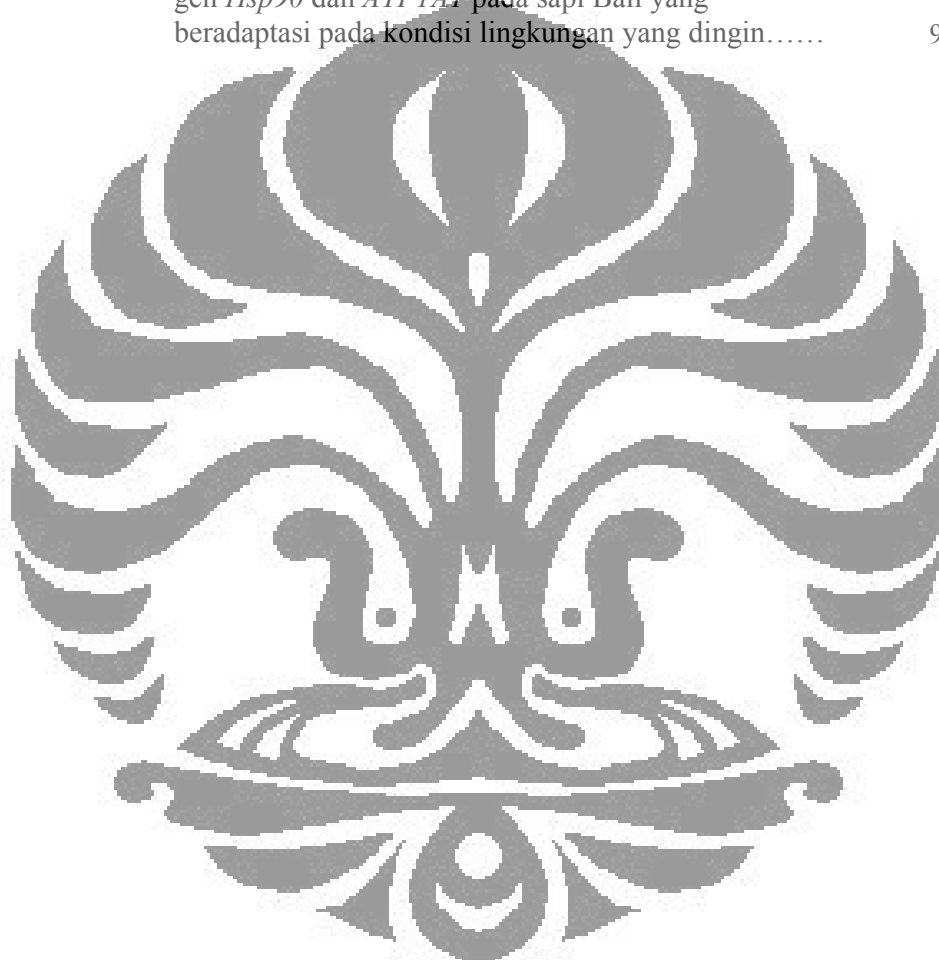
C. Cara Kerja	62
1. Isolasi dan kuantifikasi RNA	62
2. Sintesis untai pertama cDNA (<i>Complementary Deoxyribonucleid Acid</i>)	64
3. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>) dan Elektroforesis	64
4. Kuantitatif transkripsi balik PCR (RT-qPCR)	66
5. Analisis data	67
Hasil dan Pembahasan	68
A. <i>Ribonucleic Acid</i> (RNA)	68
B. <i>Complementary Deoxyribonucleic Acid</i> (cDNA)	69
C. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) dan Kuantitatif Transkripsi Balik PCR (RT-qPCR)	71
1. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	73
2. Kuantitatif Transkripsi Balik PCR (RT-qPCR).....	74
Kesimpulan	81
Saran	82
Ucapan Terima kasih	82
Daftar Acuan	82
Lampiran	88
DISKUSI PARIPURNA	92
RANGKUMAN KESIMPULAN DAN SARAN	99
DAFTAR ACUAN	100



DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Kondisi iklim mikro di Pulau Bali, Sulawesi Selatan, Pulau Sumbawa dan Bogor periode 2006-2015	2
2	Suhu udara minimum dan maksimum di Pulau Bali (a), di Sulawesi Selatan (b), Pulau Sumbawa (c), dan Bogor (d) periode 2006-2015	3
I.1	Pengukuran fisiologi sapi berupa suhu rektum (Sr), suhu kulit dan laju pernapasan (Fp). Suhu permukaan kulit pada empat bagian tubuh sapi, yaitu A. bagian punggung tepat di belakang pundak, B. bagian dada tepat di belakang ketiak, C. tungkai kaki depan bagian atas, dan D. tungkai kaki depan bagian bawah (D)	14
I.2	Perbedaan rerata suhu permukaan kulit sapi Bali di empat lokasi penelitian	17
I.3	Perbedaan rerata suhu rektum sapi Bali di empat lokasi penelitian	23
I.4	Perbedaan rerata suhu tubuh sapi Bali di empat lokasi penelitian	27
I.5	Perbedaan rerata laju pernapasan sapi Bali di empat lokasi penelitian	33
I.6	Perbedaan rerata HTC sapi Bali di empat lokasi penelitian	38
I.7	Perbedaan rerata suhu udara di empat lokasi penelitian	43
I.8	Perbedaan rerata kelembaban udara di empat lokasi penelitian	44
I.9	Perbedaan rerata kecepatan angin di empat lokasi penelitian	44
I.10	Perbedaan rerata intensitas matahari di empat lokasi penelitian	45
I.11	Perbedaan rerata indeks syhy dan kelembaban udara (THI) di empat lokasi penelitian	46
II.1	Posisi spin kolom di dalam tabung koleksi (Promega 2016 dengan modifikasi)	63
II.2	Desain pada 96-well plate qRT-PCR	66
II.3	Konsentrasi RNA pada sapi Bali di Cipelang, Desa Lombo Tengah, Desa Sumber Klampok, dan Desa Telaga Bertong	69
II.4	Konsentrasi cDNA pada sapi Bali di Cipelang, Desa Lombo Tengah, Desa Sumber Klampok, dan Desa Telaga Bertong	70
II.5	Hasil elektroforesis dari PCR cDNA. M. DNA ladder 100 bp, 1. Gen <i>ATP1A1</i> , 2. Gen <i>Hsp90</i> , dan 3. Gen <i>GADPH</i>	74
II.6	Kurva disosiasi primer (a) <i>Hsp90</i> , (b) <i>ATP1A1</i> dan (c) <i>GADPH</i>	75
II.7	Rasio ekspresi gen <i>Hsp90/GADPH</i> dan gen <i>ATP1A1/GADPH</i> pada sapi Bali di Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng	78
II.8	Rasio ekspresi gen <i>Hsp90/GADPH</i> dan gen	

	<i>ATP1A1/GADPH</i> pada sapi Bali di Cipelang Kabupaten Bogor.....	79
II.9	Rasio ekspresi gen <i>Hsp90/GADPH</i> dan gen <i>ATP1A1/GADPH</i> pada sapi Bali di Desa Lombo Tengah Kabupaten Barru	80
II.10	Rasio ekspresi gen <i>Hsp90/GADPH</i> dan gen <i>ATP1A1/GADPH</i> pada sapi Bali di Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat.....	80
3	Hubungan respons fisiologi dan peningkatan regulasi gen <i>Hsp90</i> dan <i>ATP1A1</i> pada sapi Bali yang beradaptasi pada kondisi lingkungan yang panas.....	95
4	Hubungan respons fisiologi dan peningkatan regulasi gen <i>Hsp90</i> dan <i>ATP1A1</i> pada sapi Bali yang beradaptasi pada kondisi lingkungan yang dingin.....	97



DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
I.1	Rerata suhu permukaan kulit sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong	16
I.2	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu permukaan kulit antar individu sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari	18
I.3	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu permukaan kulit antar individu sapi Bali di Desa Lombo Tengah pada pagi dan sore hari	19
I.4	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu permukaan kulit antar individu sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari	20
I.5	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu permukaan kulit antar individu sapi di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari	21
I.6	Rerata suhu rektum sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong ...	22
I.7	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu rektum antar individu sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari	24
I.8	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu rektum antar individu sapi Bali di Desa Lombo Tengah pada pagi dan sore hari	25
I.9	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu rektum antar individu sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari	25
I.10	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu rektum antar individu sapi di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari	26
I.11	Rerata suhu tubuh sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong	27
I.12	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu tubuh antar individu sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari	29
I.13	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu tubuh antar individu sapi Bali di Desa Lombo Tengah pada pagi dan sore hari	29
I.14	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu tubuh antar individu sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari	30
I.15	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari suhu tubuh antar individu sapi di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari	31
I.16	Rerata laju pernapasan sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong ...	33
I.17	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji	

	Multivariate laju pernapasan antar individu sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari	34
I.18	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari laju pernapasan antar individu sapi Bali di Desa Lombo Tengah pada pagi dan sore hari	35
I.19	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari laju pernapasan antar individu sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari.....	35
I.20	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari laju pernapasan antar individu sapi di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari	36
I.21	Rerata HTC sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong.....	37
I.22	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari HTC antar individu sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari	38
I.23	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari HTC antar individu sapi Bali di Desa Lombo Tengah pada pagi dan sore hari	39
I.24	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari HTC antar individu sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari	39
I.25	Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji Multivariate dari HTC antar individu sapi di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari	40
I.26	Kondisi lingkungan berupa suhu udara, kelembaban udara, kecepatan angin dan intensitas matahari pagi dan sore hari di lokasi penelitian	41
I.27	Hasil uji pengaruh lokasi penelitian, waktu pengambilan data dan interaksi antara lokasi penelitian dan waktu pengambilan data terhadap perbedaan suhu udara, kelembaban udara, kecepatan angin dan intensitas matahari	42
I.28	Hubungan korelasi data fisiologi sapi Bali dengan parameter lingkungan di empat lokasi penelitian	47
II.1	Primer <i>forward</i> dan <i>reverse</i> dari gen <i>HSP90</i> , <i>ATPIAI</i> dan <i>GADPH</i>	62
II.2	Kondisi PCR	65
II.3	Kondisi qRT-PCR untuk menghitung ekspresi gen <i>Hsp90</i> , <i>ATPIAI</i> , dan <i>GADPH</i>	67
II.4	Ekspresi gen <i>Hsp90</i> dan <i>ATPIAI</i> pada sapi Bali dan nilai indeks suhu dan kelembaban (THI) di lokasi penelitian	76

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
I.1	Rerata profil fisiologi sapi Bali di Cipelang Kabupaten Bogor	53
I.2	Uji multivariate dari pengambilan data fisiologi sapi Bali di Cipelang Kabupaten Bogor	53
I.3	Rerata profil fisiologi sapi Bali di Desa Lompo Tengah Kabupaten Barru	54
I.4	Uji multivariate dari pengambilan data fisiologi sapi Bali di Desa Lompo Tengah Kabupaten Barru	54
I.5	Rerata profil fisiologi sapi Bali di Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng	55
I.6	Uji multivariate dari pengambilan data fisiologi sapi Bali di Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng	55
I.7	Rerata profil fisiologi sapi Bali dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat	56
I.8	Uji multivariate dari pengambilan data fisiologi sapi Bali dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat	56
I.9	Interaksi lokasi penelitian dan waktu pengambilan data terhadap profil fisiologi sapi Bali	57
II.1	Konsentrasi dan kemurnian RNA dari sampel darah sapi di empat lokasi penelitian	88
II.2	Uji normalitas konsentrasi RNA sapi Bali di empat lokasi dengan uji Shapiro-Wilk	89
II.3	Uji homogenitas konsentrasi RNA sapi Bali di empat lokasi dengan Uji Levene	89
II.4	Uji Kruskal-Wallis konsentrasi RNA sapi Bali di empat lokasi	89
II.5	Konsentrasi eDNA (ng/ μ L) sapi Bali di empat lokasi penelitian	90
II.6	Uji Kruskal-Wallis pada ekspresi gen <i>Hsp90</i> dan <i>ATP1A1</i> sapi Bali	90
II.7	Penetapan rangking daerah penelitian berdasarkan jumlah <i>fold</i> gen <i>Hsp90</i> dan <i>ATP1A1</i>	91

Name : Setia Betaria Aritonang Date : January 11th, 2017
Title : Physiology Profiles and Thermoregulatory Gene Expression
on Bali cattle (*Bos sondaicus*) by Effect of Heat Stress in
Indonesia
Thesis supervisor : Dr. Anom Bowolaksono, M.Sc.
Dr. Muhammad Imron, M.Si.

SUMMARY

Bali cattle have adaptability to tropical climate conditions, indicated by the region of its dispersal in various areas in Indonesia. The centre area of Bali cattle dispersal was in Bali Island, Sumbawa Island, and South Sulawesi since the colonization of the Netherlands. These areas have different microclimate because of its geography and topography different. The study of the physiology and molecular responses of Bali cattle in these areas have not been studied. Meanwhile, the benefits of studying the physiological and molecular response of the physical condition of an environment useful to reduce the negative effects that occur in particular due to the increase in global temperature of the earth has reached 2 °C in 1970 – 2004. The increase in global temperature of the Earth affects the surface temperature in Indonesia. Meanwhile, tropical climate conditions that have high temperatures and high humidity become barriers to increased productivity of cattle. Temperatures in the tropics were above the thermoneutral zone of beef cattle so it can create heat stress in cattle, especially Bali cattle in Indonesia. Heat stress in cattle characterized by an increase in body temperature and respiratory rate. Increased of body temperature signals to *Hsp90* gene synthesis. While the increase in respiratory rate effects on increasing *ATP1A1* gene synthesis. Both of these genes are used to molecular study in thermoregulation of Bali cattle using the method of reverse transcription quantitative PCR. This research aims to study the profile of physiology and gene expression of *Hsp90* and *ATP1A1* on Bali cattle by the effect of heat stress in Sumber Klampok village in Buleleng District, Bali Province, Lompo Tengah village in Barru District, South Sulawesi Province, Telaga Bertong village in West

Sumbawa District, West Nusa Tenggara Province, and Cipelang in Bogor District, West Java Province.

Bali Cattle responded to changes in microclimate conditions in four locations through increasing skin temperature, rectal temperature, body temperature and respiratory rate. Conditions of air temperature, air humidity and solar intensity at these four locations were significantly different ($p=0$), while the wind speed did not differ significantly ($p=0.056$). The increase in air temperature accompanied by increased of solar intensity and decreased of humidity cause increase in skin temperature, rectal temperature, and body temperature as the body's adaptation to the environment. Increased of respiratory rate aims to reduce the heat load in the body so that the body temperature turns down and the heat balance occurs. Increased of body temperature and respiratory rate on Bali cattle at four research sites are within the normal range so there is no significant difference in the *Hsp90* gene expression ($p=0.639$) and *ATP1A1* ($p=0.185$) in four study sites.

Bali cattle in Cipelang had temperature and respiratory rate that significantly lower ($p=0$) than three other locations. It was caused by the low temperatures, which is 21.76 °C to 21.8 °C, and high humidity which is 89.9 to 90.7 %. The THI value was in normal zones, which is 70.1 to 70.4. This THI value means the heat load received from the environment didn't create heat stress on Bali cattle in Cipelang. Although the heat load received by Bali cattle in Cipelang still within the normal range, *ATP1A1* gene expression was higher, at 31.1 fold, than population of Bali cattle in other locations. Upregulation of *ATP1A1* gene aims to maintain the rigid structure and permeability of cell membranes because cold temperatures exposure can modify the cell volume. Meanwhile, the upregulation of *Hsp90* gene that also occurred on Bali cattle in Cipelang to prevent protein denaturation of enzyme Na^+/K^+ -ATPase.

Thermoregulation of Bali cattle in Sumber Klampok village, Buleleng District had been active since the early morning because the conditions of the air temperature in the morning around 25.2 °C which is above the temperature of thermoneutral beef cattle. Body temperature and respiratory rate of Bali cattle in Sumber Klampok village in the morning was higher than the other locations.

These cattle maintained the heat balance by the increasing heat loss through breathing, so the body's heat load became low. Low heat load was marked by the cattle's body temperature in the afternoon which is lower than Lompo Tengah village and Sumber Klampok village as well as *Hsp90* gene and *ATP1A1* gene expression relatively lower, at 2.67 fold and 3.03 fold, than three other locations. Upregulation of *Hsp90* gene caused downregulation of *ATP1A1* gene on cattle that had higher temperature and respiratory rate in the afternoon.

Environmental conditions in research area, Lompo Tengah village and Telaga Bertong village had higher temperature and light intensity and lower humidity than Sumber Klampok village and Cipelang. The wind speed in Lompo Tengah village that was higher than Telaga Bertong village help heat loss process by convection, so the body temperature of Bali cattle population in Lompo Tengah village was lower than Telaga Bertong village. High heat load in Lompo Tengah village and Telaga Bertong village gave signal to increase the regulation of *Hsp90* and *ATP1A1* genes. *Hsp90* gene expression on Bali cattle population in Telaga Bertong village, about 10.68 fold, was the highest expression of genes in this study. This was due to the increase in body temperature that was not accompanied by increase in respiratory rate when the air temperature in the afternoon was relatively higher and the humidity was relatively lower than the morning.

xx + 104 pp ; 25 plates ; 32 tables; 16 appendices
Bibl.: 112 (1954 – 2015)

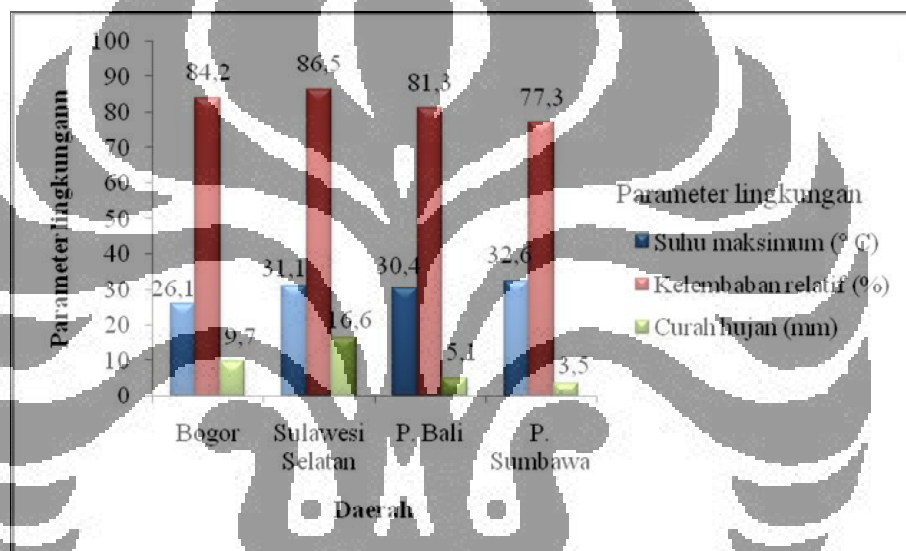
PENGANTAR PARIPURNA

Indonesia kaya akan rumpun sapi lokal, di antaranya adalah sapi Bali, sapi Aceh, sapi Pasundan, sapi Pesisir, sapi Peranakan Ongole. Rumpun sapi lokal tersebut ada yang berasal asli Indonesia dan juga dari luar Indonesia yang kemudian dikawinsilangkan dengan sapi asli dan dibudidaya dalam waktu yang lama. Sapi Bali merupakan sapi asli Indonesia yang sumber genetiknya berasal dari Banteng (*Bos javanicus*) (Mohamad dkk. 2012). Sapi Bali diduga didomestikasi dari Banteng sejak jaman kerajaan Nusantara kuno, namun belum diketahui secara pasti waktunya. Daerah asal domestikasi diperkirakan terjadi di Bali karena gen asli sapi yang berasal dari Bali (Nozawa 1979). Menurut Pane (1993), sapi Bali (*B. sondaicus*) masuk dalam kingdom Animalia, subkingdom Metazoa, filum Chordata, subfilum Craniata, kelas Mamalia, subkelas Eutheria, ordo Artiodactyla, famili Bovidae, genus *Bos* dan subgenus *Bibos*. Subgenus sapi Bali berbeda dengan subgenus sapi Zebu dan sapi Taurin yang masuk dalam subgenus *Bos*.

Penyebaran sapi Bali di Indonesia dimulai pada tahun 1890 kemudian dilanjutkan di tahun 1920 dan 1927 ke Sulawesi. Selanjutnya sapi Bali dikirim oleh pemerintahan Belanda dalam jumlah besar ke Sulawesi Selatan di tahun 1947. Selain Sulawesi Selatan, sapi Bali juga disebar ke Lombok di abad ke-19 yang dibawa oleh raja-raja pada zaman itu, dan disebar ke Pulau Timor di tahun 1912 dan 1920 (Hardjosubroto & Astuti 1993). Penyebaran sapi Bali ke seluruh Indonesia dilakukan oleh pemerintah Indonesia pada tahun 1970 bersama dengan program transmigrasi, tetapi pusat persebaran sapi Bali berada di Bali, Sulawesi Selatan, Nusa Tenggara (Purwantara dkk. 2012).

Daerah pusat persebaran sapi Bali di Bali, Sulawesi Selatan, Nusa Tenggara ini menjadi topik menarik untuk dilakukan penelitian mengenai profil fisiologi dan ekspresi gen termoregulator dari sapi di masing-masing lokasi. Ketiga lokasi tersebut berada pada letak geografi dan astronomi yang berbeda, sehingga memiliki iklim mikro yang berbeda. Perbedaan topografi dan jumlah curah hujan akan mempengaruhi suhu dan kelembaban lokasi tersebut. Pulau

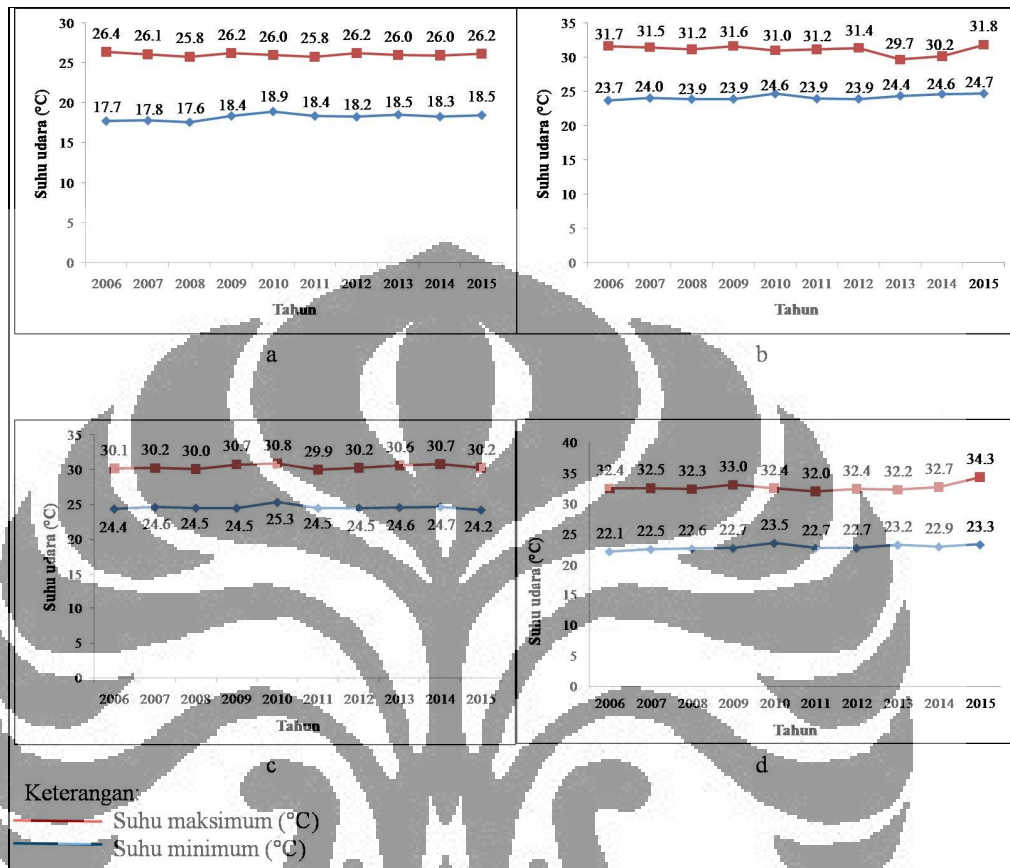
Sulawesi termasuk daerah lembab karena berdekatan dengan garis khatulistiwa. Sementara, daerah di Pulau Jawa bervariasi kelembabannya. Daerah yang terletak di bagian barat Pulau Jawa bersifat lembab tetapi semakin ke timur semakin kering (Rafi'i 1995). Gambar 1 menampilkan kondisi iklim mikro di Pulau Bali, Sulawesi Selatan, Pulau Sumbawa dan Bogor. Kondisi iklim di Pulau Sumbawa relatif lebih panas, lebih kering dan curah hujan yang rendah daripada tiga daerah lainnya. Sebaliknya, Bogor relatif lebih dingin, lembab dan curah hujan yang tinggi daripada Pulau Bali dan Pulau Sumbawa. Sementara, kondisi iklim di Sulawesi Selatan lebih panas tetapi lebih lembab dan curah hujan yang tinggi daripada Pulau Bali dan Bogor.



Gambar 1. Kondisi iklim mikro di Pulau Bali, Sulawesi Selatan, Pulau Sumbawa dan Bogor periode 2006-2015. (Sumber data : Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika 2016 dengan modifikasi)

Kenaikan suhu global menjadi ancaman bagi kehidupan makhluk hidup. IPCC *Fourth Assessment Report* (2007) menyatakan adanya peningkatan suhu permukaan bumi sebesar 2 °C. Peningkatan suhu juga terjadi di Pulau Bali, Sulawesi Selatan, Pulau Sumbawa dan Bogor sejak tahun 2006 sampai 2015 (lihat Gambar 2). Kenaikan suhu udara di keempat lokasi bervariasi, mulai dari 0,1 °C hingga 1,9 °C (Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika 2016). Scholtz dkk. (2013) menambahkan bahwa daerah yang letaknya di bagian selatan garis

khatulistiwa lebih terkena dampak kenaikan suhu global daripada bagian utara garis khatulistiwa. Kenaikan suhu global tersebut tentu berpengaruh pada produktivitas ternak.



Gambar 2. Suhu udara minimum dan maksimum di (a) Bogor, (b) Sulawesi Selatan, (c) Pulau Bali, dan (d) Pulau Sumbawa tahun 2006 – 2015. (Sumber data : Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika 2016 dengan modifikasi)

Iklm tropis dan subtropis berpengaruh langsung dan tidak langsung pada pertumbuhan dan produktivitas ternak. Daerah beriklim tropis mempunyai suhu dan intensitas matahari yang tinggi dan menjadi pembatas bagi pertumbuhan dan produktivitas sapi karena suhu udara di daerah iklim tropis berada di atas zona termonetral sapi (Scholtz dkk. 2013). Sementara, zona termonetral sapi potong di daerah tropis berada pada suhu lingkungan 15 – 25 °C (Mader dkk. 2003).

Sapi merupakan hewan mammalia yang homeostasis, artinya hewan tersebut mampu mengatur suhu tubuh tetap stabil pada kisaran 37,8 – 39,1 °C,

meskipun suhu lingkungan tidak stabil (Gaughan dkk. 1999). Pengaturan suhu tubuh dikenal sebagai proses termoregulasi, yaitu proses menjaga keseimbangan antara panas yang diproduksi dalam tubuh dan panas yang dilepaskan ke lingkungan. Sistem termoregulasi sapi menjadi aktif ketika suhu lingkungan di atas 25 °C. Kondisi suhu lingkungan 25 °C dikombinasi kelembaban tinggi, kecepatan angin yang rendah dan sinar matahari yang langsung mengenai tubuh sapi akan menyebabkan sapi mengalami cekaman panas (Scholtz dkk. 2013).

Cekaman atau stres pada hewan merupakan fenomena kompleks antara fisiologi, psikologi dan respon tingkah laku hewan. Salah satu cekaman yang terjadi pada daerah tropis adalah cekaman panas (Kashyap dkk. 2014). Pada saat sapi mengalami cekaman panas, produksi panas yang berasal dari metabolisme organ-organ tubuh dikurangi tetapi pelepasan panas ditingkatkan. Semakin banyak energi panas yang diterima maka semakin banyak juga energi panas dilepaskan. Pelepasan panas terjadi melalui mekanisme evaporasi dan non evaporasi. Mekanisme evaporasi terjadi melalui respirasi dan keringat. Sementara, mekanisme non evaporasi terjadi melalui konduksi, konveksi dan radiasi. Mekanisme konduksi terjadi ketika dua benda yang berdekatan mempunyai gradien suhu. Mekanisme konveksi membutuhkan angin sebagai media penghantar pelepas panas. Kombinasi mekanisme konduksi dan konveksi terjadi pada pembuluh darah di dekat kulit dan paru-paru. Pembuluh darah mengalami vasodilatasi ketika beban panas meningkat, kemudian darah yang membawa beban panas tersebut menuju ke pembuluh darah tepi di sekitar kulit dan paru-paru. Beban panas yang keluar melalui kulit terjadi melalui konveksi, bila ada angin, dan keringat. Sementara, beban panas yang keluar dari paru-paru terjadi melalui respirasi. Sebanyak 85 % beban panas dilepaskan dari tubuh melalui mekanisme non evaporasi dan 15 % dilepaskan melalui evaporasi (Finch 1986).

Parameter yang digunakan untuk mengevaluasi cekaman panas pada sapi dapat berasal dari lingkungan dan hewan (Preez 2000). Parameter lingkungan yang digunakan untuk evaluasi cekaman panas pada sapi adalah suhu, kelembaban udara, kecepatan angin dan radiasi matahari. Beban panas yang ada di lingkungan ternak digambarkan melalui nilai THI (*Temperature and Humidity Index*) karena

suhu dan kelembaban udara sangat mempengaruhi proses termoregulasi tubuh. Selanjutnya, THI dikelompokkan menjadi 4 zona, yaitu zona normal bila nilai THI kurang dari 70, zona *alert* bila nilai THI antara 71 – 78, zona *danger* bila nilai THI antara 79 – 83, dan zona *emergency* bila nilai THI lebih dari 83. Parameter hewan yang digunakan untuk evaluasi cekaman panas pada sapi adalah tingkah laku, fisiologi dan genetika. Suhu rektum dan laju pernapasan sapi merupakan parameter fisiologi yang umumnya digunakan untuk mengevaluasi cekaman panas pada sapi (Preez 2000, Collier & Collier 2011). Kulit hewan, khususnya sapi, juga berperan penting dalam mengevaluasi cekaman panas karena kulit merupakan organ pelindung tubuh dari tekanan fisika, biologi dan kimia yang berasal dari lingkungan. Maibam dkk. (2017) menyatakan perbedaan kulit pada sapi zebu dan sapi persilangan zebu berpengaruh terhadap sintesis gen *Hsp70*, gen yang disintesis bila terjadi cekaman panas. Ekspresi gen *Hsp70* nyata lebih tinggi pada kulit sapi zebu daripada sapi persilangan.

Kemampuan menjaga keseimbangan panas setiap individu sapi berbeda, tergantung jenis spesies, ukuran dan anatomi tubuh, usia, dan struktur lapisan mantel kulit sapi. Sapi turunan *Bos indicus* disebut sebagai sapi yang peka terhadap panas karena habitat asalnya adalah daerah tropis. Selain itu, kelenjar keringat yang banyak di bawah kulit, warna kulit yang terang, dan lapisan mantel berupa rambut yang tipis dan densitas rambut yang jarang menyebabkan sapi tersebut mudah melepaskan panas. Sapi yang berasal dari *Bos taurus* mempunyai lapisan mantel berupa rambut yang warna gelap, padat dan densitasnya yang rapat menyebabkan sapi sulit melepaskan panas dan tidak peka terhadap kondisi iklim tropis (Gaughan dkk. 1999, Hansen 2004).

Sapi Bali mempunyai kulit yang dominan berwarna coklat keemasan pada betina dewasa dan warna coklat kehitaman pada sapi jantan. Baik sapi jantan maupun sapi betina mempunyai warna bulu putih di kaki bagian bawah mulai dari tarsus ke bawah, bulu warna putih di bagian posterior dengan batas yang jelas dan berbentuk oval, warna putih pada bibir atas dan bibir bawah. Evaluasi respons fisiologi sapi Bali di daerah Merauke telah dilakukan oleh Saiya (2012) yang menyatakan bahwa sapi Bali memberi respons yang lebih rendah daripada sapi

Peranakan Ongole yang merupakan turunan dari *B. indicus*. Iklim di Merauke tercatat bersuhu $29,05 \pm 2,44$ °C dan kelembaban $79,15 \pm 9,03$ %.

Perubahan fisiologi tubuh sebagai respons terhadap cekaman panas diatur oleh gen termoregulator (Hansen 2004). Beberapa kandidat gen termoregulator yang digunakan dalam kajian cekaman panas adalah *heat shock protein (Hsp)* (Sohdi dkk. 2013, Deb dkk. 2014, Gaughan dkk. 2013, Mehla dkk. 2014, Rajoriya dkk. 2014, Kumar dkk. 2015), *ATP1A1* (Liu dkk. 2010, Liu dkk. 2011, Kashyap dkk. 2014, Kang dkk. 2015). Gen *Hsp* disintesis oleh inti sel dan bertanggung jawab terhadap sintesis protein HSP. Kemelimpahan protein HSP hanya 1 – 2 % dalam keadaan sel normal, tetapi sintesis protein meningkat ketika ada induksi cekaman (Kregel 2002). Maloyana dkk (1999) menyatakan peningkatan suhu tubuh memberi sinyal untuk dilakukan transkripsi gen *Hsp*. Jenis gen *Hsp* yang bertanggung jawab terhadap cekaman panas adalah gen *Hsp70* dan *Hsp90*. Kedua gen ini berbeda fungsi tetapi saling berhubungan ketika cekaman panas. Protein HSP70 mendenaturasi protein yang tidak tersintesis sempurna, sedangkan protein HSP90 mengikat protein yang tidak tersintesis sempurna sehingga tidak didenaturasi (Wegele dkk. 2004). Deb dkk. (2014) menyatakan bahwa protein HSP90 mempertahankan viabilitas sel ketika sel diberi cekaman panas secara *in vitro* dan *in vivo*. Perbedaan jenis sapi mempengaruhi suhu rektum dan konsentrasi protein HSP90. Sapi Sahiwal (*B. indicus*) mempunyai suhu rektum yang lebih rendah dan mensintesis *Hsp90* lebih tinggi daripada sapi Frieswal (*B. indicus* x *B. taurus*) sehingga viabilitas sel sapi Sahiwal lebih tinggi daripada sapi Frieswal. Hal ini menunjukkan sapi *B. indicus* lebih peka terhadap cekaman panas daripada *B. taurus* atau hasil silangannya.

Gen *ATP1A1* yang melimpah pada sel saraf tepi dan sel darah disintesis dalam jumlah yang lebih banyak pada cekaman dingin (Kang dkk. 2015) dan cekaman panas (Liu dkk. 2011). Gen *ATP1A1* ini meregulasi enzim Na^+/K^+ -ATPase α -1 untuk memompa tiga ion Na^+ ke luar dan dua ion K^+ masuk ke dalam sel. Gen *ATP1A1* membutuhkan 19 – 28 % energi ATP yang disintesis oleh sel dalam keadaan sel normal, dan jumlah energi yang lebih besar dari kebutuhan normal ketika sel mengalami cekaman panas (Clarke dkk. 2006). Aktivitas masuk dan keluar kedua ion tersebut berguna untuk menjaga permeabilitas membran

plasma. Enzim ini juga berguna untuk menjaga fluiditas membran sel ketika sel terpapar suhu dingin. Cekaman dingin menyebabkan penurunan fluiditas membran dan perubahan komponen asam jenuh membran sel, sehingga laju difusi air dan molekul ion menjadi rendah. Selain cekaman dingin, cekaman panas dapat merangsang terjadinya cekaman oksidatif pada sel, khususnya sel darah yang sensitif terhadap cekaman oksidatif. Radikal bebas yang dihasilkan oleh cekaman oksidatif akan merusak komponen lipid sel yang kemudian mempengaruhi aktivitas transport aktif ion Na^+ dan K^+ (Bernabucci dkk. 2002) dan fluiditas membran sel (Cooper & Hausman 2013). Polimorfisme genotip *ATP1A1* mempengaruhi termoregulasi tubuh pada sapi *B. indicus* (Kashyap dkk. 2015) dan *B. taurus* (Liu dkk 2010). Sapi *B. indicus* yang bergenotip CC atau CA mempunyai suhu tubuh yang lebih rendah dan laju pernapasan yang lebih tinggi daripada sapi yang bergenotip AA. Sementara, sapi *B. taurus* bergenotip AC mempunyai suhu rektum yang lebih rendah dari genotip CC atau AA.

Kajian tentang pengaruh cekaman panas terhadap sapi Bali di Indonesia baru dilakukan secara fisiologi saja hingga saat ini, padahal perlu dilakukan kajian adaptasi tingkat gen untuk mengetahui regulasi gen yang mengatur termoregulasi sapi Bali terhadap kondisi iklim di Indonesia. Kajian gen *Hsp* dan *ATP1A1* yang telah dipelajari memberi pengaruh terhadap termoregulasi pada sapi *B. indicus* dan *B. taurus*, tetapi kajian tersebut belum pernah dilakukan pada sapi Bali di Indonesia. Ekspresi kedua gen tersebut perlu dipelajari pada sapi lokal Indonesia untuk mengurangi dampak negatif terhadap cekaman panas (Mehla dkk. 2014).

Metode kuantitatif transkripsi balik PCR (RT-qPCR) merupakan penggabungan metode transkripsi balik dan metode PCR konvensional. Metode RT-qPCR dipakai untuk mempelajari ekspresi mRNA atau gen. Prinsip kerja RT-qPCR adalah melakukan amplifikasi pada cDNA yang spesifik dari proses transkripsi melalui sejumlah siklus PCR yang kemudian hasil amplifikasi dihitung berdasarkan intensitas fluoresensi (Steibel dkk. 2009). Kelebihan metode RT-qPCR dari metode lainnya adalah hasil amplifikasi dihitung secara langsung dengan menggunakan komparasi delta Ct (*Cycle threshold*). Komparasi delta Ct ($\Delta\Delta\text{Ct}$) membandingkan nilai Ct sampel perlakuan dengan Ct sampel kontrol yang dinormalisasi oleh Ct gen pengatur internal (*housekeeping gene*). Ct merupakan

siklus PCR dari gen berupa sinyal fluoresensi yang melewati garis ambang yang telah ditetapkan. Keuntungan menggunakan metode komparasi delta Ct adalah mudah digunakan dan datanya dapat digunakan untuk menentukan ekspresi gen dengan cara menghitung perubahan lipatan pada gen (*gene fold change*) (Schmittgen & Livak 2008). Bionaz dan Looor (2007) menyatakan bahwa metode qPCR lebih akurat untuk mempelajari jumlah gen yang sedikit daripada metode *microarray* yang spesifik pada sapi (*bovine-specific microarray*). Dengan demikian, metode ini dipakai untuk mempelajari ekspresi gen termoregulator pada sapi Bali berdasarkan cekaman panas di beberapa daerah di Indonesia.

Penelitian tentang kajian profil fisiologi sapi Bali di Indonesia belum banyak dilakukan sedangkan penelitian tentang kajian ekspresi gen termoregulator belum pernah dilakukan pada sapi Bali di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari profil fisiologi sapi Bali di beberapa daerah di Indonesia dan mempelajari gen termoregulator serta ekspresinya pada sapi Bali. Dengan demikian, penelitian ini akan dibagi menjadi dua makalah. Makalah pertama akan membahas mengenai profil fisiologi sapi Bali yang hidup di Cipelang Kabupaten Bogor, desa Lompo Tengah Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan, desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng, Bali dan desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat, NTB. Sapi Bali yang memiliki perbedaan nyata dalam merespons kondisi lingkungan di daerah penelitian pada makalah pertama akan menjadi subjek penelitian di makalah kedua. Makalah kedua akan membahas ekspresi gen termoregulator, *Hsp90* dan *ATP1A1*, pada sapi Bali dengan menggunakan metode kuantitatif transkripsi balik. Hasil penelitian ini diperoleh hubungan profil fisiologi sapi Bali dengan ekspresi gen termoregulator berdasarkan cekaman panas di Indonesia.

Makalah 1
**PROFIL FISILOGI SAPI BALI (*Bos sondaicus*) BERDASARKAN
PENGARUH CEKAMAN PANAS DI BEBERAPA DAERAH DI
INDONESIA**

Setia Betaria Aritonang, Anom Bowolaksono, & Muhammad Imron

Program Studi Biologi, Program Pascasarjana,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia
Kampus UI, Depok, Jawa Barat
setia.betaria@yahoo.co.id

ABSTRAK

Sapi Bali merupakan salah satu sapi lokal Indonesia yang dimanfaatkan sebagai sapi ternak potong, tetapi iklim di Indonesia yang berada di atas zona termonetral sapi. Penelitian mengenai profil fisiologi sapi Bali terhadap kondisi iklim di Indonesia belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari profil fisiologi sapi Bali yang merespons kondisi iklim mikro di Cipelang Kabupaten Bogor, Desa Lombo Tengah Kabupaten Barru, Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng dan Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat. Data fisiologi sapi berupa suhu kulit, suhu rektum dan laju pernapasan serta data lingkungan berupa suhu, kelembaban udara, kecepatan angin dan intensitas matahari di setiap daerah diukur dua kali, yaitu jam 7 pagi dan 3 sore. Analisis data menggunakan uji multivariate dan uji korelasi Pearson. Suhu udara, kelembaban udara dan intensitas matahari di empat lokasi berbeda nyata ($p=0$), tetapi kecepatan angin tidak berbeda nyata ($p=0,056$), sehingga mempengaruhi perbedaan suhu kulit, suhu rektum, suhu tubuh, dan laju pernapasan. Kondisi lingkungan di Desa Sumber Klampok merupakan zona termonetral sapi Bali sedangkan Cipelang berada di bawah zona termonetralnya, dan Desa Lombo Tengah serta Desa Telaga Bertong berada di atas zona termonetralnya. Sapi Bali merespons iklim Indonesia dengan meningkatkan suhu kulit, suhu rektum, suhu tubuh dan laju pernapasan.

Kata kunci: cekaman panas, respon fisiologi, sapi Bali, termoregulasi.

ABSTRACT

Bali cattle is one of Indonesia local cattle were used as beef cattle, but the climate in Indonesia is above the cattle thermoneutral zone. Research on the physiological profile of Bali cattle against climatic conditions in Indonesia has not been done. This research aimed to study the physiology profile Bali cattle were responding to the microclimate in Cipelang in Bogor District, Lompo Tengah village in Barru District, Sumber Klampok village in Buleleng District and Telaga Bertong village in West Sumbawa District. The physiological data such as skin temperature, rectal temperature and respiratory rate as well as environmental data such as temperature, humidity, wind speed and light intensity in every area measured twice, at 7 am and 3 pm. Data analysis using multivariate test and Pearson correlation test. Air temperature, humidity and the light intensity at four locations were significantly different ($p=0$) but the wind speed did not differ significantly ($p=0.056$), thus affecting differences in skin, rectal and body temperature and respiratory rate. Environmental conditions in the village of Sumber Klampok was thermoneutral zone of Bali cattle, while in Cipelang was under thermoneutral zone, and both of Lompo Tengah village and Telaga Bertong village were above thermoneutral zone. Bali cattle responded to Indonesia climate by increasing the skin, rectal and body temperature and respiration rate.

Key words: Bali cattle, heat stress, physiology response, thermal regulation.

PENDAHULUAN

Posisi Indonesia yang terletak di daerah tropis, di antara Benua Asia dan Australia, di antara Samudera Pasifik, dan Samudera Hindia, serta dilalui garis khatulistiwa, terdiri dari pulau dan kepulauan yang membujur dari barat ke timur, menyebabkan wilayah Indonesia rentan terhadap perubahan iklim. Sementara kondisi topografi wilayah Indonesia yang memiliki daerah pegunungan, daerah berlembah, serta banyak pantai, merupakan fitur lokal yang menambah beragamnya kondisi iklim di wilayah Indonesia. Beberapa daerah di Indonesia yang tidak memiliki batasan yang jelas antara musim kemarau dan musim hujan, seperti daerah Bogor dan utara Sulawesi Selatan, Maluku dan beberapa wilayah di Papua. Selain itu, iklim di Indonesia dipengaruhi oleh fenomena El Nino/La Nina

yang kemudian mempengaruhi curah hujan di wilayah Indonesia. Berdasarkan analisis Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika (2015), El Nino yang terjadi pada tahun 2015 mempengaruhi mundurnya awal musim hujan 2015/2016 yang jatuh pada bulan Desember 2015 dan tentunya menggeser prakiraan musim kemarau di tahun 2016.

Sapi Bali dimanfaatkan sebagai ternak potong oleh masyarakat Indonesia. Hal ini disebabkan oleh keunggulannya berupa persentase karkas yang tinggi (51 – 57 %), kadar lemak daging rendah (2 – 6,9 %), persentase angka kelahiran 80 %, dan daya adaptif yang tinggi (Kementerian Pertanian 2010). Akan tetapi, Indonesia yang terletak di daerah tropis mempunyai suhu udara di atas zona termonetral sapi potong (Hahn 1999). Kondisi lingkungan di atas zona termonetral menyebabkan cekaman bagi sapi dan mempengaruhi produktivitas sapi (Scholtz dkk. 2013).

Lokasi penelitian dilakukan pada empat daerah yang berbeda letak geografisnya. Cipelang merupakan salah satu desa wilayah administrasi Kabupaten Bogor, Jawa Barat yang berbatasan langsung dengan Gunung Salak. Desa Cipelang berada 587 – 1200 m di atas permukaan laut (dpl) dan jumlah hari hujan pada tahun 2015 sebesar 11 mm/hari (Badan Pusat Statistik Kabupaten Bogor 2016). Desa Lompo Tengah merupakan bagian wilayah administrasi Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan, yang merupakan daerah dataran rendah dengan ketinggian maksimum 200 m dpl. Wilayah Kabupaten Barru di sebelah barat berbatasan langsung dengan Selat Makassar dan curah hujan harian di kabupaten ini pada tahun 2015 sebesar 10,5 mm/hari (Badan Pusat Statistik Kabupaten Barru 2016). Desa Sumber Klampok terletak di barat daya Pulau Bali dan merupakan bagian administrasi dari Kabupaten Buleleng. Desa ini merupakan daerah pesisir pantai karena sebelah utara desa ini berbatasan langsung dengan Laut Bali. Ketinggian wilayah Kabupaten Buleleng bervariasi hingga 400 m dpl karena sebelah selatannya adalah gunung purba yang tidak aktif. Rerata curah hujan harian di kabupaten ini sebesar 9,7 mm/hari (Badan Pusat Statistik Kabupaten Buleleng 2016). Desa Telaga Bertong merupakan wilayah administrasi Kabupaten Sumbawa Barat, NTB, dan mempunyai ketinggian 7 m dpl karena merupakan daerah pesisir pantai yang sisi sebelah baratnya adalah

Selat Alas. Rerata curah hujan harian di kabupaten ini berkisar 4,4 mm/hari (Badan Pusat Statistik Kabupaten Sumbawa Barat 2016).

Perbedaan kondisi lingkungan di daerah-daerah yang disebabkan oleh perbedaan iklim mikro akan mempengaruhi respons fisiologi, ditambah lagi daerah Indonesia yang sebagian besar berada di selatan garis khatulistiwa yang menurut Scholtz dkk. (2013) lebih terkena dampak oleh perubahan suhu global bumi daripada daerah sebelah utara bumi. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari profil fisiologi sapi Bali yang merespons kondisi iklim mikro beberapa daerah di Indonesia khususnya daerah pusat persebaran sapi Bali yang berada di daerah Bali, Sulawesi Selatan, dan Nusa Tenggara Barat, serta fisiologi sapi Bali di daerah Bogor. Berdasarkan data Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika (2016), keempat lokasi tersebut mempunyai iklim mikro yang berbeda selama 10 tahun terakhir (2006 – 2015).

METODOLOGI PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di empat daerah, yaitu Cipelang Kabupaten Bogor, Jawa Barat, Desa Lompo Tengah Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan, Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng, Bali, dan Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat, NTB. Penelitian dilakukan selama 9 bulan, mulai dari bulan Maret sampai dengan Desember 2016.

B. Alat dan Bahan

Objek penelitian ini adalah sapi Bali yang berusia dua tahun atau lebih di masing-masing lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole di Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat, NTB. Total individu sapi Bali yang digunakan sebagai sampel penelitian sebanyak 34 ekor yang berasal dari Cipelang Kabupaten Bogor sebanyak tujuh ekor, Desa Lompo Tengah sebanyak sepuluh

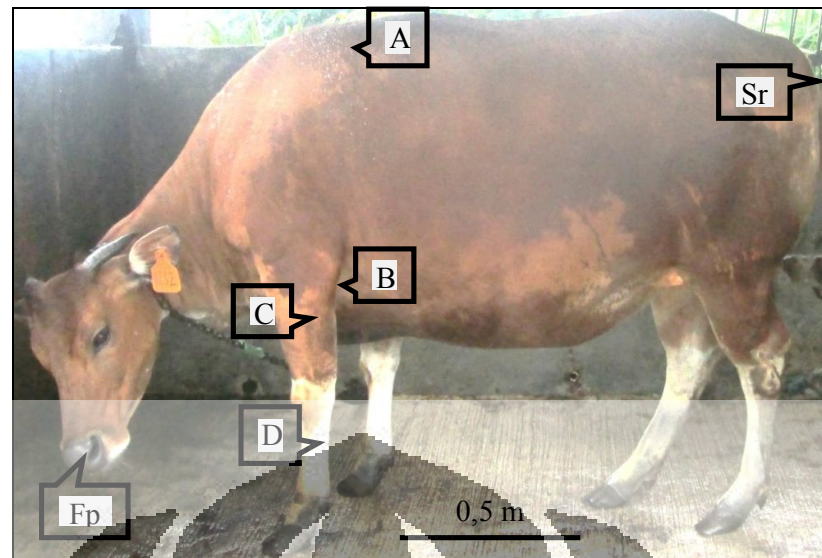
ekor, Desa Sumber Klampok sebanyak sepuluh ekor dan Desa Telaga Bertong sebanyak tujuh ekor sapi Bali dan dua ekor sapi Sumbawa Ongole. Jenis kelamin sapi tidak menjadi batasan dalam penelitian ini. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: tisu, kapas, alkohol 70 %, termometer rektum digital [SAFETY], termometer permukaan kulit digital [BNQ], termometer bola basah dan bola kering [YNC], anemometer [SKYWATCH], luxmeter [HANNA], timer, kamera digital [CANON] dan alat tulis.

C. Cara Kerja

1. Pengambilan data fisiologi sapi

Pengambilan data fisiologi sapi dilakukan dua kali sehari, yaitu pada pukul 7 pagi dan pukul 3 sore, selama lima hari penelitian di setiap daerah. Data fisiologi yang dikumpulkan berupa data suhu kulit, suhu rektum, dan laju pernapasan selama 1 menit. Lokasi pengambilan data fisiologi pada tubuh sapi dapat dilihat pada gambar 1.1.

Data suhu rektum diambil melalui alat termometer rektum digital [SAFETY] yang dimasukkan ke rektum sedalam ± 8 cm selama satu menit. Sementara, data suhu kulit diambil dari empat bagian tubuh sapi dengan menggunakan termometer permukaan kulit [BNQ]. Keempat bagian tubuh sapi tersebut antara lain bagian punggung tepat di belakang pundak (A), bagian dada tepat di belakang ketiak (B), tungkai kaki depan bagian atas (C), dan tungkai kaki depan bagian bawah (D). Rerata suhu permukaan kulit dihitung menggunakan persamaan matematika berdasarkan rumus McLean dkk. (1984). Penggabungan data suhu rektum dan rerata suhu permukaan kulit digunakan untuk menghitung nilai suhu tubuh sapi. Persamaan matematika yang digunakan untuk menghitung nilai suhu tubuh sapi diperoleh berdasarkan rumus McLean dkk. (1984).



Gambar I.1. Pengukuran fisiologi sapi berupa suhu rektum (Sr), suhu kulit dan laju pernapasan (Fp). Suhu permukaan kulit pada empat bagian tubuh sapi, yaitu A. bagian punggung tepat di belakang pundak, B. bagian dada tepat di belakang ketiak, C. tungkai kaki depan bagian atas, dan D. tungkai kaki depan bagian bawah.

Laju pernapasan sapi diukur melalui penghitungan jumlah napas sapi selama satu menit. Kemudian data laju pernapasan sapi dan suhu tubuh digunakan untuk mengukur nilai toleransi panas pada sapi berdasarkan rumus Benezra (1954). Persamaan matematika yang digunakan dalam pengambilan data fisiologi dapat dilihat sebagai berikut:

$$Sk = 0,25 (A+B) + 0,32 C + 0,18 D$$

$$St = 0,86 Sr + 0,14 Sk$$

$$HTC = \frac{St}{38,3} + \frac{Fp}{23}$$

Keterangan:

Sk = rata-rata suhu permukaan kulit

St = suhu tubuh

Sr = suhu rektum

A = bagian punggung tepat di belakang pundak sapi

B = bagian dada tepat di belakang ketiak

C = tungkai kaki depan bagian atas

D = tungkai kaki depan bagian bawah

Fp = jumlah napas sapi selama 1 menit

HTC = *Heat tolerance coefficient* / nilai toleransi panas pada sapi

2. Pengambilan data lingkungan

Data lingkungan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari suhu udara, kelembaban udara, kecepatan angin dan intensitas matahari. Data suhu dan kelembaban udara diukur dengan termometer bola basah dan bola kering [YNC]. Kecepatan angin diukur dengan anemometer [SKYWATCH], sedangkan intensitas matahari diukur dengan luxmeter [HANNA]. Pengukuran data lingkungan dilakukan selama satu menit setiap jam selama pukul 6.00-08.00 dan 14.00-16.00 waktu setempat. Data suhu dan kelembaban udara digunakan untuk menentukan nilai indeks suhu dan kelembaban (THI) berdasarkan rumus Mader dkk. (2003) sebagai berikut:

$$THI = (0,8 \times Tdb) + [(RH / 100) \times (Tdb - 14,4)] + 46,4$$

Keterangan :

Tdb = nilai suhu pada termometer bola kering (°C)

RH = kelembaban relatif (%)

3. Analisis data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS v.22. Data hasil pengukuran dianalisis secara deskriptif untuk mendapatkan rerata (*mean*), standar deviasi, nilai minimum dan maksimum dari data fisiologi sapi dan data lingkungan. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, kesimpulan masing-masing data diambil menggunakan uji multivariate. Apabila data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, kesimpulan masing-masing data diambil menggunakan uji Kruskal Wallis. Uji korelasi Pearson digunakan untuk mengambil kesimpulan korelasi antara data fisiologi sapi dengan data lingkungan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

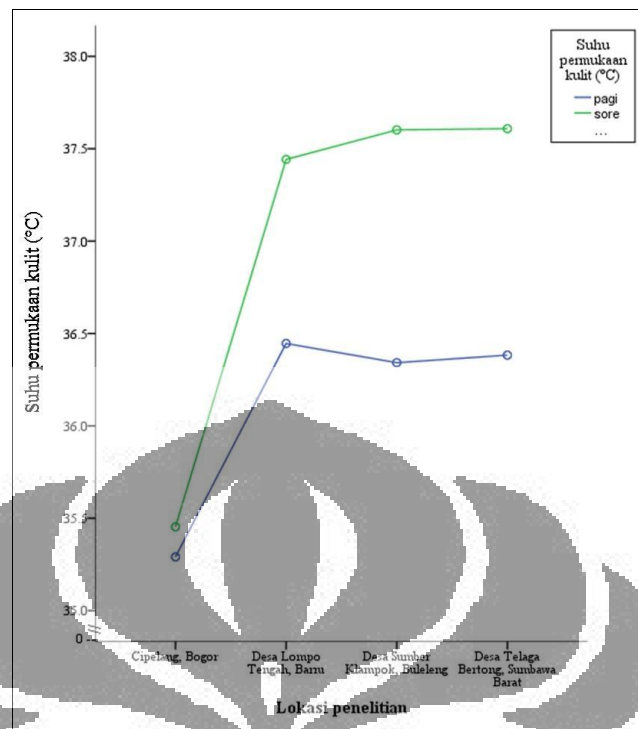
A. Data Fisiologi Sapi

1. Suhu Permukaan Kulit

Suhu permukaan kulit sapi Bali di empat lokasi penelitian dapat dilihat pada tabel I.1 dan gambar I.2. Sapi Bali di empat lokasi mengalami perubahan suhu kulit yang nyata antara pagi dan sore hari karena dipengaruhi oleh peningkatan suhu lingkungan dari pagi menuju sore hari. Suhu permukaan kulit pada pagi hari lebih rendah daripada sore hari. Sementara, sapi Bali di Cipelang memiliki suhu permukaan kulit paling rendah daripada lokasi penelitian lainnya, yaitu 35,29 – 35,45 °C. Perubahan suhu permukaan kulit sapi di Cipelang nyata lebih rendah daripada tiga lokasi lainnya, baik saat pagi hari maupun sore hari. Akan tetapi, suhu permukaan kulit sapi Bali di Desa Lompo Tengah, Desa Sumber Klampok dan Desa Telaga Bertong tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Suhu permukaan kulit sapi Bali di Desa Lompo Tengah saat pagi hari lebih tinggi, yaitu 36,45 °C, daripada di Desa Sumber Klampok, yaitu 36,34 °C, dan Desa Telaga Bertong, yaitu 36,38 °C. Sebaliknya, suhu permukaan kulit sapi di Desa Lompo Tengah saat sore hari lebih rendah, yaitu 37,45 °C, daripada Desa Sumber Klampok dan Desa Telaga Bertong yang keduanya berada pada suhu 37,6 °C.

Tabel I.1. Rerata suhu permukaan kulit sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong.

Jenis Sapi	Lokasi Penelitian	Rerata Suhu (°C)	
		Pagi	Sore
Sapi Bali	Cipelang	35,29 ± 0,22	35,45 ± 0,31
	Desa Lompo Tengah	36,45 ± 0,43	37,45 ± 0,7
	Desa Sumber Klampok	36,34 ± 0,34	37,6 ± 7,5
Sapi Bali	Desa Telaga Bertong	36,38 ± 0,74	37,6 ± 1,05
Sapi SO		36,6 ± 0,25	37,37 ± 0,47



Gambar I.2. Perbedaan rerata suhu permukaan kulit sapi Bali di empat lokasi penelitian.

Nilai suhu permukaan kulit diperoleh dari pengukuran empat bagian tubuh, yaitu bagian punggung tepat di belakang pundak, bagian dada tepat di belakang ketiak, bagian tungkai depan kaki atas dan kaki bawah. Keempat bagian tubuh tersebut sebagai perwakilan yang representatif untuk menggambarkan suhu seluruh permukaan tubuh karena nilai suhu lebih konsisten daripada bagian tubuh lain (McLean dkk. 1983). Suhu permukaan kulit menggambarkan jumlah energi panas yang diterima dari lingkungan (Berman 2005). Panas diterima oleh tubuh sapi melalui proses konduksi dan radiasi (Finch 1986).

Perbedaan suhu permukaan kulit pada sapi dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan faktor individu sapi (Preez 2000). Perbedaan suhu lingkungan dan kecepatan angin merupakan faktor lingkungan yang mempengaruhi perubahan suhu permukaan kulit (Dikmen & Hansen 2008). Permukaan kulit merupakan salah satu bagian tubuh yang berperan penting dalam perpindahan panas dari dan atau ke tubuh karena terpapar langsung oleh lingkungan. Ketika tubuh sapi terpapar panas dari lingkungan, hipotalamus yang merupakan pusat

pengaturan tubuh terhadap panas mengaktifkan sistem termoregulasi tubuh. Beban panas dalam tubuh yang berasal dari hasil metabolisme dibawa oleh darah dari organ-organ vital menuju ke pembuluh darah tepi untuk dibuang (Preez 2000). Beban panas yang dibuang melalui permukaan kulit terjadi secara konveksi dan evaporasi (Finch 1986). Pelepasan panas secara konveksi terjadi bila ada angin. Sementara, panas yang dilepas melalui evaporasi adalah berupa keringat. Suatu daerah yang sangat lembab menghambat proses evaporasi sapi.

Respons panas masing-masing individu di setiap daerah penelitian menunjukkan perbedaan yang nyata, kecuali populasi sapi yang ada di Cipelang. Berdasarkan tabel I.2, nilai rerata suhu permukaan kulit pada ketujuh ekor sapi Bali di Cipelang seragam, yaitu sekitar 35 °C, baik pada pagi hari maupun sore hari. Fluktuasi suhu permukaan kulit pada individu sapi antara pagi dan sore hari sekitar kurang dari 0,3 °C. Fluktuasi suhu di Cipelang lebih rendah daripada tiga lokasi penelitian. Ini menandakan sapi tidak mengalami cekaman panas dari lingkungannya karena fluktuasi suhu lingkungan di pagi dan sore hari juga rendah (Mc.Lean dkk. 1984). Kondisi lingkungan di Cipelang dapat dilihat pada tabel I.26.

Tabel I.2. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu permukaan kulit antar individu sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari.

		Sore (°C)						
		10901	10902	10903	11004	11007	11008	11009
Pagi (°C)		35,4	35,6	35,5	35,6	35,4	35,4	35,4
10901	35,2	0,2						
10902	35,4		0,2					
10903	35,5			0				
11004	35,4				0,2			
11007	35,2					0,2		
11008	35,1						0,3	
11009	35,3							0,1

Tabel I.3 menampilkan nilai rerata, fluktuasi dan uji perbedaan rerata yang menggunakan uji multivariate dari suhu permukaan kulit sepuluh ekor sapi Bali di Desa Lombo Tengah. Sapi 17773, sapi 0410, dan sapi 0001 menunjukkan nilai suhu permukaan kulit yang tinggi daripada individu lainnya, baik pada pagi dan

sore hari. Sebaliknya, sapi 0023, sapi 0045 dan sapi 0011 menunjukkan nilai suhu permukaan kulit yang rendah daripada individu lainya baik pada pagi dan sore hari. Fluktuasi suhu permukaan kulit pada sapi 17773, sapi 0410, sapi 0001 dan sapi 17774 yang lebih besar dari satu menandakan sapi mengalami cekaman panas (McLean dkk. 1984). Bila dibandingkan dengan Desa Sumber Klampok dan Desa Telaga Bertong, fluktuasi suhu permukaan kulit sapi di Desa Lompo Tengah relatif lebih rendah. Ini disebabkan oleh Desa Lompo Tengah yang lebih berangin daripada dua desa tersebut (lihat tabel I.26). Angin membantu proses pelepasan panas dari tubuh sapi melalui proses konveksi (Finch 1986).

Tabel I.3. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu permukaan kulit antar individu sapi Bali di Desa Lompo Tengah pada pagi dan sore hari.

	Sore(°C)	0023	0045	001	17773	0410	0001	17774	0004	0806	0011
Pagi (°C)		37	37,2	37	37,7	38,4	37,9	37,4	37,3	37,5	37
0023	36,0	1			a	a	a		a	a	
0045	36,2		1		a	a	a				
001	36,2			0,8	a	a	a		a	a	
17773	36,6				1,1	a					a
0410	36,9					1,5		a	a	a	a
0001	36,8						1,1	a			a
17774	36,2							1,2			
0004	36,8								0,5		
0806	36,6									0,9	
0011	36,2										0,8

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu permukaan kulit antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.4 menampilkan nilai rerata, fluktuasi dan uji perbedaan rerata yang menggunakan uji multivariate dari suhu permukaan kulit sepuluh ekor sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari. Sapi 648 mempunyai suhu permukaan kulit yang tertinggi pada pagi dan sore hari, dan fluktuasi suhu yang tertinggi daripada sembilan individu lainnya. Bila dibandingkan dengan tiga lokasi lainnya, fluktuasi suhu permukaan kulit sapi Bali di Desa Sumber Klampok lebih tinggi daripada Cipelang dan Desa Lompo Tengah tetapi lebih rendah daripada Desa Telaga Bertong. Hal ini disebabkan oleh kecepatan angin di desa tersebut yang relatif lebih rendah dari Cipelang dan Desa Lompo Tengah disertai

kelembaban udara yang relatif lebih tinggi daripada Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong. Kelembaban udara yang tinggi menghambat proses pelepasan panas dari tubuh sapi secara evaporasi keringat, sehingga suhu tubuh di daerah tersebut menjadi relatif tinggi.

Tabel I.4. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu permukaan kulit antar individu sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari.

Sore(°C)		BII1	633	622	639	648	BII6	BII7	BII8	BII9	BII10
Pagi (°C)		37,5	37,8	37,6	37,4	38,5	37,3	37,5	37,8	37,2	37,4
BII1	36,2	1,3				a					
633	36,3		1,5			a					
622	36,3			1,3		a					
639	36,4				1	a					
648	36,7					1,8	a	a	a	a	a
BII6	36,2						1,1				
BII7	36,2							1,3			
BII8	36,4								1,4		
BII9	36,3									0,9	
BII10	36,3										1,1

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu permukaan kulit antar individu ($p < 0,05$)

Khusus Desa Telaga Bertong, sapi Sumbawa Ongole yang merupakan sapi lokal di daerah tersebut juga dilakukan pengukuran data fisiologinya. Tabel I.5 menampilkan nilai rerata, fluktuasi dan hasil uji multivariate dari suhu permukaan kulit antar tujuh ekor sapi Bali dan dua ekor sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari. Sapi Bali di Desa Telaga Bertong yang menunjukkan perbedaan suhu permukaan kulit yang nyata dari populasinya adalah sapi AT4 dan sapi SJ6 karena memiliki suhu permukaan yang tinggi pada pagi maupun sore hari. Sementara sapi Sumbawa Ongole tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar keduanya. Sapi SJ6 juga menunjukkan fluktuasi suhu permukaan yang tertinggi daripada delapan ekor lainnya termasuk sapi Sumbawa Ongole. Berdasarkan data tabel I.1, sapi Bali memiliki nilai rerata suhu permukaan kulit yang lebih rendah daripada sapi Sumbawa Ongole pada pagi hari tetapi sebaliknya pada sore hari. Perbedaan ini disebabkan oleh faktor genetik, warna kulit tubuh, ukuran badan sapi (Preez 2000). Sapi Bali merupakan sapi

domestikasi dari Banteng, berwarna coklat pada sapi betina dan hitam pada sapi jantan, serta ukuran tubuh yang relatif kecil. Sementara, sapi Sumbawa Ongole merupakan sapi peranakan Ongole yang nenek moyangnya berasal dari sapi zebu (*Bos indicus*), sehingga postur badannya relatif lebih besar. Warna kulit putih merata pada betina, dan warna kelabu pada bagian punggung sapi jantan. Finch (1986) menyatakan sapi *B. indicus* memiliki warna kulit putih yang mampu memantulkan radiasi panas ke lingkungan sehingga beban panas yang diterima tidak sebesar pada jenis sapi lain yang berwarna lebih gelap. Selain itu, genotip *B. indicus* lebih cenderung melepas panas melalui evaporasi. Sapi SJ6 adalah sapi Bali jantan yang mempunyai lapisan mantel warna hitam, sehingga panas yang diserapnya lebih tinggi dan fluktuasi suhu antara pagi dan sore menjadi tinggi.

Tabel I.5. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu permukaan kulit antar individu sapi di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari.

		Sore(°C)						Sumbawa Ongole	
		Sapi Bali						SO 1	SO 2
Pagi (°C)		LM1	J12	JP3	AT4	CT5	SJ6	GO7	
				37,2	37,0	37,4	37,8	37,8	39,1
LM1	36,5	0,7					a		
J12	36,0		1,0		a		a		
JP3	36,1			1,3			a		
AT4	36,9				0,9			a	
CT5	36,3					1,5	a		
SJ6	36,6						2,5	a	a
GO7	36,2							0,7	
SO 1	36,5								1,0
SO 2	36,6								0,6

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu permukaan kulit antar individu ($p < 0,05$)

2. Suhu Rektum

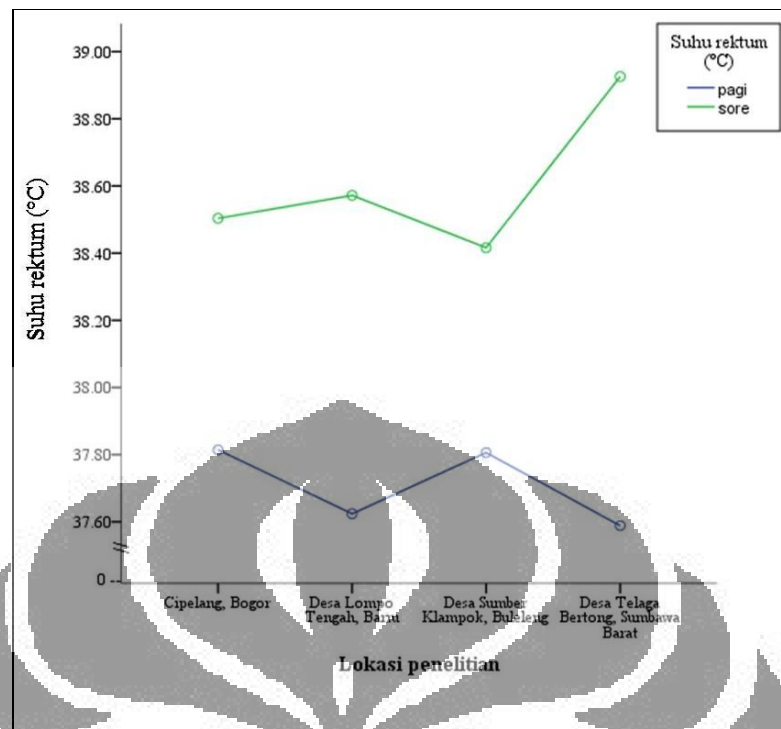
Nilai rerata suhu rektum sapi Bali di empat lokasi penelitian dapat dilihat pada tabel I.6 dan gambar I.3. Berdasarkan data tabel I.6, sapi Bali di semua lokasi penelitian menunjukkan suhu rektum lebih rendah dari suhu rektum yang normal pada pagi hari, yaitu 37,6 – 37,8 °C. Sementara pada sore hari, suhu rektum meningkat nyata yang berkisar antara 38,4 – 38,9 °C. Walaupun ada

perbedaan nyata antara suhu rektum pagi dan sore hari, suhu rektum sapi Bali antar lokasi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal tersebut karena sapi Bali merupakan hewan homeostatis yang menjaga kisaran suhu tetap stabil meskipun suhu lingkungan beragam (McLean dkk. 1984). Sapi Bali di Desa Telaga Bertong menunjukkan suhu rektum yang tertinggi pada sore hari, yaitu $38,9\text{ }^{\circ}\text{C}$, dibandingkan dengan lokasi lain. Sapi Bali di Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong menunjukkan fluktuasi suhu rektum yang tinggi yaitu $1 - 1,3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Sementara, fluktuasi suhu rektum sapi Bali di Desa Sumber Klampok dan Cipelang berkisar antara $0,6 - 0,7\text{ }^{\circ}\text{C}$. Menurut McLean dkk. (1984), daerah habitat sapi yang fluktuasi suhu udara antara sore dan malam harinya rendah akan menyebabkan perbedaan suhu tubuh kurang dari $1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Suhu rektum menggambarkan jumlah panas yang diproduksi dari proses metabolisme tubuh sapi. Oleh karena itu, suhu rektum dapat digunakan sebagai salah satu parameter untuk menentukan tingkat cekaman pada sapi (Collier & Collier 2011). Suhu rektum pada kondisi zona termoneutral berkisar antara $38,3 - 38,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Preez 2000). Perubahan suhu rektum dipengaruhi oleh suhu lingkungan dan kelembaban tetapi tidak dipengaruhi oleh kecepatan angin. Perubahan suhu lingkungan berkorelasi positif sedangkan perubahan kelembaban udara berkorelasi negatif terhadap suhu rektum (Dikmen & Hansen 2008). Selain faktor lingkungan, suhu rektum juga dipengaruhi oleh aktivitas, makanan dan minuman (Saiya 2012).

Tabel 1.6. Rerata suhu rektum sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong.

Jenis Sapi	Lokasi Penelitian	Rerata Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	
		Pagi	Sore
Sapi Bali	Cipelang	$37,8 \pm 0,48$	$38,5 \pm 0,3$
	Desa Lompo Tengah	$37,6 \pm 0,63$	$38,6 \pm 0,56$
	Desa Sumber Klampok	$37,8 \pm 0,42$	$38,4 \pm 0,44$
Sapi Bali	Desa Telaga Bertong	$37,6 \pm 0,4$	$38,9 \pm 0,44$
Sapi SO		$38,3 \pm 0,33$	$38,5 \pm 0,26$



Gambar I.3. Perbedaan rerata suhu rektum sapi Bali di empat lokasi penelitian ($p=0,151$).

Selain faktor lingkungan, ciri dan warna lapisan mantel, aktivitas dan ketersediaan pakan dan minuman juga mempengaruhi suhu rektum. Berdasarkan data curah hujan oleh Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika (2016), curah hujan harian di Sumbawa Barat sebesar 1,1 mm/hari pada tahun 2015. Curah hujan yang rendah tersebut menyebabkan ketersediaan air yang terbatas untuk diminum sapi. Keadaan ini menyebabkan sapi di Desa Telaga Bertong mengalami dehidrasi sehingga suhu rektum menjadi tinggi. Selain itu, sapi di desa ini dilepas di padang savanna sehingga beban panas yang diterima lebih besar daripada sapi yang di dalam kandang (Hansen 2004).

Tabel I.7 menampilkan nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu rektum tujuh ekor sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari. Beberapa individu sapi Bali yang mempunyai suhu rektum yang berbeda nyata dengan individu lainnya di Cipelang. Sapi 11004 mempunyai suhu rektum yang tertinggi daripada individu sapi lainnya, yaitu 38,3 – 38,7 °C. Walaupun demikian, fluktuasi suhu rektum sapi 11004 merupakan nilai fluktuasi terendah

antara pagi dan sore hari yaitu sebesar 0,4 °C. Faktor penyebabnya adalah lapisan mantelnya yang tebal dan gelap menyebabkan sapi tersebut kesulitan untuk melepaskan panas secara konveksi, sehingga beban panas sulit keluar dari tubuh dan suhu tubuh tetap tinggi (Finch 1986). Sementara sapi 10902 mempunyai suhu yang nyata lebih rendah dari individu sapi lainnya pada pagi hari dan sapi 11008 mempunyai suhu yang nyata lebih rendah dari individu sapi lainnya pada sore hari.

Tabel I.7. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu rektum antar individu sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari.

Sore (°C)		10901	10902	10903	11004	11007	11008	11009
Pagi (°C)		38,4	38,5	38,8	38,7	38,5	38,2	38,6
10901	37,8	0,6	a		a			
10902	37,0		1,5	a	a	a		a
10903	37,9			0,9			a	
11004	38,3				0,4		a	
11007	38,0					0,5		
11008	37,8						0,4	
11009	37,8							0,8

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu rektum antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.8 menampilkan nilai rerata, fluktuasi dan hasil uji multivariate dari suhu rektum sepuluh ekor sapi Bali di Desa Lombo Tengah pada pagi dan sore hari. Nilai rerata suhu rektum sapi 0410 sebesar 38,4 °C, dan sapi 0001 sebesar 38,5 °C relatif lebih tinggi daripada individu sapi lainnya. Sebaliknya, nilai rerata suhu rektum sapi 0023 sebesar 37,7 °C dan sapi 0045 sebesar 37,6 °C relatif lebih rendah daripada individu lainnya.

Tabel I.9 menampilkan nilai rerata, fluktuasi, dan hasil uji multivariate dari suhu rektum sepuluh ekor sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari. Nilai rerata suhu rektum sapi B118 sebesar 38,7 °C, dan sapi 0648 sebesar 38,3 °C relatif lebih tinggi daripada individu sapi lainnya. Sebaliknya, nilai rerata suhu rektum sapi 622 sebesar 37,8 °C dan sapi B117, B119, dan B110 yang ketiganya sebesar 37,9 °C relatif lebih rendah daripada individu lainnya.

Tabel I.8. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu rektum antar individu sapi Bali di Desa Lompo Tengah pada pagi dan sore hari.

Sore (°C)		0023	0045	001	17773	0410	0001	17774	0004	0806	0011
		38,2	38,2	38,5	38,6	38,7	39,0	38,5	38,6	39	38,5
0023	37,1	1,1				a	a		a	a	
0045	37,0		1,2			a	a		a	a	a
001	37,6			0,9							
17773	37,5				1,1						
0410	38,1					0,6		a			
0001	37,9						1,1	a			a
17774	37,3							1,2			
0004	38,1								0,5		
0806	37,7									1,3	
0011	37,8										0,7

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu rektum antar individu ($p < 0,05$).

Tabel I.9. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu rektum antar individu sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari.

Sore (°C)		B111	633	622	639	648	B116	B117	B118	B119	B1110
		38,2	38,6	38,2	38,4	38,7	38,5	38,3	39,0	37,9	38,2
B111	37,9	0,3							a		
633	37,9		0,7	a				a	a	a	a
622	37,5			0,7	a	a	a		a	a	
639	37,9				0,3				a	a	
648	37,9					0,8		a	a	a	a
B116	37,8						0,7		a		
B117	37,5							0,8	a		
B118	38,4								0,6	a	a
B119	37,8									0,1	
B1110	37,6										0,6

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu rektum antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.10 menampilkan nilai rerata, fluktuasi, dan hasil uji multivariate dari suhu rektum tujuh ekor sapi Bali dan dua ekor sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari. Sapi CT5 dan sapi SO1 mempunyai nilai suhu rektum yang tertinggi, yaitu 38,6 °C. Begitu juga sapi SJ6 yang mempunyai suhu rektum 38,5 °C dan relatif lebih tinggi dibandingkan

individu lainnya. Sebaliknya, nilai suhu rektum sapi LM1 dan JI2 sebesar 37,9 °C relatif lebih rendah daripada individu lainnya. Berdasarkan data tabel I.6, fluktuasi suhu rektum sapi SO di pagi dan sore hari lebih kecil daripada fluktuasi suhu rektum pada sapi Bali di Desa Telaga Bertong. Hal ini disebabkan oleh warna rambut yang berbeda dan genetik. Sapi SO memiliki rambut yang berwarna putih, sedangkan rambut sapi Bali dominan berwarna coklat pada betina dan hitam pada jantan. Warna rambut sapi yang lebih gelap lebih mudah dehidrasi daripada yang berwarna terang. Sapi SO yang merupakan turunan *Bos indicus* lebih tahan terhadap cekaman panas karena mampu melepaskan panas melalui evaporasi (Finch 1986). Panas yang diproduksi dari tubuh dan yang diserap dari lingkungan luar segera dilepas melalui evaporasi sehingga suhu tubuh tidak meningkat tajam.

Tabel I.10. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu rektum antar individu sapi di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari.

Sore(°C)		Sapi Bali						Sumbawa Ongole		
		LM1	JI2	JP3	AT4	CT5	SJ6	G07	SO 1	SO 2
Pagi (°C)		38,7	38,5	39,1	39,1	39,2	39,2	38,7	38,7	38,3
LM1	37,2	1,5	a	a	a	a	a	a		
JI2	37,3		1,2	a	a	a	a	a		
JP3	37,6			1,5	a					
AT4	37,5				1,6	a				
CT5	38,1					1,1	a		a	
SJ6	37,9						1,3	a	a	
GO7	37,6							1,1	a	
SO 1	38,5								0,2	
SO 2	38,0									0,3

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu rektum antar individu ($p < 0,05$)

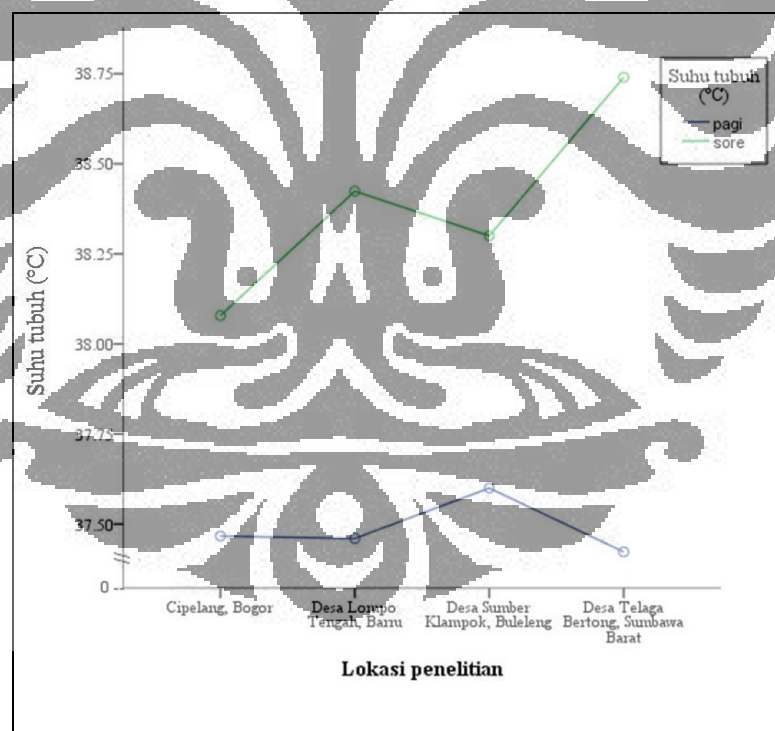
3. Suhu Tubuh

Nilai rerata suhu tubuh sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong dapat dilihat pada tabel I.11 dan gambar I.4. Suhu tubuh sapi Bali dan sapi SO di semua lokasi masih dalam kisaran normal suhu tubuh sapi (Gaughan dkk. 1999). Meskipun demikian, suhu

tubuh sapi Bali antara pagi dan sore hari berbeda nyata di semua lokasi penelitian. Fluktuasi suhu tubuh sapi Bali antara pagi dan sore hari berkisar antara 0,6 – 0,9 °C. Suhu tubuh sapi Bali di pagi hari tidak menunjukkan perbedaan yang nyata di semua lokasi. Sebaliknya, suhu tubuh sapi Bali pada sore hari di Cipelang hanya berbeda nyata lebih rendah ($p=0,002$) dari sapi Bali di Desa Telaga Bertong. Suhu tubuh sapi Bali antara Desa Lompo Tengah, Desa Sumber Klampok, dan Desa Telaga Bertong tidak berbeda nyata baik pagi dan sore hari.

Tabel I.11. Rerata suhu tubuh sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong.

Jenis Sapi	Lokasi Penelitian	Suhu Tubuh (°C)	
		Pagi	Sore
Sapi Bali	Cipelang	$37,47 \pm 0,42$	$38,08 \pm 0,26$
	Desa Lompo Tengah	$37,46 \pm 0,58$	$38,42 \pm 0,55$
	Desa Sumber Klampok	$37,6 \pm 0,36$	$38,3 \pm 0,41$
Sapi Bali	Desa Telaga Bertong	$37,5 \pm 0,26$	$38,7 \pm 0,34$
Sapi SO		$38,3 \pm 0,3$	$38,35 \pm 0,24$



Gambar I.4. Perbedaan rerata suhu tubuh sapi Bali di empat lokasi penelitian ($p=0,005$).

Nilai suhu tubuh sapi diperoleh dari jumlah suhu rektum dan suhu kulit. Ini berarti suhu tubuh menggambarkan jumlah panas yang dihasilkan oleh metabolisme tubuh dan yang diserap oleh tubuh dari lingkungan luar dikurangi jumlah panas yang dilepas ke luar. Penyerapan panas dari lingkungan disebabkan oleh peningkatan suhu lingkungan. Penyerapan panas dari luar terjadi secara konduksi dan radiasi sedangkan pelepasan panas terjadi secara konduksi, konveksi dan evaporasi.

Suhu tubuh pada hewan homeostasis adalah relatif seragam dan konstan, tetapi beberapa bagian tubuh berbeda tergantung pada lapisan mantel. Suhu tubuh sapi yang berumur di atas 1 tahun berkisar antara 37,8 – 39,1 °C (Gaughan dkk. 1999). Faktor yang mempengaruhi perubahan suhu tubuh pada sapi ialah faktor lingkungan dan kondisi tubuh hewan. Suhu tubuh meningkat bila suhu udara dan radiasi matahari meningkat namun kelembaban udara dan kecepatan angin menurun (Dikmen & Hansen 2008).

Menurut Gaughan dkk. (1999), Hansen (2004) dan Beatty dkk. (2006), sapi yang mempunyai suhu tubuh rendah saat diberi cekaman panas merupakan sapi yang peka terhadap panas. Sapi turunan *B. indicus* lebih peka terhadap cekaman panas daripada sapi *B. taurus*. Pada percobaan yang dilakukan Beatty dkk. (2006), sapi *B. indicus* menunjukkan fluktuasi suhu tubuh sebesar 1,4 °C lebih rendah daripada fluktuasi sapi *B. taurus* sebesar 2,6 °C pada ruangan yang diatur suhu ruang 35 °C dan kelembaban 80 %. Ciri dan warna lapisan mantel kulit sapi mempengaruhi daya tahan sapi terhadap panas. Hewan yang memiliki lapisan mantel yang tebal dan berwarna gelap cenderung memiliki suhu tubuh yang lebih tinggi daripada sapi yang memiliki lapisan mantel tipis dan berwarna terang (Finch 1986).

Tabel I.12 menampilkan perbedaan nyata pada suhu tubuh sapi Bali di Cipelang. Sapi 11004 mempunyai suhu tubuh yang nyata lebih tinggi, yaitu 38,1 °C, daripada individu sapi lainnya. Walaupun demikian, fluktuasi suhu tubuh sapi 11004 merupakan nilai fluktuasi terendah antara pagi dan sore hari yaitu sebesar 0,3 °C. Hal ini mengindikasikan bahwa beban panas yang tersimpan dalam tubuh sapi 11004 lebih rendah dari individu lainnya. Sementara sapi 10902 dan sapi 11008 mempunyai suhu yang nyata lebih rendah dari individu sapi

lainnya pada sore hari. Meskipun sapi 10902 mempunyai suhu tubuh terendah pada pagi hari, fluktuasi suhu tubuhnya di pagi dan sore hari adalah tertinggi di antara individu lainnya. Fluktuasi suhu yang tinggi pada sapi 10902 diduga akibat dari gangguan anatomis, fisiologi dan tingkah laku yang bersifat kompleks serta dipengaruhi oleh nutrisi, gen, cekaman yang diterima sebelumnya dan faktor kesehatan (Howard 2012).

Tabel I.12. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu tubuh antar individu sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari.

Sore (°C)		10901	10902	10903	11004	11007	11008	11009	
		38	38,1	38,4	38,2	38	37,8	38,2	
Pagi (°C)	10901	37,4	0,6	a	a				
	10902	36,8		1,3	a	a		a	
	10903	37,6			0,8			a	
	11004	37,9				0,3		a	
	11007	37,6					0,4		
	11008	37,4						0,4	
	11009	37,5							0,7

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu tubuh antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.13. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu tubuh antar individu sapi Bali di Desa Lombo Tengah pada pagi dan sore hari.

Sore (°C)		0023	0045	001	17773	0410	0001	17774	0004	0806	0011	
		38,1	38	38,3	38,6	38,7	38,8	38,4	38,4	38,7	38,3	
Pagi (°C)	0023	37	1,1			a	a		a	a		
	0045	36,9		1,1		a	a		a	a		
	001	37,4			0,9							
	17773	37,4				1,2						
	0410	38					0,7		a			
	0001	37,8						1,0	a			
	17774	37,1							1,3			
	0004	37,9								0,5		
	0806	37,6									1,1	
	0011	37,6										0,7

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu tubuh antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.13 menampilkan perbedaan suhu tubuh pada sepuluh individu sapi Bali di Desa Lompo Tengah. Nilai suhu tubuh sapi 0410 sebesar 38 – 38,7 °C, dan sapi 0001 sebesar 38 – 38,8 °C relatif lebih tinggi daripada individu sapi lainnya. Sebaliknya, nilai suhu tubuh sapi 0023 sebesar 37 – 38,1 °C dan sapi 0045 sebesar 36,9 – 38 °C relatif lebih rendah daripada individu lainnya. Fluktuasi suhu tubuh sapi yang bervariasi menandakan bahwa fluktuasi tinggi yang terjadi pada suhu lingkungan pagi dan sore hari di Desa Lompo Tengah (McLean dkk. 1984).

Tabel I.14 menampilkan nilai rerata, fluktuasi, dan hasil uji multivariate dari suhu tubuh sepuluh ekor sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari. Sapi BII8 mempunyai suhu tubuh yang nyata lebih tinggi dari sembilan individu lainnya, yaitu 38,1 – 38,9 °C. Sementara, sapi 648 mempunyai fluktuasi suhu yang tertinggi di populasinya. Sapi BII9 merupakan sapi yang suhu tubuh dan fluktuasi suhunya nyata lebih rendah dari suhu sapi lain. Kemampuan sapi Bali di desa ini untuk merespons fluktuasi kondisi lingkungan adalah sama karena nilai fluktuasi suhu tubuh sapi tersebut tidak lebih dari 1 °C.

Tabel I.14. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu tubuh antar individu sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari.

Sore (°C)	BII1	633	622	639	648	BII6	BII7	BII8	BII9	BII10
Pagi (°C)	38,1	38,5	38,1	38,3	38,7	38,3	38,2	38,9	37,8	38,1
BII1	37,6	0,5			a			a		
633	37,7	0,8	a				a	a	a	a
622	37,3		0,8	a	a			a		
639	37,7			0,6				a	a	
648	37,7				1,0		a		a	a
BII6	37,6					0,7		a		
BII7	37,3						0,9	a		
BII8	38,1							0,8	a	a
BII9	37,6								0,2	
BII10	37,4									0,7

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu tubuh antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.15 menampilkan nilai rerata, fluktuasi, dan hasil uji multivariate dari suhu tubuh tujuh ekor sapi Bali dan dua ekor sapi Sumbawa Ongole (SO) di

Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari. Sapi SJ6 mempunyai nilai suhu tubuh yang tertinggi, yaitu 39,2 °C, pada sore hari. Sebaliknya, nilai suhu tubuh sapi JI2 sebesar 37,9 – 38,3 °C relatif lebih rendah daripada individu lainnya.

Tabel I.15. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari suhu tubuh antar individu sapi di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari.

Sore(°C)		Sapi Bali						Sumbawa Ongole		
		LM1	JI2	JP3	AT4	CT5	SJ6	G07	SO 1	SO 2
Pagi (°C)		38,5	38,3	38,8	39	39	39,2	38,5	38,5	38,2
LM1	37,1	1,4			a	a	a		a	
JI2	37,1		1,2	a	a	a	a		a	
JP3	37,4			1,4			a			
AT4	37,4				1,6					
CT5	37,8					1,2		a		a
SJ6	37,7						1,5	a		a
G07	37,4							1,1	a	
SO 1	38,2								0,3	a
SO 2	37,8									0,4

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata suhu tubuh antar individu ($p < 0,05$)

Berdasarkan data tabel I.11, fluktuasi suhu tubuh sapi SO di pagi dan sore hari lebih kecil daripada fluktuasi suhu tubuh pada sapi Bali di Desa Telaga Bertong. Hal ini menandakan beban panas yang tersimpan dalam tubuh sapi SO lebih rendah daripada sapi Bali. Perbedaan jumlah beban panas yang tersimpan disebabkan oleh warna rambut yang berbeda dan genetik. Sapi SO memiliki rambut yang berwarna putih, sedangkan rambut sapi Bali dominan berwarna coklat pada betina dan hitam pada jantan. Warna rambut sapi yang lebih gelap lebih mudah dehidrasi daripada yang berwarna terang. Sapi SO yang merupakan turunan *Bos indicus* mengatur suhu tubuh secara efisien sehingga lebih tahan terhadap cekaman panas dan produktivitasnya tidak terganggu (Finch 1986). Panas yang diproduksi dari tubuh dan yang diserap dari lingkungan luar segera dilepas melalui evaporasi sehingga suhu tubuh tidak meningkat tajam.

4. Laju Pernapasan

Tabel I.16 menampilkan rerata laju pernapasan sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi SO khusus di Desa Telaga Bertong. Semua sapi Bali dan sapi SO mempunyai laju pernapasan di bawah 60 BPM, yang berarti sapi tersebut berada pada kondisi termonetralnya, tetapi terdapat perbedaan nyata laju pernapasan antar lokasi ($p=0$) yang ditampilkan pada gambar I.5. Sapi Bali di Cipelang mempunyai laju pernapasan yang nyata lebih rendah daripada tiga lokasi lainnya. Hal ini disebabkan oleh kondisi lingkungan Cipelang yang lebih dingin dan lembab dari lokasi lainnya (data ditampilkan pada tabel I.26). Sebaliknya, sapi Bali di Desa Sumber Klampok mempunyai laju pernapasan yang nyata lebih tinggi dari tiga lokasi lainnya. Kondisi Desa Sumber Klampok relatif lebih lembab dari Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong tetapi kecepatan anginnya yang rendah sehingga sapi di lokasi ini kesulitan melepaskan panas secara konveksi dan evaporasi keringat. Pelepasan panas pada sapi di Desa Sumber Klampok terjadi dengan cara meningkatkan laju pernapasan. Laju pernapasan yang tinggi menyebabkan beban panas yang tersimpan dalam tubuh menjadi rendah pada sore hari.

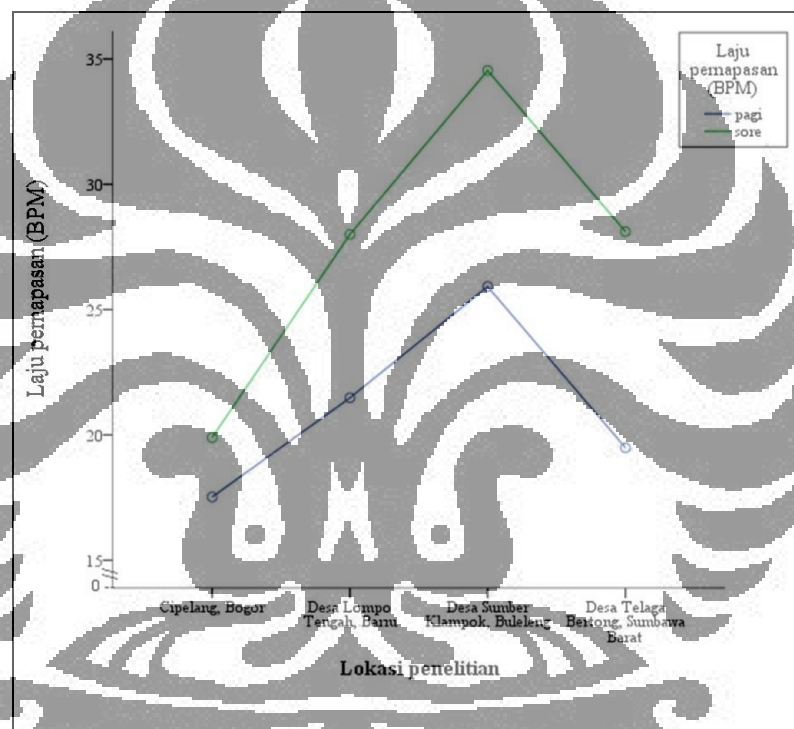
Pernapasan atau respirasi merupakan salah satu mekanisme evaporasi untuk melepaskan panas dari tubuh ketika suhu tubuh sapi meningkat karena mengalami cekaman panas. Menurut Finch (1986), sebanyak 15 % panas dibuang melalui respirasi dan 85 % lagi dibuang melalui konduksi, konveksi dan evaporasi dari keringat. Proses respirasi berhubungan dengan volume paru-paru dan volume alveolus. Dalam keadaan normal, pengecilan volume paru-paru bersamaan dengan pengembangan volume alveolus. Ketika laju pernapasan meningkat karena cekaman panas, volume paru-paru mengembang bersamaan dengan volume alveolus sehingga menyebabkan terjadi peningkatan ekskresi CO_2 dan alkalosis darah (Beatty dkk. 2006).

Laju pernapasan dijadikan sebagai parameter fisiologi untuk menentukan hewan terkena cekaman panas atau tidak. Gaughan dkk. (1999) menyatakan bahwa jumlah napas sapi kurang dari 60 BPM (*breath per minute*) masih pada kondisi termonetralnya. Sementara, sapi mengalami cekaman sedang ketika

jumlah napas antara 60 – 120 BPM. Jumlah napas di atas 120 BPM menandakan sapi mengalami beban panas yang berlebihan.

Tabel I.16. Rerata laju pernapasan sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong.

Jenis Sapi	Lokasi Penelitian	Laju Pernapasan (BPM)	
		Pagi	Sore
Sapi Bali	Cipelang	18 ± 1,9	20 ± 3,8
	Desa Lompo Tengah	22 ± 4,8	28 ± 6,2
	Desa Sumber Klampok	26 ± 6,7	35 ± 8,3
Sapi Bali	Desa Telaga Bertong	20 ± 0,4	28 ± 5
Sapi SO		25 ± 4	30 ± 4



Gambar I.5. Perbedaan rerata laju pernapasan sapi Bali di empat lokasi penelitian ($p=0$).

Faktor-faktor yang mempengaruhi perubahan laju pernapasan adalah faktor lingkungan dan faktor hewan. Peningkatan laju pernapasan berkorelasi dengan peningkatan suhu udara, kelembaban relatif, radiasi matahari dan penurunan kecepatan angin (Dikmen & Hansen 2008). Ukuran tubuh, bunting, keadaan suhu tubuh sapi dan jenis sapi merupakan faktor hewan yang

mempengaruhi laju pernapasan. Sapi yang berukuran badan besar, kondisi bunting, dan suhu tubuh yang tinggi mempunyai laju respirasi yang relatif lebih tinggi. Sementara, sapi turunan zebu (*B. indicus*) mempunyai laju respirasi yang lebih rendah daripada sapi turunan taurin (*B. taurus*) (Gaughan dkk. 1999). Sapi turunan zebu mempunyai laju respirasi yang rendah karena mempunyai kelenjar keringat yang besar sehingga panas yang dikeluarkan berupa keringat bisa keluar bebas dari pori-pori kulit. Oleh karena itu, sapi turunan Zebu berevaporasi keringat sebagai cara utama untuk melepaskan panas dan laju pernapasannya menjadi rendah (Finch 1986, Sodhi dkk. 2013).

Tabel I.17 menampilkan nilai rerata, fluktuasi, dan hasil uji multivariate dari laju pernapasan tujuh ekor sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari. Laju pernapasan tertinggi di daerah ini terjadi pada sapi 11004. Hal ini berkaitan dengan tingginya suhu tubuh sapi tersebut yang menandakan bahwa beban panas dalam tubuh yang tinggi. Laju pernapasan yang tinggi berguna untuk menurunkan beban panas sehingga terjadi keseimbangan panas dalam tubuh sapi.

Tabel I.17. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari laju pernapasan antar individu sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari.

Sore (BPM)		10901	10902	10903	11004	11007	11008	11009
Pagi (BPM)		19	23	19	23	20	17	19
10901	16	3			a			
10902	17		6					
10903	16			3	a			
11004	20				3		a	a
11007	18					2		
11008	19						2	
11009	17							2

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata laju pernapasan antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.18 menampilkan nilai rerata, fluktuasi, dan hasil uji multivariate dari laju pernapasan sepuluh ekor sapi Bali di Desa Lombo Tengah pada pagi dan sore hari. Fluktuasi laju pernapasan sapi di daerah ini bervariasi karena kemampuan individu yang berbeda merespons fluktuasi suhu lingkungan. Fluktuasi laju pernapasan tertinggi terjadi pada sapi 0004 walaupun tidak

menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap individu lainnya. Sapi 0410 mempunyai laju pernapasan yang tinggi pada sore hari karena suhu tubuhnya juga nyata lebih tinggi dari sapi lain. Sementara, sapi 17774 dan sapi 0806 mempunyai laju pernapasan yang nyata lebih rendah daripada individu lainnya.

Tabel I.18. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari laju pernapasan antar individu sapi Bali di Desa Lompo Tengah pada pagi dan sore hari.

Sore (BPM)		0023	0045	001	17773	0410	0001	17774	0004	0806	0011
Pagi (BPM)		30	28	27	28	32	31	21	30	25	28
0023	23	7						a		a	
0045	27		1					a		a	
001	22			5				a			
17773	19				9						
0410	23					9		a		a	
0001	22						8	a		a	
17774	17							4	a		a
0004	20								10		
0806	17									8	a
0011	25										3

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata laju pernapasan antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.19. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari laju pernapasan antar individu sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari.

Sore (BPM)		BII1	633	622	639	648	BII6	BII7	BII8	BII9	BII10
Pagi (BPM)		23	29	38	28	38	34	46	32	37	40
BII1	17	6	a	a		a	a	a	a	a	a
633	22		7	a		a		a		a	a
622	25			13	a			a			
639	21				7	a	a	a		a	a
648	28					10					
BII6	27						7	a		a	
BII7	28							18	a		
BII8	26								6	a	a
BII9	35									2	
BII10	30										10

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata laju pernapasan antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.19 menampilkan nilai rerata, fluktuasi, dan hasil uji multivariate dari laju pernapasan sepuluh ekor sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari. Laju pernapasan dan fluktuasi dari sepuluh ekor sapi di daerah ini lebih tinggi daripada sapi di daerah lain. Hal ini berkaitan dengan suhu tubuh yang tinggi pada populasi di desa ini. Termoregulasi pada populasi ini aktif dan berjalan seimbang sehingga beban panas dalam tubuh sapi pada sore hari menjadi lebih rendah.

Tabel I.20. Nilai rerata, fluktuasi (kolom kuning), dan hasil uji multivariate dari laju pernapasan antar individu sapi di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari.

Sore (BPM)		Sapi Bali						Sumbawa Ongole		
		LM1	J12	JP3	AT4	CT5	SJ6	GO7	SO 1	SO 2
Pagi (BPM)		27	29	34	27	24	24	32	33	28
LM1	20	7							a	
J12	20		9				a		a	
JP3	19			15	a	a	a		a	
AT4	20				7				a	
CT5	20					4		a	a	
SJ6	18						6	a	a	a
GO7	19							13	a	
SO 1	28								15	a
SO 2	21									7

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata laju pernapasan antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.20 menampilkan nilai rerata, fluktuasi, dan hasil uji multivariate dari laju pernapasan dari tujuh ekor sapi Bali dan dua ekor sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari. Laju pernapasan sapi Bali di pagi hari tidak menunjukkan perbedaan nilai rerata yang nyata, tetapi perbedaan rerata laju pernapasan yang nyata pada sore hari. Sapi JP3 dan sapi GO7 mempunyai laju pernapasan yang relatif lebih tinggi di sore hari sehingga fluktuasi laju pernapasannya juga menjadi lebih tinggi dari individu sapi Bali lainnya. Sementara sapi SO menunjukkan perbedaan rerata yang nyata pada kedua individu baik pagi dan sore hari. Kedua sapi SO ini juga menunjukkan laju pernapasan yang lebih tinggi daripada populasi sapi Bali (data ditampilkan pada tabel I.16). Laju pernapasan sapi SO lebih tinggi karena genotipe sapi ini

mengandalkan evaporasi sebagai upaya pelepasan panas daripada mekanisme non-evaporasi. Selain itu, sapi SO yang merupakan turunan *Bos indicus* mempunyai kelenjar keringat yang besar, sehingga pelepasan panas juga terjadi melalui evaporasi keringat (Finch 1986, Sodhi dkk. 2013).

5. HTC (*Heat Tolerance Coefficient*)

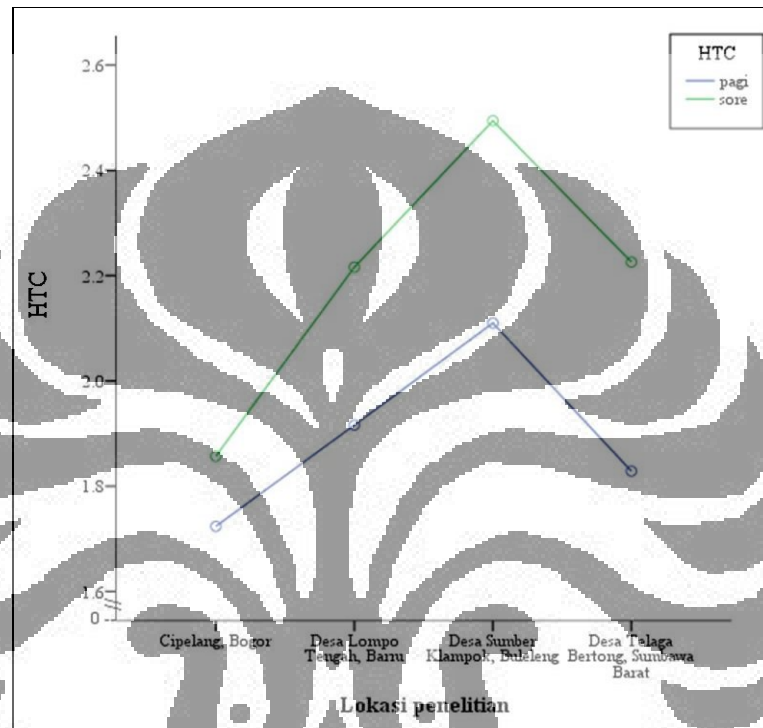
Tabel I.21 menampilkan nilai rerata HTC sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) yang berada di Desa Telaga Bertong. Uji multivariate menyatakan ada perbedaan nyata nilai HTC sapi Bali antar lokasi penelitian ($p=0$) yang ditampilkan pada gambar I.6. Sapi Bali di Cipelang menunjukkan nilai HTC kurang dari dua baik pagi dan sore hari, yang menandakan populasi di Cipelang berada pada kondisi lingkungan di bawah zona termonetralnya. Meskipun populasi ini berada di bawah zona termonetralnya, sapi 11004 mempunyai nilai HTC sama dengan dua di sore hari, akibat suhu tubuh dan laju pernapasan yang lebih tinggi di populasinya (tabel I.22). Sapi Bali yang ada di Desa Lombo Tengah dan Desa Telaga Bertong mempunyai nilai HTC yang lebih kecil dari dua pada pagi hari dan lebih besar dari dua pada sore hari. Kondisi lingkungan pagi hari di kedua desa ini berada di dalam zona termonetralnya sedangkan sore hari berada di atas zona termonetralnya.

Tabel I.21. Rerata HTC sapi Bali di empat lokasi penelitian dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong.

Jenis Sapi	Lokasi Penelitian	HTC	
		Pagi	Sore
Sapi Bali	Cipelang	$1,7 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,2$
	Desa Lombo Tengah	$1,9 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,3$
	Desa Sumber Klampok	$2,1 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,4$
Sapi Bali	Desa Telaga Bertong	$1,8 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,2$
Sapi SO		$2 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,2$

HTC merupakan evaluasi untuk mengetahui individu pada suatu populasi peka atau tidak peka terhadap cekaman panas. Individu yang suhu tubuhnya lebih dahulu meningkat dan lebih tinggi dari individu lainnya disebut sebagai individu yang tidak peka terhadap panas (Moran dkk. 2007). Evaluasi HTC pada hewan

ternak diukur dari jumlah antara perbandingan suhu tubuh yang diukur dengan angka standar suhu tubuh yaitu $38,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan perbandingan laju pernapasan dalam satu menit yang diukur dengan angka standar laju pernapasan yaitu 23 BPM. Bila suatu individu mempunyai nilai HTC sama dengan dua, individu tersebut berada pada zona termonetral. Apabila nilai HTC kurang atau lebih dari dua, individu tersebut berada di bawah atau di atas zona termonetralnya (Benezra 1954).



Gambar I.6. Perbedaan rerata HTC sapi Bali di empat lokasi penelitian ($p=0$).

Tabel I.22. Nilai rerata dan hasil uji multivariate dari HTC antar individu sapi Bali di Cipelang pada pagi dan sore hari.

		Sore	10901	10902	10903	11004	11007	11008	11009
Pagi	Sore		1,8	1,98	1,83	2	1,85	1,73	1,83
	Pagi	10901	1,67			a			
10902	1,67								
10903	1,7				a				
11004	1,87						a	a	
11007	1,73								
11008	1,73								
11009	1,7								

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata HTC antar individu ($p<0,05$)

Tabel I.23 yang menampilkan nilai rerata HTC sapi Bali di Desa Lompo Tengah menunjukkan nilai HTC sapi 0045, sapi 0410 dan sapi 0011 sudah di angka dua pada pagi hari dan lebih dari dua pada sore hari. Ketiga sapi tersebut diindikasikan tidak peka terhadap panas. Sementara, sapi 17774 merupakan individu yang mempunyai kepekaan yang baik terhadap cekaman panas di populasinya karena nilai HTC yang kurang dari dua pada sore hari.

Tabel I.23. Nilai rerata dan hasil uji multivariate dari HTC antar individu sapi Bali di Desa Lompo Tengah pada pagi dan sore hari.

		Sore	0023	0045	001	17773	0410	0001	17774	0004	0806	0011
Pagi			2,3	2,2	2,2	2,2	2,4	2,34	1,92	2,28	2,08	2,22
0023	1,98											
0045	2,14								a			
001	1,92											
17773	1,78											
0410	2,02								a			
0001	1,96											
17774	1,72											
0004	1,86											
0806	1,72											
0011	2,06											

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata HTC antar individu ($p < 0,05$)

Tabel I.24. Nilai rerata dan hasil uji multivariate dari HTC antar individu sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi dan sore hari.

		Sore	Bll1	633	622	639	648	Bll6	Bll7	Bll8	Bll9	Bll10
Pagi			1,98	2,3	2,66	2,18	2,66	2,46	2,98	2,44	2,56	2,72
Bll1	1,74			a	a		a	a	a	a	a	a
633	1,98				a		a		a		a	a
622	2,06					a			a			
639	1,92						a	a	a	a	a	a
648	2,18											
Bll6	2,16								a		a	
Bll7	2,18									a		
Bll8	2,12										a	a
Bll9	2,48											
Bll10	2,28											

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata HTC antar individu ($p < 0,05$)

Sapi Bali di Desa Sumber Klampok menunjukkan nilai HTC yang tertinggi daripada populasi sapi Bali di tiga lokasi lainnya baik pagi dan sore hari (data ditampilkan pada tabel I.24). Kelembaban yang tinggi dan kecepatan angin yang rendah di desa ini menyebabkan kondisi cekaman pada sapi Bali. Data kondisi lingkungan dapat dilihat pada tabel I.26. Sebagian besar sapi Bali di desa ini mempunyai nilai HTC di atas angka dua pada pagi hari, kecuali sapi Bll1, sapi 633 dan sapi 639. Sementara, sapi Bll1 juga menunjukkan nilai HTC lebih kecil dari dua pada sore hari sehingga sapi ini diindikasikan lebih peka terhadap cekaman kondisi lingkungan Desa Sumber Klampok. Sebaliknya, sapi Bll7 yang mempunyai nilai HTC yang paling tinggi mengindikasikan bahwa sapi tersebut tidak peka terhadap kondisi lingkungan Desa Sumber Klampok.

Tabel I.25. Nilai rerata dan hasil uji multivariate dari HTC antar individu sapi Bali di Desa Telaga Bertong pada pagi dan sore hari.

	Sore	LM1	J12	JP3	AT4	CT5	SJ6	G07	SO 1	SO 2
Pagi		2,16	2,24	2,5	2,16	2,06	2,06	2,4	2,42	2,18
LM1	1,86								a	
J12	1,82								a	
JP3	1,8				a	a	a		a	
AT4	1,82								a	
CT5	1,88							a	a	
SJ6	1,78							a	a	
G07	1,84								a	
SO 1	2,2									a
SO 2	1,92									

Keterangan :

a = ada perbedaan nyata HTC antar individu. ($p < 0,05$)

Tabel I.25 menampilkan nilai rerata HTC sapi Bali dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong. Sapi JP3 dan GO7 adalah sapi Bali yang mempunyai nilai HTC tertinggi di populasinya pada sore hari. Kedua individu ini diindikasikan tidak tahan terhadap cekaman panas. Sementara sapi CT5 dan SJ6 yang mempunyai nilai HTC terendah pada sore hari menandakan bahwa keduanya peka terhadap cekaman panas di populasinya. Sapi Sumbawa Ongole menunjukkan nilai HTC yang lebih tinggi daripada populasi sapi Bali baik pagi maupun sore hari ini. Bahkan sapi SO ini mempunyai nilai HTC di atas dua pada

pagi hari. Hal ini menandakan bahwa sapi SO tidak lebih peka terhadap cekaman panas daripada sapi Bali pada kondisi lingkungan Desa Telaga Bertong.

B. Kondisi Lingkungan Penelitian

Ada empat lokasi penelitian yaitu Cipelang Kabupaten Bogor, Jawa Barat, Desa Lombo Tengah Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan, Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng, Bali, dan Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat, NTB. Pengukuran kondisi lingkungan pada empat lokasi ini dilakukan di waktu yang berbeda tetapi masih di musim kemarau. Pengukuran kondisi lingkungan di Desa Lombo Tengah, Desa Sumber Klampok, dan Desa Telaga Bertong dilakukan pada bulan Agustus 2016, sedangkan pengukuran kondisi lingkungan di Cipelang dilakukan di bulan Oktober 2016. Kondisi lingkungan keempat lokasi penelitian dapat dilihat pada tabel I.26.

Tabel I.26. Kondisi lingkungan berupa suhu udara, kelembaban udara, kecepatan angin dan intensitas matahari pagi dan sore hari di lokasi penelitian.

Lokasi penelitian	Parameter Lingkungan	Waktu Pengukuran	
		Pagi	Sore
Cipelang, Kab. Bogor	Suhu udara (°C)	21,76 ± 1,3	21,8 ± 1,9
	Kelembaban udara (%)	89,9 ± 6,9	90,7 ± 8,1
	Kecepatan angin (km/jam)	3,7 ± 5,7	7,4 ± 6,6
	Intensitas matahari (kW/m ²)	27,7 ± 32,0	116,1 ± 104,2
	THI	70,1 ± 1,9	70,4 ± 2,9
Desa Lombo Tengah, Kab. Barru	Suhu udara (°C)	26,2 ± 3,4	32,6 ± 0,9
	Kelembaban udara (%)	84,1 ± 11,6	66,6 ± 5,4
	Kecepatan angin (km/jam)	0,7 ± 1,1	5,0 ± 3,6
	Intensitas matahari (kW/m ²)	183,7 ± 94,3	218,2 ± 97,7
	THI	77,1 ± 4,2	84,6 ± 1,3
Desa Sumber Klampok, Kab. Buleleng	Suhu udara (°C)	25,2 ± 1,2	31,9 ± 2,2
	Kelembaban udara (%)	95,5 ± 4,0	69,8 ± 7,4
	Kecepatan angin (km/jam)	1,8 ± 2,4	3,9 ± 2,0
	Intensitas matahari (kW/m ²)	47,1 ± 78,1	198,9 ± 121,7
	THI	76,9 ± 2,2	84 ± 4,2
Desa Telaga Bertong, Kab. Sumbawa Barat.	Suhu udara (°C)	29,2 ± 2,4	33,2 ± 2,2
	Kelembaban udara (%)	62,4 ± 9,5	57,1 ± 6,6
	Kecepatan angin (km/jam)	1,8 ± 2,4	3,9 ± 2,0
	Intensitas matahari (kW/m ²)	218,5 ± 89,4	211,1 ± 83,4
	THI	71,5 ± 2,2	75,3 ± 2,8

Uji multivariate dilakukan untuk mengetahui ada atau tidak pengaruh dari empat lokasi penelitian, waktu pengambilan data dan interaksi antara lokasi penelitian dan waktu pengambilan data terhadap perbedaan suhu udara, kelembaban udara, kecepatan angin dan intensitas matahari (Maya 2015). Kekuatan observasi yang mendekati atau sama dengan satu menyatakan bahwa variabel bebas sangat berpengaruh kuat terhadap variabel tidak bebas. Nilai p yang kurang dari 0,05 berarti ada pengaruh nyata variabel bebas terhadap variabel tidak bebas. Hasil uji multivariate yang ditampilkan pada tabel I.27 menunjukkan lokasi penelitian memberi pengaruh yang nyata terhadap suhu udara, kelembaban udara dan intensitas matahari, tetapi tidak berpengaruh yang nyata terhadap kecepatan angin. Waktu pengambilan data yang dilakukan dua kali memberi pengaruh nyata terhadap semua parameter lingkungan. Interaksi antara lokasi penelitian dan waktu pengambilan sampel berpengaruh nyata terhadap suhu udara, kelembaban udara dan intensitas matahari, tetapi tidak terhadap kecepatan angin.

Tabel I.27. Hasil uji pengaruh lokasi penelitian, waktu pengambilan data dan interaksi antara lokasi penelitian dan waktu pengambilan data terhadap perbedaan suhu udara, kelembaban udara, kecepatan angin dan intensitas matahari.

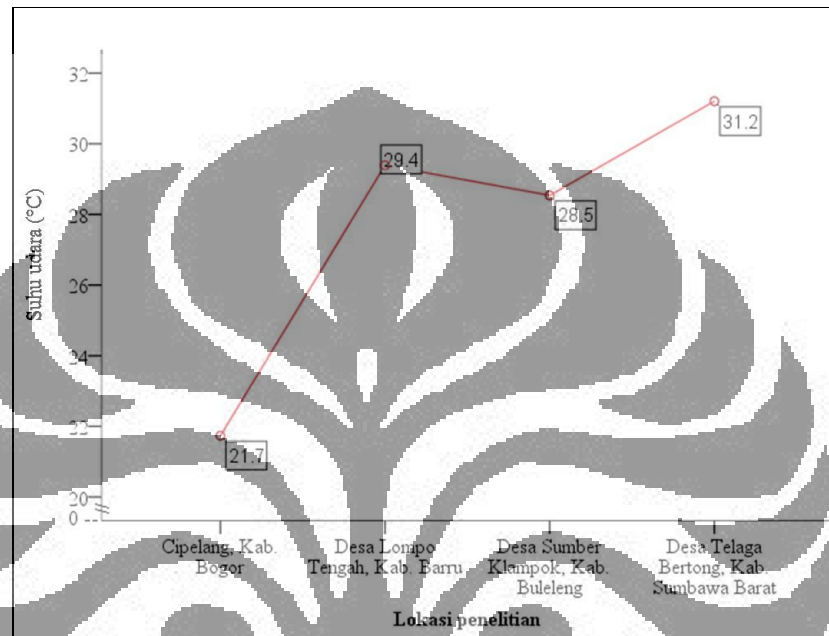
Variabel Bebas	Variabel Tidak Bebas	Nilai p	Observed Power ^f
Lokasi sampling	Suhu udara	0,000	1,000
	Kelembaban udara	0,000	1,000
	Kecepatan angin	0,056	0,622
	Intensitas matahari	0,000	0,994
	THI	0,000	1,000
Waktu pengukuran	Suhu udara	0,000	1,000
	Kelembaban udara	0,000	1,000
	Kecepatan angin	0,000	0,992
	Intensitas matahari	0,003	0,849
	THI	0,000	1,000
Lokasi sampling * Waktu pengukuran	Suhu udara	0,000	0,991
	Kelembaban udara	0,000	1,000
	Kecepatan angin	0,616	0,169
	Intensitas matahari	0,029	0,713
	THI	0,000	0,985

Keterangan:

f dihitung dengan $\alpha = 0,05$.

Suhu udara di beberapa lokasi penelitian berbeda nyata satu dengan yang lain. Grafik rerata suhu udara di empat lokasi penelitian ditampilkan pada gambar

I.7. Suhu udara di Cipelang nyata lebih rendah, sedangkan suhu udara di Desa Telaga Bertong nyata lebih tinggi daripada lokasi lain. Sementara, suhu udara di Desa Lompo Tengah tidak berbeda nyata dengan suhu udara di Desa Sumber Klampok. Berdasarkan suhu udara, urutan daerah terdingin hingga terpanas dapat dijabarkan sebagai berikut: Cipelang, Desa Sumber Klampok, Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong.

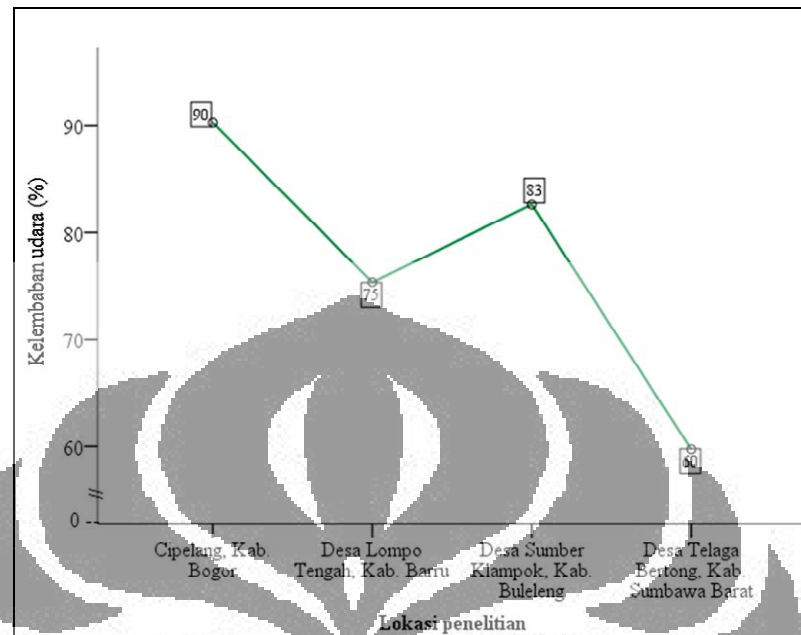


Gambar I.7. Perbedaan rerata suhu udara di empat lokasi penelitian ($p=0$).

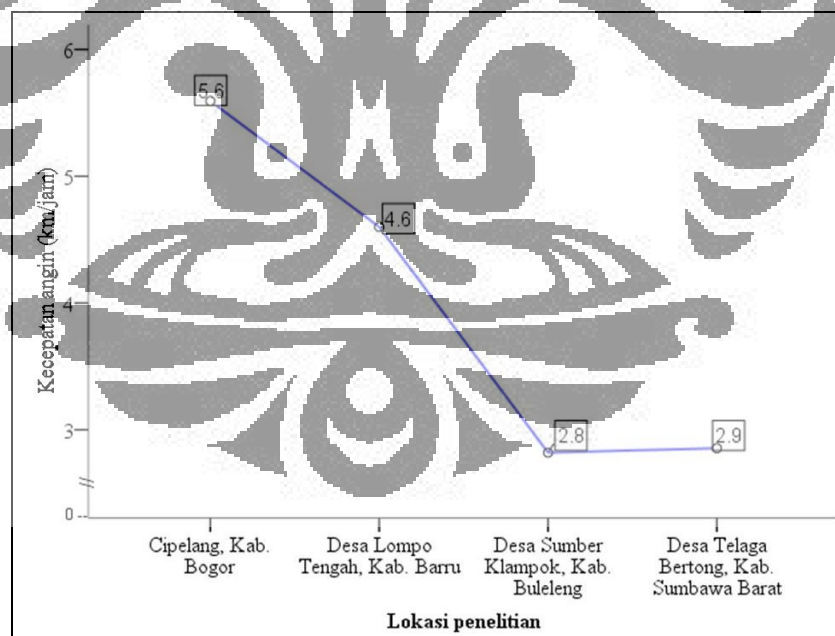
Kelembaban udara di semua lokasi berbeda nyata satu dengan yang lain (gambar I.8). Kelembaban udara di Cipelang nyata lebih lembab, sedangkan kelembaban udara di Desa Telaga Bertong nyata paling kurang lembab daripada lokasi lain. Desa Sumber Klampok mempunyai kelembaban udara yang nyata lebih tinggi dari Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong. Berdasarkan kelembaban udara, urutan daerah terlembab hingga kurang lembab dapat dijabarkan sebagai berikut: Cipelang, Desa Sumber Klampok, Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong.

Kecepatan angin tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar lokasi penelitian, kecuali pada lokasi Cipelang (gambar I.9). Kecepatan angin di Cipelang nyata lebih tinggi dari tiga lokasi lainnya. Berdasarkan kecepatan angin,

urutan daerah berangin hingga kurang berangin dapat dijabarkan sebagai berikut:
Cipelang, Desa Lombo Tengah, Desa Telaga Bertong dan Desa Sumber Klampok.

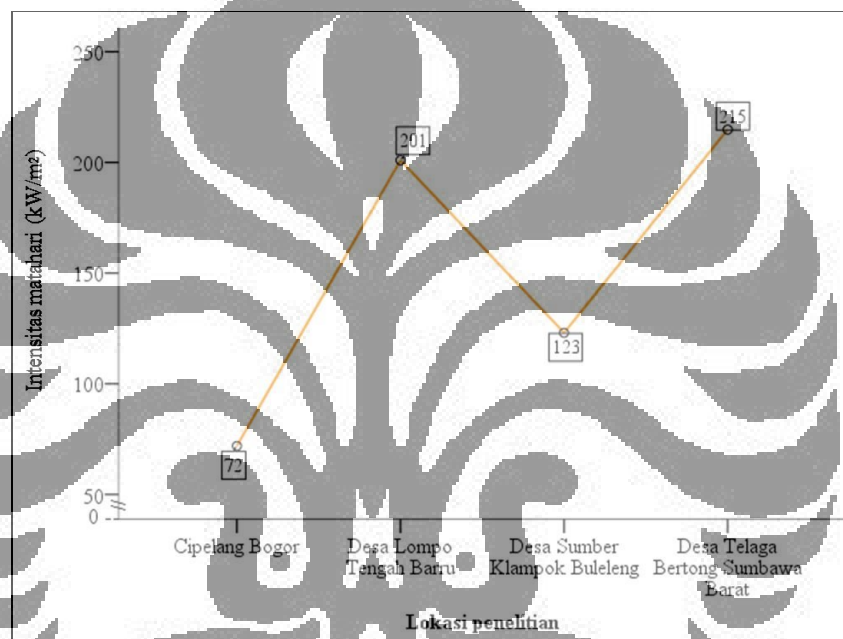


Gambar I.8. Perbedaan rerata kelembaban udara di empat lokasi penelitian ($p=0$).



Gambar I.9. Perbedaan rerata kecepatan angin di empat lokasi penelitian ($p=0,616$).

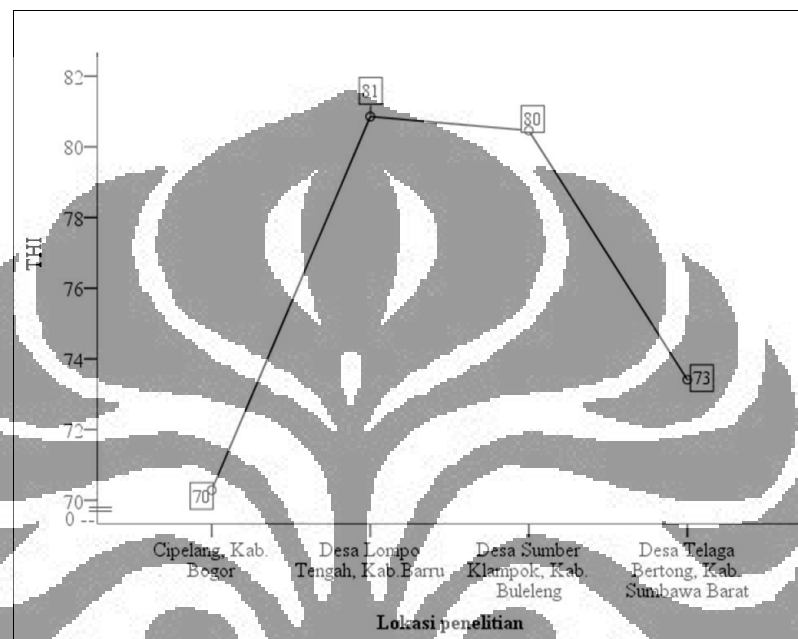
Intensitas matahari di lokasi penelitian menunjukkan perbedaan yang nyata yang dapat dilihat pada gambar I.10. Intensitas matahari di Cipelang dan Desa Sumber Klampok nyata lebih rendah daripada di Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong. Tidak ada perbedaan intensitas matahari yang nyata antara Cipelang dan Desa Sumber Klampok, juga antara Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong. Berdasarkan lokasi penelitian yang mempunyai intensitas matahari dari yang tertinggi hingga ke rendah, urutan lokasi dapat dijabarkan sebagai berikut: Desa Telaga Bertong, Desa Lompo Tengah, Desa Sumber Klampok dan Cipelang.



Gambar I.10. Perbedaan rerata intensitas matahari di empat lokasi penelitian ($p=0,029$).

Nilai THI menggambarkan beban panas yang diukur berdasarkan nilai suhu dan kelembaban udara di lokasi penelitian. Selanjutnya, nilai THI dikelompokkan menjadi 4 zona, yaitu zona normal bila nilai THI kurang dari 70, zona *alert* bila nilai THI antara 71 – 78, zona *danger* bila nilai THI antara 79 – 83, dan zona *emergency* bila nilai THI lebih dari 83 (Preez 2000). Berdasarkan zona THI tersebut dan nilai rerata THI pada gambar I.11, Cipelang masuk zona normal, Desa Lompo Tengah dan Desa Sumber Klampok masuk zona *danger*, dan Desa Telaga Bertong masuk zona *alert*. Dengan demikian, kondisi lingkungan di Desa

Lompo Tengah, Desa Sumber Klampok, dan Desa Telaga Bertong cenderung memberikan cekaman panas kepada sapi, hanya saja Desa Lompo Tengah mempunyai kecepatan angin yang lebih tinggi dari kedua lokasi tersebut, sehingga dapat terjadi pelepasan panas pada sapi. Sementara Cipelang merupakan daerah yang masuk zona termonetral sapi, kemungkinan cekaman panas tidak terjadi di daerah ini.



Gambar 1.11. Perbedaan rerata indeks suhu dan kelembaban (THI) di empat lokasi penelitian ($p=0$).

Korelasi Pearson digunakan untuk menguji ada atau tidaknya hubungan, kekuatan hubungan dua variabel numerik dan arah hubungan kedua variabel tersebut (Maya 2015). Hasil uji korelasi Pearson antara data fisiologi sapi dan kondisi lingkungan habitatnya dapat dilihat pada tabel 1.28. Sapi Bali di Cipelang mempunyai beban panas yang berasal dari dalam tubuh saja. Beban panas dalam tubuh meningkat sejalan dengan penurunan kelembaban udara, kecepatan angin dan peningkatan intensitas matahari. Sementara, sapi Bali yang ada di Desa Lompo Tengah mendapatkan panas dari lingkungan dan tubuhnya karena peningkatan panas dalam tubuh sejalan dengan peningkatan suhu udara dan penurunan kelembaban udara. Akan tetapi, sapi Bali di Desa Lompo Tengah juga dapat melepaskan panas melalui pernapasan dan konveksi karena adanya angin.

Peningkatan pernapasan sapi di lokasi ini sejalan dengan peningkatan kecepatan angin dan suhu udara serta penurunan kelembaban udara. Hal serupa terjadi pada sapi Bali di Desa Sumber Klampok yang mendapat panas dari dalam tubuh juga dari peningkatan suhu udara dan penurunan kelembaban udara. Hanya saja pelepasan panas oleh sapi Bali di Desa Sumber Klampok yang melalui pernapasan terjadi sejalan dengan peningkatan suhu udara saja. Peningkatan suhu tubuh disertai laju pernapasan pada populasi sapi di Desa Sumber Klampok menunjukkan terjadi produksi dan pelepasan panas yang bersamaan sehingga beban panas yang tersimpan saat sore hari menjadi lebih kecil bila dibandingkan dengan Desa Lombo Tengah dan Desa Telaga Bertong. Pada sapi Bali di Desa Telaga Bertong, beban panas yang diperoleh dari dalam tubuh dan lingkungan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu udara. Berbeda dengan sapi Bali, beban panas sapi Sumbawa Ongole (SO) sangat dipengaruhi oleh kenaikan suhu udara sehingga mempengaruhi suhu tubuh. Oleh karena sapi SO turunan dari sapi *B. indicus* yang mempunyai sistem pelepasan panas melalui evaporasi, laju pernapasan meningkat sejalan dengan penurunan kelembaban udara di Desa Telaga Bertong.

Tabel I.28. Hubungan korelasi data fisiologi sapi Bali dengan parameter lingkungan di empat lokasi penelitian

Korelasi Pearson	Parameter Lingkungan			
	Fisiologi sapi	Suhu udara	Kelembaban udara	Kecepatan angin
Suhu kulit	+, b +, cc +, d +, ee	-, b -, cc		
Suhu rektum	+, bb +, cc +, d	+, a -, b -, cc	-, a	+, a
Suhu tubuh	+, bb +, cc +, d +, e	-, a -, bb -, cc	-, a	+, a
Laju pernapasan	+, bb +, c	-, bb -, e	+, bb	

Keterangan:

- + : korelasi positif
- : korelasi negatif
- a : hubungan korelasi yang kuat antara fisiologi sapi Bali dengan parameter lingkungan di Cipelang, $p < 0,05$.
- b : hubungan korelasi yang kuat antara fisiologi sapi Bali dengan parameter lingkungan di Desa Lompo Tengah, $p < 0,05$.
- bb : hubungan korelasi yang sangat kuat antara fisiologi sapi Bali dengan parameter lingkungan di Desa Lompo Tengah, $p < 0,01$
- c : hubungan korelasi yang kuat antara fisiologi sapi Bali dengan parameter lingkungan di Desa Sumber Klampok, $p < 0,05$.
- cc : hubungan korelasi yang sangat kuat antara fisiologi sapi Bali dengan parameter lingkungan di Desa Sumber Klampok, $p < 0,01$
- d : hubungan korelasi yang kuat antara fisiologi sapi Bali dengan parameter lingkungan di Desa Telaga Bertong, $p < 0,05$.
- e : hubungan korelasi yang kuat antara fisiologi sapi Sumbawa Ongole dengan parameter lingkungan di Desa Telaga Bertong, $p < 0,05$.

KESIMPULAN

1. Sapi Bali merespons kondisi iklim Indonesia yang tropis lembab dengan cara peningkatan suhu kulit, suhu rektum, suhu tubuh dan laju pernapasan.
2. Sapi Bali melepaskan panas secara konveksi dan peningkatan laju pernapasan. Sementara, sapi Sumbawa Ongole yang merupakan *outgroup* dalam penelitian ini melepaskan panas hanya melalui peningkatan laju pernapasan saja.

SARAN

1. Penelitian perlu menambahkan parameter lain seperti pakan, hormon dan adaptasi tingkah laku supaya dapat diketahui secara menyeluruh pengaruh kenaikan suhu global bumi.
2. Penelitian perlu dilakukan berulang (*monitoring*) secara berkelanjutan baik pada musim kemarau dan musim hujan supaya dapat diketahui pengaruh kenaikan suhu global bumi terhadap produktivitas sapi Bali.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Anom Bowolaksono, M.Sc. dan Dr. M. Imron, M.Si. atas bimbingannya selama riset berlangsung. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Abinawanto, M.S. dan Dr. Ratna Yuniati, M.Si. atas kritik saran yang membangun kesempurnaan laporan penelitian ini. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Embrio Ternak Cipelang, Kepala Dinas Peternakan Kabupaten Barru Sulawesi Selatan, Kepala Dinas Pertanian dan Peternakan Kabupaten Buleleng Bali, dan Kepala Dinas Pertanian Perikanan dan Peternakan Kabupaten Sumbawa Barat NTB atas ijin yang diberikan untuk mengambil data di lapangan, serta DRPM UI atas hibah PITTA UI 2016 yang mendanai penelitian ini.

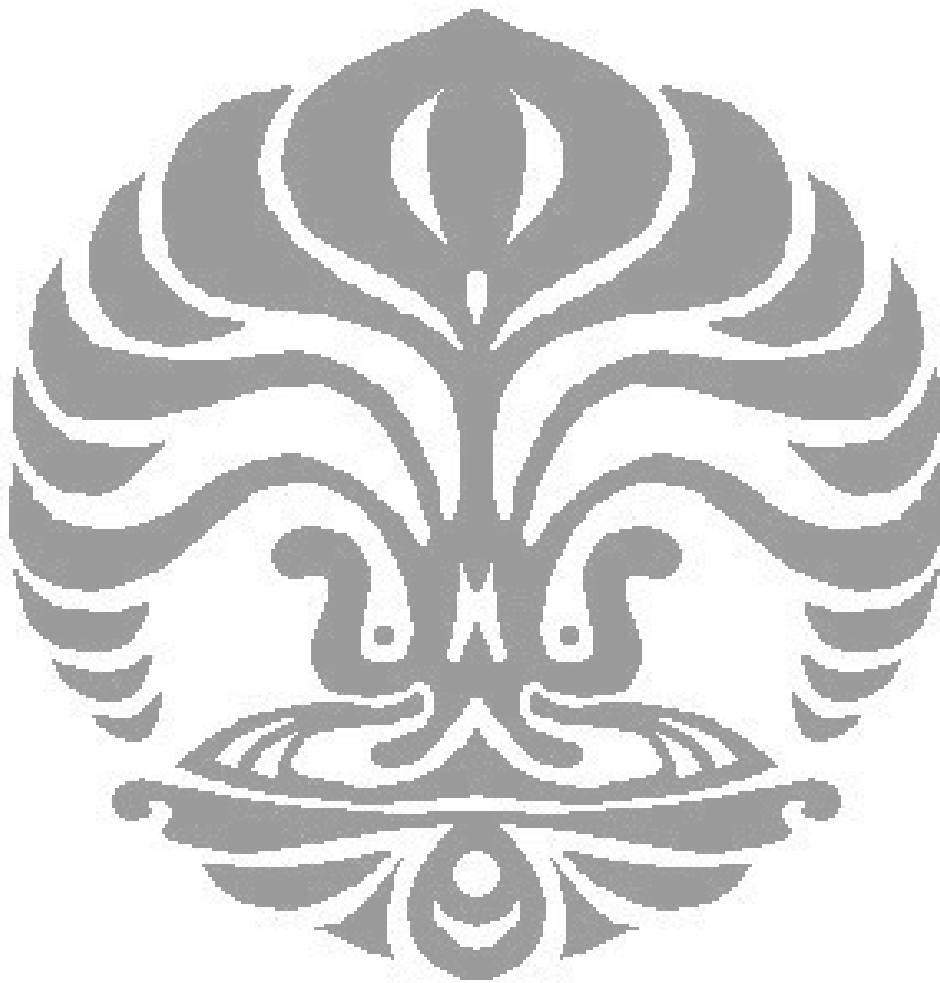
DAFTAR ACUAN

- Badan Pusat Statistik Kabupaten Barru. 2016. *Kabupaten Barru dalam angka 2016*: 281 hlm. https://barrukab.bps.go.id/backside/pdf_publicasi/Kabupaten-Barru-Dalam-Angka-2016.pdf. 23 Desember 2016, pk. 05.50 WIB.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Bogor. 2016. *Statistik Daerah Kecamatan Cijeruk Kabupaten Bogor 2016*: 20 hlm. https://bogorkab.bps.go.id/new/-website/pdf_publicasi/Statistik-Daerah-Kecamatan-Cijeruk-2016.pdf. 23 Desember 2016, pk 03.30 WIB.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Buleleng. 2016. *Kabupaten Buleleng dalam angka 2016*: 42 hlm. https://bulelengkab.bps.go.id/website/pdf_publicasi/-publikasi2016/Statistik-Daerah-Kabupaten-Buleleng-2016.pdf. 23 Desember 2016, pk. 06.00 WIB.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Sumbawa Barat. 2016. *Statistik Daerah Kabupaten Sumbawa Barat Tahun 2016*: 85 hlm. https://sumbawabaratkab.-bps.go.id/website/pdf_publicasi/Statistik-Daerah-Kabupaten-Sumbawa-Barat-2016.pdf. 23 Desember 2016, pk. 06.30 WIB.

- Beatty, D.T., A. Bernes, E. Taylor, D. Pethick, M. McCarthy & S.K. Maloney. 2006. Physiological response of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle to prolonged, continuous heat and humidity. *Journal of Animal Science* **84**: 972—985.
- Berman, A. 2005. Estimates of heat stress needs for Holstein dairy cows. *Journal of Animal Science* **83**: 1377—1384.
- Benezra, M.V. 1954. A New Index for Measuring the Adaptability of Cattle to Tropical Condition. *Proceeding Journal of Animal Science*. 13: 1914—1915.
- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. 2015. *Prakiraan musim kemarau 2015 di Indonesia*. Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika Indonesia, Jakarta: vii+94 hlm.
- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. 2016. Data iklim di Indonesia: 4 hlm. http://dataonline.bmkg.go.id/data_iklim. 22 November 2016, pk. 15.00 WIB.
- Collier, R.J. & J.L. Collier. 2011. *Environmental Physiology of Livestock*. John Wiley & Sons, New Delhi: xi+358 hlm.
- Dikmen, S. & P.J. Hansen. 2008. Is the Temperature-Humidity Index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment. *Journal Dairy Science* **92**: 109—116.
- Finch, V.A. 1986. Body Temperature in beef cattle: It's control and relevance to production in the tropics. *Journal of Animal Science* **62**: 531—542.
- Gaughan, J.B., T.L. Mader, S.M. Holt, M.J. Josey & K.J. Rowan. 1999. Heat tolerance of Boran and Tuli crossbred steers. *Journal of Animal Science* **77**: 2398—2405.
- Hahn, G.L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *Journal of Animal Science* **77**: 10—20.
- Hansen, P.J. 2004. Physiological and cellular adaptation of zebu cattle to thermal stress. *Animal Reproduction Science* **83**: 349—360.
- Howard, J.T. 2012. The impact of genetic background on body temperature regulation in beef cattle during periods of heat and cold stress [*Thesis*]. University of Nebraska, Nebraska: v+82 hlm.

- Kementerian Pertanian. 2010. Penetapan sapi Bali sebagai rumpun asli Indonesia: 4 hlm. <http://bibit.ditjennek.pertanian.go.id/sites/default/files/Sapi%20-Bali.pdf>. 30 April 2016, pk. 10.00 WIB.
- Mader, T.L., M.S. Davis & T. Brown-Brandl. 2003. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *Journal of Animal Science* **84**: 712—719.
- Maya. 2015. *Belajar cepat analisis statistik parametrik dan non parametrik dengan SPSS*. CV Andi Offset, Yogyakarta: vi+214 hlm.
- McLean, J.A., A.J. Downie, C.D.R. Jones, D.P. Stombaugh & C.A. Glasbey. 1983. Thermal adjustments of steers (*Bos taurus*) to abrupt changes in environmental temperature. *Journal Agriculture Science Cambridge* **100**: 305—314.
- McLean, J.A., W.T. Whitmore, B.A. Young & R. Weingardt. 1984. Body heat storage, metabolism and respiration of cows: Abruptly exposed and acclimatized to cold and 18 °C environments. *Canada Journal of Animal Science* **64**: 641—653.
- Moran, D.S., T. Erlich & Y. Eipstein. 2007. The heat tolerance test: an efficient screening tool for evaluating susceptibility to heat. *Journal Sport Rehabilitation* **16**(3): 215—221.
- Preez, J.H.D. 2000. Parameters for determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **67**: 263—271.
- Saiya, H.V. 2012. Aklimatisasi Sapi PO dan Sapi Bali merespon perubahan cuaca di Kabupaten Merauke Papua [Tesis]. Institut Pertanian Bogor, Bogor: xii+59 hlm.
- Scholtz, M.M., C. McManus, K.J. Leeuw, H. Louvandini, L. Seixas, C.B.D. Meio, A. Theunissen & F.W.C. Nesser. 2013. The effect of global warming on beef production in developing countries of the southern hemisphere. *Natural Science* **5**(1A): 106—119.
- Sodhi, M., M. Mukesh, A. Kishore, B.P. Mishra, R.S. Kataria & B.K. Joshi. 2013. Novel Polymorphisms in UTR and coding region of inducible of heat shock

protein 70.1 gene in tropically adapted Indian zebu cattle (*Bos indicus*) and riverine buffalo (*Bubalus bubalis*). *Gene* **527**: 606—615.



Universitas Indonesia

Lampiran I.1. Rerata profil fisiologi sapi Bali di Cipelang Kabupaten Bogor.

Kode Sapi	Waktu	Suhu kulit (°C)	Suhu rektum (°C)	Suhu tubuh (°C)	Laju pernapasan (BPM)	HTC
10901	Pagi	35,2	37,8	37,4	15,9	1,7
	Sore	35,4	38,4	38,0	18,9	1,8
10902	Pagi	35,4	37,0	36,8	16,8	1,7
	Sore	35,6	38,5	38,0	22,7	2,0
10903	Pagi	35,4	37,0	36,8	16,8	1,7
	Sore	35,5	38,8	38,3	18,9	1,8
11004	Pagi	35,4	38,3	37,9	19,8	1,9
	Sore	35,5	38,7	38,2	23,1	2,0
11007	Pagi	35,2	38,0	37,6	17,7	1,8
	Sore	35,4	38,5	38,0	19,8	1,9
11008	Pagi	35,1	37,8	37,4	18,4	1,8
	Sore	35,3	38,2	37,8	17,0	1,7
11009	Pagi	35,3	37,8	37,5	16,9	1,7
	Sore	35,3	38,6	38,2	18,9	1,8

Lampiran I.2. Uji multivariate dari pengambilan data fisiologi sapi Bali di Cipelang Kabupaten Bogor.

Variabel bebas	Variabel tidak bebas	df	Mean Square	F	Sig.
Kode sapi	Suhu kulit	6	.088	1.015	.432
	Suhu rektal	6	.431	4.957	.001
	Suhu tubuh	6	.340	4.833	.001
	Laju pernapasan	6	14.623	1.566	.186
Waktu pengambilan data	Suhu kulit	1	.319	3.664	.064
	Suhu rektal	1	5.701	65.623	.000
	Suhu tubuh	1	4.493	63.883	.000
	Laju pernapasan	1	67.349	7.214	.011
Kode sapi * waktu pengambilan data	Suhu kulit	6	.012	.137	.990
	Suhu rektal	6	.257	2.955	.019
	Suhu tubuh	6	.188	2.680	.030
	Laju pernapasan	6	7.603	.814	.566

Lampiran I.3. Rerata profil fisiologi sapi Bali di Desa Lompo Tengah Kabupaten Barru.

Kode Sapi	Waktu	Suhu kulit (°C)	Suhu rektum (°C)	Suhu tubuh (°C)	Laju pernapasan (BPM)	HTC
0023	Pagi	36,0	37,1	37,0	23	2,0
	Sore	37,0	38,2	38,1	30	2,3
0045	Pagi	36,2	37,0	36,9	27	2,1
	Sore	37,2	38,2	38,0	28	2,2
001	Pagi	36,2	37,6	37,4	22	1,9
	Sore	37,0	38,5	38,3	27	2,2
17773	Pagi	36,6	37,5	37,3	19	1,8
	Sore	37,7	38,6	38,6	28	2,2
0410	Pagi	36,9	38,1	38,0	23	2,0
	Sore	38,4	38,7	38,7	32	2,4
0001	Pagi	36,8	37,9	37,8	22	2,0
	Sore	37,9	39,0	38,8	31	2,4
17774	Pagi	36,2	37,3	37,1	17	1,7
	Sore	37,4	38,5	38,4	21	1,9
0004	Pagi	36,8	38,1	37,9	20	1,8
	Sore	37,3	38,6	38,4	30	2,3
0806	Pagi	36,6	37,7	37,6	17	1,7
	Sore	37,5	38,9	38,7	25	2,1
0011	Pagi	36,2	37,8	37,6	25	2,1
	Sore	37,0	38,5	38,3	28	2,2

Lampiran I.4. Uji multivariate dari pengambilan data fisiologi sapi Bali di Desa Lompo Tengah Kabupaten Barru.

Variabel bebas	Variabel tidak bebas	df	Mean Square	F	Sig.
Kode Sapi	Suhu kulit	9	1.395	5.794	.000
	Suhu rektal	9	.915	2.961	.004
	Suhu tubuh	9	.891	3.298	.002
	Laju pernapasan	9	78.071	2.934	.005
Waktu pengambilan data	Suhu kulit	1	24.800	102.970	.000
	Suhu rektal	1	22.468	72.711	.000
	Suhu tubuh	1	23.232	86.030	.000
	Laju pernapasan	1	1062.760	39.938	.000
Kode Sapi * waktu pengambilan data	Suhu kulit	9	.160	.664	.739
	Suhu rektal	9	.206	.668	.735
	Suhu tubuh	9	.179	.663	.740
	Laju pernapasan	9	24.782	.931	.503

Lampiran I.5. Rerata profil fisiologi sapi Bali di Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng.

Kode Sapi	Waktu	Suhu kulit (°C)	Suhu rektum (°C)	Suhu tubuh (°C)	Laju pernapasan (BPM)	HTC
B111	Pagi	36,2	37,9	37,6	17	1,7
	Sore	37,5	38,2	38,1	23	2,0
0633	Pagi	36,4	37,9	37,7	22	2,0
	Sore	37,8	38,6	38,5	29	2,3
0622	Pagi	36,3	37,5	37,3	25	2,1
	Sore	37,6	38,2	38,1	38	2,7
0639	Pagi	36,4	37,9	37,7	21	1,9
	Sore	37,5	38,4	38,3	28	2,2
0648	Pagi	36,7	37,9	37,8	28	2,2
	Sore	38,5	38,7	38,7	38	2,7
B116	Pagi	36,2	37,8	37,6	27	2,2
	Sore	37,3	38,5	38,4	33	2,4
B117	Pagi	36,2	37,5	37,3	28	2,2
	Sore	37,5	38,3	38,2	46	3,0
B118	Pagi	36,4	38,4	38,1	26	2,1
	Sore	37,8	39,0	38,9	32	2,4
B119	Pagi	36,3	37,8	37,6	35	2,5
	Sore	37,2	37,9	37,8	37	2,6
B1110	Pagi	36,3	37,6	37,4	30	2,3
	Sore	37,4	38,2	38,1	40	2,7

Lampiran I.6. Uji multivariate dari pengambilan data fisiologi sapi Bali di Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng.

Variabel bebas	Variabel tidak bebas	df	Mean Square	F	Sig.
Kode sapi	Suhu kulit	9	.648	2.028	.047
	Suhu rektal	9	.773	6.349	.000
	Suhu tubuh	9	.649	6.532	.000
	Laju pernapasan	9	291.823	9.367	.000
Waktu pengambilan data	Suhu kulit	1	39.690	124.167	.000
	Suhu rektal	1	9.303	76.407	.000
	Suhu tubuh	1	12.250	123.364	.000
	Laju pernapasan	1	1857.610	59.625	.000
Kode sapi * waktu pengambilan data	Suhu kulit	9	.150	.468	.892
	Suhu rektal	9	.115	.948	.489
	Suhu tubuh	9	.104	1.050	.409
	Laju pernapasan	9	50.810	1.631	.121

Lampiran I.7. Rerata profil fisiologi sapi Bali dan sapi Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat.

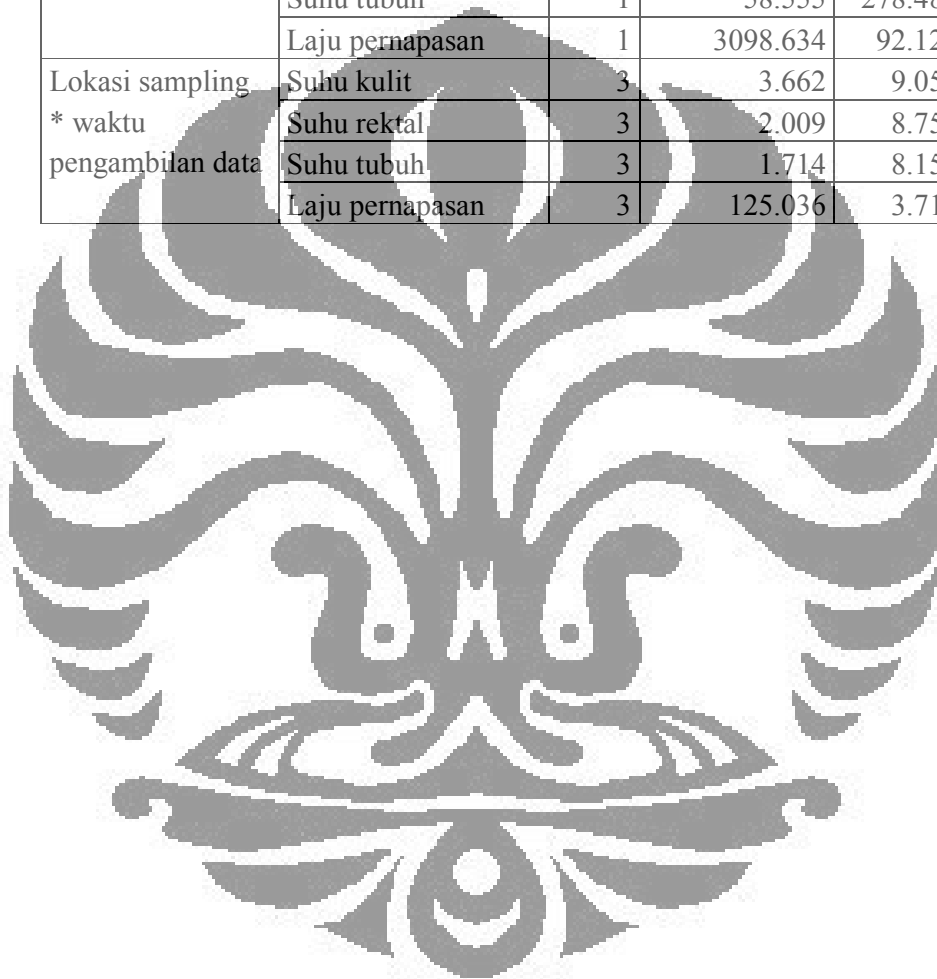
Kode Sapi	Waktu	Suhu kulit (°C)	Suhu rektum (°C)	Suhu tubuh (°C)	Laju pernapasan (BPM)	HTC
Bali_LM1	Pagi	36,5	37,2	37,1	20	1,8
	Sore	37,2	38,7	38,5	27	2,2
Bali_JI2	Pagi	36,0	37,3	37,2	20	1,9
	Sore	37,0	38,5	38,3	29	2,3
Bali_JP3	Pagi	36,1	37,6	37,4	19	1,8
	Sore	37,4	39,1	38,8	34	2,5
Bali_AT4	Pagi	36,9	37,5	37,4	20	1,8
	Sore	37,8	39,1	39,0	27	2,2
Bali_CT5	Pagi	36,3	38,1	37,8	20	1,9
	Sore	37,8	39,2	39,0	25	2,1
Bali_SJ6	Pagi	36,6	37,9	37,7	18	1,8
	Sore	39,1	39,2	39,2	24	2,0
Bali_GO7	Pagi	36,2	37,6	37,4	20	1,8
	Sore	36,9	38,7	38,5	32	2,4
SO 1	Pagi	36,5	38,5	38,2	28	2,2
	Sore	37,5	38,7	38,5	33	2,4
SO 2	Pagi	36,6	38,0	37,8	21	1,9
	Sore	37,2	38,3	38,2	28	2,2

Lampiran I.8. Uji multivariate dari pengambilan data fisiologi sapi Bali dan Sumbawa Ongole (SO) di Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat

Variable bebas	Variabel tidak bebas	df	Mean Square	F	Sig.
Kode sapi	Suhu kulit	8	1.710	3.154	.004
	Suhu rektal	8	.702	6.665	.000
	Suhu tubuh	8	.710	5.439	.000
	Laju pernapasan	8	75.511	5.587	.000
Waktu pengambilan data	Suhu kulit	1	28.900	53.316	.000
	Suhu rektal	1	26.896	255.342	.000
	Suhu tubuh	1	27.005	207.026	.000
	Laju pernapasan	1	1448.011	107.128	.000
Kode sapi * Waktu pengambilan data	Suhu kulit	8	.843	1.555	.154
	Suhu rektal	8	.656	6.228	.000
	Suhu tubuh	8	.542	4.153	.000
	Laju pernapasan	8	34.761	2.572	.016

Lampiran I.9. Interaksi lokasi penelitian dan atau waktu pengambilan data terhadap profil fisiologi sapi Bali.

Variabel bebas	Variabel tidak bebas	df	Mean Square	F	Sig.
Lokasi penelitian	Suhu kulit	3	34.631	85.598	.000
	Suhu rektal	3	.409	1.780	.151
	Suhu tubuh	3	.909	4.321	.005
	Laju pernapasan	3	1568.063	46.619	.000
Waktu pengambilan data	Suhu kulit	1	60.254	148.933	.000
	Suhu rektal	1	58.274	253.882	.000
	Suhu tubuh	1	58.555	278.489	.000
	Laju pernapasan	1	3098.634	92.123	.000
Lokasi sampling * waktu pengambilan data	Suhu kulit	3	3.662	9.051	.000
	Suhu rektal	3	2.009	8.751	.000
	Suhu tubuh	3	1.714	8.150	.000
	Laju pernapasan	3	125.036	3.717	.012



MAKALAH 2
KUANTIFIKASI RASIO GEN *Hsp90* DAN *ATP1A1* TERHADAP GEN *GADPH* SAPI BALI DI INDONESIA DENGAN METODE REVERSE TRANSCRIPTION QUANTITATIVE PCR (RT-qPCR)

Setia Betaria Aritonang, Anom Bowolaksono, & Muhammad Imron

Program Studi Biologi, Program Pascasarjana,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia
Kampus UI, Depok, Jawa Barat
setia.betaria@yahoo.co.id

ABSTRAK

Kenaikan suhu global bumi hingga 2 °C menyebabkan terjadinya cekaman panas. Efek negatif dari kenaikan suhu global dapat dikurangi dengan mempelajari ekspresi gen termoregulator *Hsp90* dan *ATP1A1* pada sapi Bali di beberapa daerah di Indonesia. Sebanyak enam ekor sapi dari Cipelang Kabupaten Bogor, Jawa Barat, lima ekor sapi dari Desa Lompo Tengah Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan, enam ekor sapi dari Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng, Bali, dan empat ekor sapi dari Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat, NTB, diambil darah dari vena jugularisnya kemudian RNA diisolasi dari darah. RNA ditranskripsi balik menjadi cDNA yang kemudian dilanjutkan dengan proses RT-qPCR. Rasio ekspresi gen ditentukan dengan metode $\Delta\Delta C_t$ dan normalisasi dilakukan oleh gen pengatur internal *GADPH*. Analisis data melalui uji Kruskal-Wallis menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada ekspresi kedua gen di empat lokasi penelitian. Sapi Bali merespons variasi kondisi iklim di Indonesia dengan cara regulasi gen *Hsp90* dan *ATP1A1*. Rasio ekspresi gen *Hsp90/GADPH* dan gen *ATP1A1/GADPH* pada Cipelang, Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong lebih tinggi dari Desa Sumber Klampok. Perbedaan nilai rasio ekspresi gen disebabkan oleh perbedaan kondisi iklim lokasi penelitian.

Kata kunci: *ATP1A1*, ekspresi gen, *Hsp90*, RT-qPCR

ABSTRACT

The Earth's global temperature rise to 2 °C led to the heat stress. The negative effect of global temperature rise can be alleviated by studying the gene expression of *Hsp90* and *ATPIA1* on Bali cattle in some areas in Indonesia. Six cattles from Cipelang in Bogor District, West Java Province, five cattles from Lompo Tengah village in Barru District, South Sulawesi Province, six cattles from Sumber Klampok village in Buleleng District, Bali Province and four cattles from Telaga Bertong village in West Sumbawa District, West Nusa Tenggara Province. All cattle were taken blood from jugular vein then RNA was isolated from the blood. The RNA reverse transcribed into cDNA which was later continued with the process of RT-qPCR. The ratio of genes expression were determined by the method of $\Delta\Delta C_t$ which *GADPH* as internal control gene. Data analysis through the Kruskal-Wallis test showed no significantly difference in the expression of both genes in four locations research. Bali cattle responded to variations in Indonesia climatic conditions by regulation of *Hsp90* and *ATPIA1* gene. The ratio of genes expression of *Hsp90/GADPH* and *ATPIA1/GADPH* in Cipelang, Lompo Tengah village and Telaga Bertong village were higher than in Sumber Klampok village. Differences in gene expression ratio values were caused by differences in climatic conditions of the study sites.

Key words: *ATPIA1*, gene expression, *Hsp90*, RT-qPCR

PENDAHULUAN

Respons hewan terhadap cekaman panas dapat terjadi secara fisiologis, tingkah laku dan morfologi. Adaptasi hewan terhadap cekaman panas terjadi secara fisiologis di tingkat organisme hingga di tingkat gen (Hansen 2004). Adaptasi tingkat gen terjadi melalui sintesis protein HSP (*Heat Shock Protein*) (Parsell & Lindquist 1993). Kemelimpahan protein HSP sekitar 1 – 2 % dalam keadaan normal, kemudian peningkatan protein HSP dapat terjadi apabila terinduksi oleh cekaman fisik (Charoensoek dkk. 2012). Meskipun HSP sebagai protein yang bertanggung jawab dalam cekaman panas, ekspresi gen *Hsp* sebagai penanda biologi untuk menyeleksi hewan yang toleran terhadap panas belum diketahui secara signifikan (Gaughan 2012). Ekspresi gen *Hsp90* yang telah

dipelajari pada sapi-sapi Zebu dan Taurin di India menunjukkan gen tersebut nyata terekspresikan ketika suhu lingkungan mencapai 37 – 45 °C (Deb dkk. 2014).

Selain diregulasi oleh gen *Hsp90*, sapi yang mampu beradaptasi terhadap panas juga disebabkan oleh gen *ATP1A1* (Liu dkk. 2011). Gen *ATP1A1* merupakan gen yang mengatur konsentrasi Na^+/K^+ -ATPase dalam sel darah merah dan mempertahankan produksi susu pada sapi perah tetap stabil meskipun sapi mengalami cekaman. Akan tetapi, kedua gen tersebut belum pernah diteliti pada sapi Bali yang hidup di Indonesia.

Perkembangan teknologi biomolekular saat ini mendukung kemajuan pengetahuan genetika, khususnya pengetahuan mengenai gen yang meregulasi adaptasi hewan terhadap cekaman panas. Pada makhluk hidup eukariotik, gen diekspresikan melalui proses transkripsi yang satu arah, yaitu dari DNA menjadi mRNA. Sementara, retrovirus mempunyai kemampuan untuk hibridisasi mRNA menjadi DNA (Lewin 1997). Pemanfaatan retrovirus dalam teknologi biomolekular dipakai untuk mempelajari ekspresi gen, khususnya kuantitatif transkripsi balik *Polymerase Chain Reaction* (RT-qPCR). Keuntungan menggunakan teknologi RT-qPCR adalah pengukuran ekspresi gen terjadi secara langsung (*Real time*) dan cepat.

IPCC (2007) menyatakan bahwa suhu global bumi telah mengalami kenaikan rata-rata sebesar 2 °C selama 1990–2004. Selain itu, Scholtz (2013) menyatakan industri peternakan sapi di negara bagian selatan bumi, seperti Amerika Selatan dan Afrika, mengalami dampak yang serius akibat perubahan iklim global. Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika (2016) menyebutkan daerah di Bogor, Pulau Bali, Sulawesi Selatan dan Pulau Sumbawa mengalami kenaikan suhu udara sekitar 0,1 – 1,9 °C selama tahun 2006 hingga 2015.

Dampak kenaikan suhu udara di Indonesia terhadap ekspresi gen termoregulator belum pernah dipelajari sebelumnya. Identifikasi dan kuantifikasi gen yang mengatur cekaman panas pada hewan khususnya pada sapi perlu dipelajari agar dapat mengurangi efek negatif kenaikan suhu global pada produktivitas sapi (Mehla dkk. 2014). Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari ekspresi gen termoregulator, khususnya *Hsp90* dan *ATP1A1*

pada sapi Bali dengan menggunakan teknologi kuantitatif transkripsi balik PCR (RT-qPCR).

METODOLOGI PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Genetika Departemen Biologi FMIPA UI dan Laboratorium Biomolekular Puslabfor Polri. Penelitian dilakukan selama 9 (sembilan) bulan, mulai Maret hingga Desember 2016.

B. Alat dan Bahan

Objek dalam penelitian ini adalah darah dari enam ekor sapi Bali yang berasal dari BET Cipelang Kabupaten Bogor, Jawa Barat, lima ekor sapi Bali yang berasal dari Desa Lompo Tengah Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan, enam ekor sapi Bali yang berasal dari Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng, Bali, dan empat ekor sapi Bali dari Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat, NTB. Total individu sapi Bali yang dijadikan objek dalam penelitian adalah 21 ekor sapi.

Alat dan bahan yang dipakai dalam pengambilan darah adalah jarum suntik 10 mL [Thermo], tabung EDTA 3 mL [Improve], kapas beralkohol [Alcohol pad], sarung tangan, masker, alat tulis, dan kamera digital [CANON].

Bahan yang dipakai dalam ekstraksi RNA sampai kuantifikasi transkripsi balik PCR adalah RNAlater [Ambion], air bebas nuklease atau NFW [Ambion], SV *Total RNA Isolation* kit [Promega], *IScript cDNA Synthesis* kit [Bio-Rad], *Go Taq PCR Master Mix* [Promega], *Sso Fast Eva Green SMX* kit [Bio-Rad], Agarosa [Bio-Rad], Gel-Red [Biotium], 100 bp DNA *Ladder* [ThermoScientific], 6x *Blue/Orange Loading Dye* [Promega], larutan penyangga TAE 1X [Bio-Rad], tabung plastik ukuran 0,2 mL, 1,5 mL dan 2 mL [Bio-Rad], 96-well plate 0,1 mL

[Applied Biosystem], *optical adhesive cover* [Applied Biosystem], dan primer *Forward* dan *Reverse* dari gen *HSP90*, *ATP1A1*, dan *GADPH* yang dapat dilihat pada tabel II.1.

Tabel II.1. Primer *forward* dan *reverse* dari gen *HSP90*, *ATP1A1* dan *GADPH* (Kumar dkk. 2015).

Gen	Primer
<i>Hsp90</i>	F 5'-AGAAAGGTGAGAAAGAAGAGGAA-3'
	R 5'-TTTCTTATTCTTTGCCACTATCATCC-3'
<i>ATP1A1</i>	F 5'TACCAGTTATCCATCCACAA-3'
	R 5'-TTCTACAGTCTCATTACCTTCT-3'
<i>GADPH</i>	F 5'-GGGCATCATCTCTGCACCT-3'
	R 5'-GGTCATAAGTCCCTCCACGA-3'

Alat yang dipakai dalam penelitian adalah *Bio Safety Cabinet* [Thermo-Scientific], Mikropipet dan tips pipet ukuran 3 – 10 μ L, 10 – 100 μ L, 100 – 1000 μ L [Biohit], ST 40R *Sentrifuge* [ThermoScientific], Vortex [ThermoScientific], Nanovue Plus Spektrofotometer [GE], Thermal Mixer F1.5 [Eppendorf], GeneAmp PCR System 9700 [Applied Biosystem], *Electrophoresis apparatus* [Hoefer], UV Transiluminator [BIOVIEW], dan Real Time Fast 7500 [Applied Biosystem].

C. Cara Kerja

1. Isolasi dan Kuantifikasi RNA

Darah diambil dari vena jugularis sapi pada pagi dan sore hari, kemudian disimpan dalam tabung EDTA 3 mL [Improve]. Selanjutnya darah tersebut segera dipindahkan ke tabung 2 mL yang telah berisi RNAlater [Ambion] untuk mencegah aktivitas RNase dalam darah. Selama proses perjalanan menuju laboratorium, darah yang telah dicampur dengan RNAlater disimpan dalam tabung yang berisi nitrogen cair atau kotak pendingin (*cooler pack*).

Proses isolasi RNA menggunakan panduan kerja dari kit SV *Total RNA Isolation kit* [Promega] yang mengacu pada prinsip isolasi (Chomczynski & Sacchi 2006). Darah yang telah bercampur RNAlater dalam tabung 2 mL disentrifugasi di dalam alat ST 400R *Sentrifuge* [ThermoScientific] dengan kecepatan 3000 rpm

selama 5 menit. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang, lalu sebanyak 1 mL larutan penyangga *Red Blood Cell Lysis* ditambahkan ke dalam tabung yang berisi darah tersebut. Homogenisasi dilakukan dengan menggunakan vortex [ThermoScientific] kemudian disentrifugasi di dalam alat ST 400R *sentrifuge* [ThermoScientific] dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Proses saat supernatan hasil sentrifugasi dibuang hingga homogenisasi menggunakan vortex diulangi sebanyak 3 kali. Selanjutnya, pelet dan supernatan yang diperoleh dari sentrifugasi 3000 rpm, 5 menit yang terakhir disisihkan sebanyak 100 μ L.

Kemudian 175 μ L larutan penyangga lisis RNA dan 350 μ L larutan penyangga dilusi RNA ditambahkan ke dalam tabung yang berisi pelet dan sisa supernatan tersebut. Tabung tersebut diinkubasi pada suhu 70 °C selama 3 menit di dalam Thermal Mixer F1.5 [Eppendorf], lalu disentrifugasi dengan kecepatan 12000 xg selama 10 menit pada suhu 20 °C. Larutan lisat yang bening dipindahkan ke tabung 1,5 mL yang baru, lalu etanol 95 % yang dingin ditambahkan ke dalamnya. Larutan dihomogenisasi dengan menggunakan pipet dan diputar-turunkan menggunakan ST 40 R *Sentrifuge* [ThermoScientific]. *Spin* kolom dimasukkan ke dalam tabung koleksi seperti gambar II.1 di bawah ini.



Gambar II.1 Posisi *spin* kolom di dalam tabung koleksi (Promega 2016 dengan modifikasi).

Seluruh isi di dalam tabung 1,5 mL dipindahkan ke dalam *spin* kolom, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12000 xg selama 10 menit pada suhu 20 °C. Larutan RNA *Wash* sebanyak 600 μ L ditambahkan ke dalam *spin* kolom, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 12000 xg selama 10 menit pada suhu 20 °C. Enzim DNase I dipreparasi dengan cara mencampurkan 40 μ L larutan penyangga *Yellow Core*, 5 μ L 0,09 M $MnCl_2$ dan 5 μ L enzim DNase I dalam satu tabung 1,5 mL yang baru, sehingga total volume 50 μ L untuk satu reaksi. Sebanyak 50 μ L enzim DNase I dimasukkan ke dalam *spin* kolom dan kemudian diinkubasi pada suhu 20 °C selama 15 menit. Setelah itu, larutan DNA *Stop* sebanyak 200 μ L

ditambahkan ke dalam *spin* kolom lalu disentrifugasi dengan kecepatan 12000 xg selama 1 menit pada suhu 20 °C. Larutan RNA *Wash* sebanyak 600 µL ditambahkan ke dalam *spin* kolom kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12000 xg selama 1 menit pada suhu 20 °C. Selanjutnya, larutan RNA *Wash* sebanyak 250 µL ditambahkan ke dalam *spin* kolom kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 12000 xg selama 2 menit pada suhu 20 °C dan buang seluruh cairan yang ada di tabung koleksi. *Spin* kolom dipindahkan ke dalam tabung 1,5 mL yang baru, lalu air bebas nuklease ditambahkan ke dalamnya dan disentrifugasi dengan kecepatan 12000 xg selama 1 menit pada suhu 20 °C. Konsentrasi RNA diukur dengan menggunakan Nanovue Plus Spektrofotometer [GE]. RNA disimpan dalam tabung 0,2 mL di dalam tabung nitrogen cair.

2. Sintesis untai pertama cDNA (*Complementary Deoxyribonucleic Acid*)

Cetakan yang digunakan dalam sintesis untai pertama cDNA adalah RNA. Proses sintesis cDNA menggunakan panduan kerja dari iScript cDNA synthesis kit [Bio-Rad]. Volume untuk satu reaksi sintesis cDNA di dalam tabung 0,2 mL terdiri dari 4 µL 5x iScript *reaction mix*, 1 µL iScript *reverse transcription*, dan 15 µL campuran cetakan RNA dengan air bebas nuklease sehingga konsentrasi RNA menjadi 1 ng/µL untuk dipakai dalam sintesis cDNA. Proses sintesis cDNA ini dilakukan di dalam mesin GeneAmp PCR System 9700 dengan suhu inkubasi 25 °C selama 5 menit, 42 °C selama 30 menit, dan 85 °C selama 5 menit. Konsentrasi cDNA diukur dengan menggunakan Nanovue Plus Spektrofotometri [GE]. Rasio absorbansi 260 nm dan 280 nm menunjukkan nilai kemurnian dari cDNA. Penyimpanan cDNA dilakukan dalam tabung 0,2 mL di dalam lemari pendingin -20 °C.

3. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan Elektroforesis

Proses PCR dilakukan di dalam mesin GeneAmp PCR System 9700 [Applied Biosystem]. Volume untuk satu reaksi PCR yang dimasukkan dalam tabung 0,2 mL terdiri dari 10 µL *Go Taq PCR Master Mix* [Promega], 0,8 µL primer *Forward* dan *Reverse* (10 pmol), 4,4 µL air bebas nuklease dan 4 µL cetakan cDNA dengan konsentrasi 300 ng/µL. Total volume dalam satu reaksi

adalah 20 μL . Kondisi suhu yang dipakai dalam tahapan proses PCR dapat dilihat pada tabel II.2. Setelah proses PCR selesai, produk PCR dilanjutkan ke elektroforesis atau disimpan pada lemari pendingin $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tabel II.2. Kondisi PCR (Kumar dkk. 2015 dengan modifikasi)

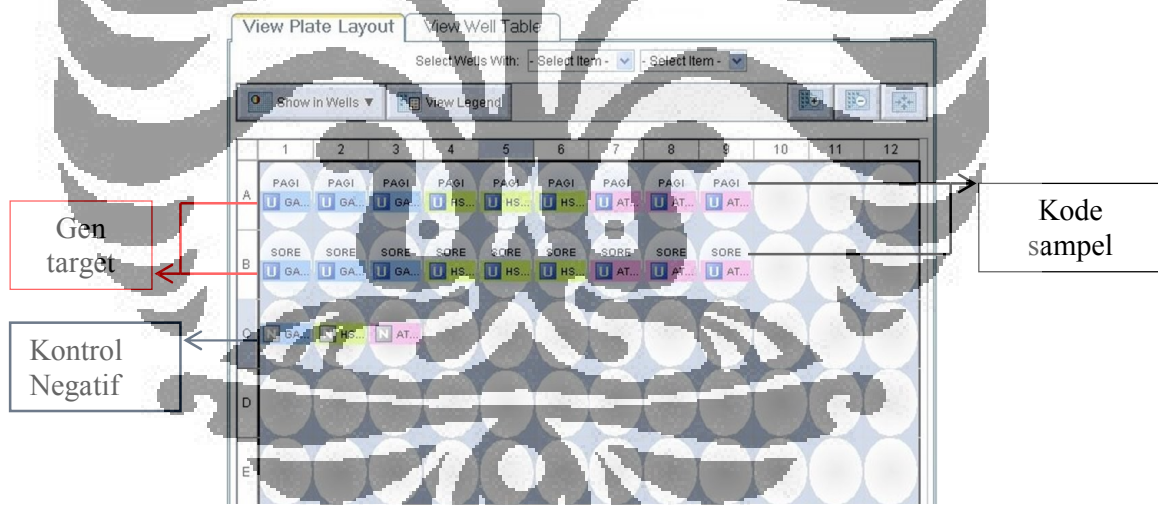
Tahap PCR	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Waktu	Siklus
Pre-denaturasi	94	3 menit	-
Denaturasi	94	30 detik	30
<i>Annealing</i>	<i>Hsp90</i>	54,3	
	<i>ATP1A1</i>	52	
	<i>GADPH</i>	55,5	
Elongasi	72	1 menit	
Elongasi akhir	72	5 menit	-
<i>Preserve</i>	4	∞	-

Elektroforesis dilakukan untuk mengonfirmasi hasil dari proses PCR dengan cara pemisahan pita-pita DNA berdasarkan berat molekulnya (Boeffy 1984). Proses pemisahan pita-pita DNA berlangsung di dalam agarosa 2%. Pembuatan agarosa 2 % dengan cara melarutkan 2,4 g tepung agarosa di dalam 120 mL larutan penyangga TAE 1X, kemudian dipanaskan hingga berubah warna menjadi bening. Larutan pewarna elektroforesis, Gelred [Biotium] sebanyak 2 μL ditambahkan ke dalam larutan agarosa, kemudian larutan dituangkan ke dalam wadah cetakan yang telah dipasang sisir atau *comb*. Ketika agarosa sudah mengeras, sisir dilepaskan dan cetakan dipindahkan ke wadah elektroforesis yang sudah berisi larutan penyangga TAE 1X. Produk PCR sebanyak 7 μL dimasukkan ke dalam sumur agarosa. Produk PCR ini tidak dicampur dengan larutan 6x *Blue/Orange Loading Dye* karena larutan Go Taq PCR Master Mix telah mengandung *loading dye*. Penanda molekular 100 bp DNA Ladder [ThermoScientific] sebanyak 4 μL dicampur dengan 2 μL larutan 6x *Blue/Orange Loading Dye* [Promega] kemudian dimasukkan ke dalam sumur. Setelah semua produk PCR selesai dimasukkan ke dalam sumur agarosa, proses elektroforesis dihubungkan ke power supply dengan tegangan 100 V selama 45 menit. Hasil elektroforesis dibaca di atas plat UV Transiluminator [BIOView] dengan panjang gelombang sinar UV 312 nm.

4. Kuantitatif transkripsi balik PCR (RT-qPCR)

Proses RT-qPCR menggunakan kit *Sso Fast Eva Green SMX* [Bio-Rad] dan berlangsung di dalam mesin Real Time Fast PCR 7500 [Applied Biosystem]. Volume reaksi dari masing-masing sampel dimasukkan ke dalam *96-well plate* 0,1 mL [Applied Biosystem]. Volume untuk satu reaksi sampel terdiri dari 10 μL *Sso Fast Eva Green Master Mix*, 1 μL masing-masing primer *forward* dan *reverse*, 2 μL cetakan cDNA (konsentrasi 50 ng/ μL), dan 6 μL air bebas nuklease. Total volume untuk satu reaksi sampel adalah 20 μL .

Proses RT-qPCR merupakan proses menghitung ekspresi gen *Hsp90*, *ATPIA1* yang dinormalisasi dengan gen internal kontrol *GADPH* antara sampel darah pagi dan sampel darah sore untuk satu individu sapi. Pengulangan terhadap masing-masing gen adalah tiga kali dalam sekali proses RT-qPCR, sehingga dibutuhkan 18 reaksi volume untuk satu individu sapi ditambah 3 kontrol negatif dari gen tersebut. Adapun desain dari 21 reaksi volume tersebut dapat dilihat pada gambar II.2.



Gambar II.2 Desain pada *96-well plate* RT-qPCR

Setelah semua sampel di masukkan dalam *well, plate* kemudian ditutup dengan *optical adhesive cover* [Applied Biosystem] dan disentrifugasi 3000 rpm selama 5 menit supaya tidak ada gelembung udara dan cairan menempel di dinding *well*. Setelah itu, *plate* dimasukkan ke dalam mesin Real Time Fast PCR

7500 dan proses RT-qPCR dijalankan dengan kondisi proses RT-qPCR seperti pada tabel II.3.

Tabel II.3. Kondisi RT-qPCR untuk menghitung ekspresi gen *Hsp90*, *ATP1A1*, dan *GADPH* (Deb dkk. 2013 modifikasi Rajoriya dkk. 2014)

Tahapan RT-qPCR	Suhu (°C)	Waktu	Keterangan
<i>Holding stage</i>	94	5 menit	
<i>Cycling Stage</i>	94	15 detik	40 siklus
	60	1 menit	
<i>Melt Curve Stage</i>	95	1 menit	kontinu
	65	30 detik	
	95	30 detik	
	60	15 detik	

Hasil ekspresi gen sudah ditampilkan secara otomatis oleh perangkat lunak 7500 Software v.2.0.6. Melalui hasil data Real Time PCR, akan didapat nilai *baseline*, *threshold*, dan nilai *Ct* (*Cycle threshold*). Nilai *Ct* digunakan dalam analisis 4 jenis data (Livak & Schmittgen 2001), yaitu sebagai berikut:

- $\Delta Ct_{A,Sore} = Ct_{A,Sore} - Ct_{GADPH,Sore}$ merupakan cara menghitung ekspresi gen A pada sore hari yang dijadikan sebagai sampel perlakuan.
 - $\Delta Ct_{A,Pagi} = Ct_{A,Pagi} - Ct_{GADPH,Pagi}$ merupakan cara menghitung ekspresi gen A pada pagi hari yang dijadikan sebagai sampel kontrol.
 - $\Delta \Delta Ct_A = \Delta Ct_{A,sore} - \Delta Ct_{A, pagi}$ merupakan cara membandingkan perbedaan ekspresi gen antara pagi dan sore hari.
 - Ekspresi gen = $2^{-(\Delta \Delta Ct_A)}$ merupakan cara menghitung perubahan *fold* pada gen.
5. Analisis data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS v.22. Data hasil isolasi RNA dan kuantitatif transkripsi balik dianalisis secara deskriptif untuk mendapatkan rerata (*mean*) dan standar deviasi di masing-masing lokasi penelitian. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, kesimpulan diambil dengan menggunakan uji Anova One Way. Apabila tidak terdistribusi normal, kesimpulan diambil dengan menggunakan uji Kruskal Wallis. Nilai kepercayaan yang digunakan dalam uji statistik ini adalah 95 %, sehingga pengambilan kesimpulan terhadap perbedaan nyata konsentrasi RNA dan ekspresi gen termoregulator pada masing-masing lokasi penelitian bila nilai *p* kurang dari 0,05.

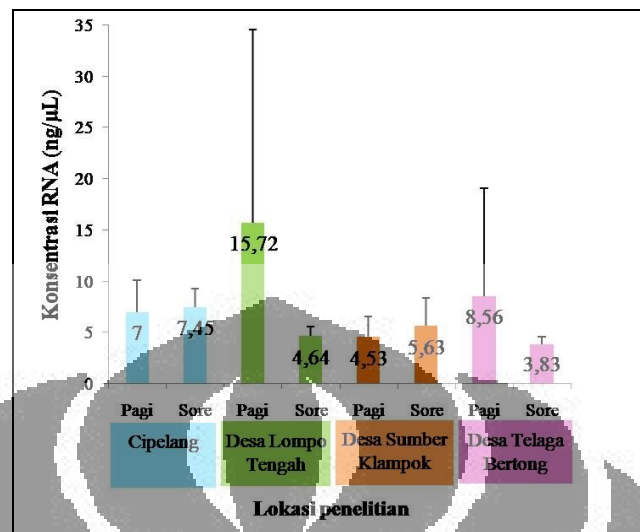
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. *Ribonucleic Acid (RNA)*

Pada penelitian ini, total RNA diisolasi dari darah vena jugularis sapi Bali. Darah dipakai untuk isolasi RNA karena darah berperan untuk membawa beban panas dari organ vital menuju pembuluh darah tepi (Finch 1986, Preez 2000). Isolasi total RNA dalam penelitian ini menggunakan metode Chomcynski dan Sacchi (2006) yang mempunyai prinsip pemisahan RNA dari DNA dan protein dengan cara melarutkannya dalam larutan bersifat asam yang mengandung guanidium tiosianat (GTC), sodium asetat, fenol dan kloroform disertai pemisahan dengan cara sentrifugasi. GTC merupakan pendenaturasi yang efektif untuk mendenaturasi protein dan DNA. Kemurnian RNA menjadi faktor penting dalam keberhasilan proses transkripsi balik PCR. Nilai kemurnian RNA yang diperoleh dari hasil rasio antara absorbansi 260 nm dan absorbansi 280 nm sebesar 1,8 – 2 menandakan bahwa RNA yang diisolasi bebas kontaminasi dari protein dan fenol (Chomcynski & Sacchi 2006).

Gambar II.3 menampilkan rerata konsentrasi RNA di empat lokasi penelitian. Sementara, nilai absorbansi dari RNA, yaitu sekitar 1,8 – 2 dapat dilihat pada lampiran II.1. Berdasarkan analisis deskriptif, konsentrasi RNA sapi Bali di Cipelang terdistribusi normal tetapi tiga lokasi lainnya tidak terdistribusi normal ($p=0$) yang dapat dilihat pada lampiran II.2 dan lampiran II.3. Konsentrasi RNA yang diperoleh tidak homogen ($p=0,003$) sehingga pengambilan kesimpulan menggunakan uji Kruskal-Wallis. Uji Kruskal Wallis menyatakan ada perbedaan yang nyata ($p=0$) untuk konsentrasi RNA di empat lokasi penelitian yang dapat dilihat pada lampiran II.4. Nilai konsentrasi RNA yang diisolasi dari sampel darah di pagi hari berkisar antara 4,53 – 15,72 ng/ μ L, sedangkan konsentrasi RNA dari sampel darah di sore hari berkisar antara 4,02 – 7,45 ng/ μ L. Konsentrasi mRNA pada lokasi Cipelang dan Desa Sumber Klampok tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara pagi dan sore hari ($p=0,2$), sedangkan pada Desa

Lompo Tengah Kabupaten Barru dan Desa Telaga Bertong menunjukkan perbedaan yang nyata ($p=0$) dan variasi yang tinggi.



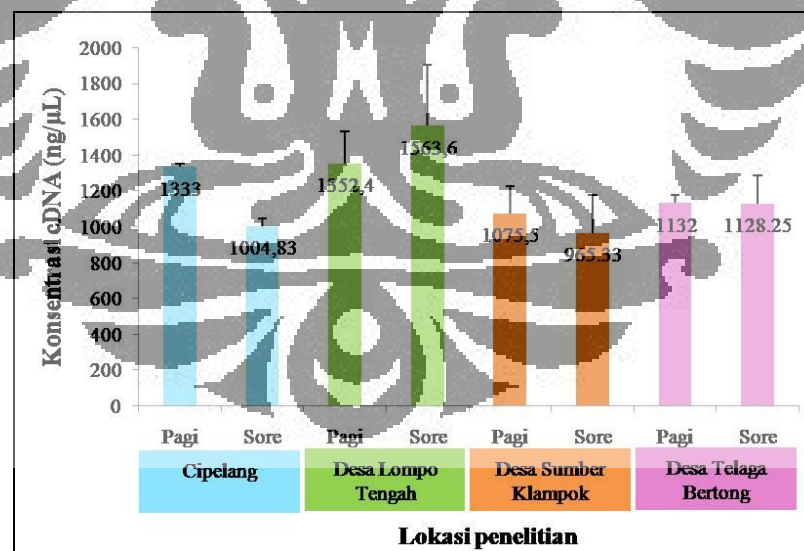
Gambar II.3. Konsentrasi RNA pada sapi Bali di Cipelang, Desa Lompo Tengah, Desa Sumber Klampok dan Desa Telaga Bertong.

Gen merupakan suatu unit informasi yang terkandung di dalam untai basa nukleotida mRNA (*messenger Ribonucleic Acid*). Peran mRNA adalah membawa pesan dari DNA, melalui proses transkripsi untuk diekspresikan menjadi polipeptida atau protein. Kemelimpahan mRNA berada di inti sel dan sitoplasma tetapi kuantitasnya hanya 3 % dari total RNA, sehingga menjadi kendala dalam mempelajari isolasi mRNA untuk ekspresi gen secara *In vitro* (Lewin 1997).

Perbedaan konsentrasi mRNA disebabkan oleh perbedaan laju metabolisme tubuh sebagai respons tubuh terhadap lingkungan habitat. Hoppe (2012) menyatakan bahwa kemelimpahan mRNA berkorelasi positif dengan kemelimpahan protein. Kemelimpahan mRNA dibagi menjadi tiga fase yaitu, fase inisiasi, fase induksi dan fase pemulihan. Pada fase inisiasi, sintesis mRNA lebih tinggi daripada degradasi mRNA. Pada fase induksi, kemelimpahan mRNA meningkat secara eksponensial sebagai respons terhadap cekaman. Ketika tubuh telah merespons terhadap cekaman, sintesis mRNA mulai menurun dan degradasi mRNA mulai terjadi. Ketiga fase ini diatur oleh RNA Polimerase II (Miller dkk. 2011).

B. Complementary Deoxyribonucleid Acid (cDNA)

Proses transkripsi balik dalam penelitian ini dilakukan dengan dua tahap dan diawali oleh sintesis cDNA dengan bantuan enzim *reverse transcriptase* (RTase). Tujuan dari sintesis cDNA ini untuk mendapatkan untai DNA yang mengode polipeptida tertentu. Permasalahan dalam proses transkripsi balik adalah transkripsi yang tidak sempurna hingga ke ujung 5' mRNA. Teknologi transkripsi balik menggunakan enzim yang spesifik selain enzim RTase untuk membentuk *hairpin loop* sepanjang 10–20 bp sehingga proses transkripsi balik menjadi efektif. Untai mRNA, kemudian, didegradasi oleh proses alkali sehingga produk akhir dari transkripsi balik adalah untai tunggal cDNA. Untai tunggal cDNA kemudian diamplifikasi menjadi untai ganda DNA (dsDNA) melalui proses PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dengan bantuan enzim DNA polimerase. Setelah pembentukan dsDNA, sintesis cDNA diakhiri oleh penghancuran untai *hairpin loop* oleh enzim nuklease (McGookin 1985, Lewin 1997). Dalam penelitian ini, proses sintesis cDNA menggunakan enzim RTase yang berasal dari *Moloney Murine Leukimia Virus* (MMLV) RTase yang dimodifikasi dengan enzim RNase H⁺ (Bio-Rad 2000).



Gambar II.4. Konsentrasi cDNA pada sapi Bali di Cipelang, Desa Lompo Tengah, Desa Sumber Klampok, dan Desa Telaga Bertong.

Konsentrasi cDNA dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar II.4. Konsentrasi cDNA pada sampel pagi berkisar antara 1075 – 1352 ng/ μ L, sedangkan pada sore hari berkisar antara 965,33 – 1563,6 ng/ μ L. Kedua kelompok cDNA mempunyai nilai rasio absorbansi 260 nm dan 280 nm berkisar 1,7 – 1,8 yang ditampilkan pada lampiran II.4. Oleh karena konsentrasi cDNA di atas 50 ng/ μ L, cetakan cDNA dapat dipakai dalam tahap PCR (Bio-Rad 2000).

C. *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dan Kuantitatif Transkripsi Balik (RT-qPCR)

PCR dan RT-qPCR merupakan suatu teknik molekular yang berfungsi untuk amplifikasi DNA melalui manipulasi kerja enzim DNA polimerase. Kedua metode ini banyak dimanfaatkan dalam riset, diagnosis klinis dan forensik (Harris 1998). Perbedaan kedua metode PCR ini adalah RT-qPCR dapat menghitung ampikon DNA yang terbentuk saat proses amplifikasi berlangsung, sedangkan ampikon hasil PCR konvensional dapat dihitung setelah proses amplifikasi selesai. Kedua metode ini mempunyai tahap amplifikasi DNA yang sama. Proses amplifikasi dilakukan dengan 3 tahap, yaitu denaturasi, *annealing* dan elongasi. Tahap denaturasi terjadi ketika suhu tinggi membuat untai ganda DNA menjadi lepas dan masing-masing menjadi untai tunggal. Tahap *annealing* merupakan proses penempelan primer pada komplemen sampel DNA. Primer akan menempel pada untai tunggal DNA bila suhu dan waktu penempelan yang tepat. Tahap elongasi merupakan proses pemanjangan komplemen DNA yang dibantu oleh enzim *Taq* polimerase pada suhu tertentu (Harris 1998).

Penelitian ini menggunakan tiga gen, yaitu gen *GADPH*, *ATP1A1*, dan *Hsp90*. Gen *GADPH* merupakan gen internal yang mengatur sintesis enzim yang berperan dalam proses glikolisis. Gen pengatur internal dipakai sebagai gen standar dalam studi ekspresi gen karena gen ini disintesis di berbagai jenis sel yang berinti (Thellin dkk. 1999). Penelitian ini menggunakan *GADPH* sebagai gen pengatur internal karena Kumar dkk. (2015) menyatakan gen ini tetap stabil dan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata saat sapi *B. indicus* diberi cekaman panas secara *in vivo*.

Gen *ATPIA1* merupakan gen yang meregulasi isoform Na^+/K^+ -ATPase alfa-1 yang berperan dalam aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase dalam sel darah merah. Enzim Na^+/K^+ -ATPase berperan menjaga keseimbangan ion di sitoplasma dengan cara mengangkut ion 3Na^+ ke luar dan ion 2K^+ ke dalam sel melewati membran plasma (Kashyap dkk. 2014), dan apoptosis sel (Yu 2003). Dalam keadaan normal, enzim ini membutuhkan 19 – 28 % dari total ATP yang dihasilkan dalam sel. Enzim ini sangat sensitif terhadap cekaman oksidatif (Liu dkk. 2010). Cekaman panas yang disebabkan oleh suhu tinggi merangsang terjadinya cekaman oksidatif. Ini ditandai dengan terjadinya peningkatan aktivitas enzim superoksida dismutase, eritrosit glutasion peroksidase dan thiol intraseluler dalam eritrosit (Bernabucci dkk. 2002). Selain itu, polimorfisme gen *ATPIA1* pada genotip C/A sapi Tharparkar (*B. indicus*) dan sapi persilangannya (Vriandavani) (Kashyap dkk. 2015) dan sapi Holstein (*B. taurus*) (Liu dkk. 2010) memberi pengaruh nyata terhadap nilai HTC yang relatif tinggi.

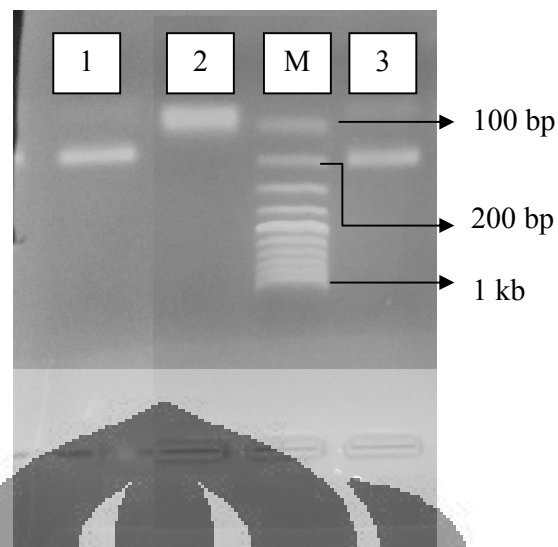
Gen *Hsp90* yang disintesis di inti sel berfungsi mengatur pelipatan protein dan sintesis protein ketika terinduksi oleh cekaman (Feeder & Hoffman 1999). Kuantifikasi ekspresi gen *Hsp* dengan RT-qPCR pada sapi Zebu, sapi Taurin dan hasil persilangannya telah banyak dilakukan di India (Sohdi dkk. 2013, Deb dkk. 2013, Deb dkk. 2014, Mehla dkk. 2014, Rajoriya dkk. 2014, Kumar dkk. 2015). Secara *in vitro*, gen *Hsp* diisolasi dari sel leukosit (PBMC / *peripheral blood mononuclear cell*). Ekspresi gen *Hsp* di PBMC meningkat ketika suhu lingkungan mencapai $35\text{ }^\circ\text{C}$ (Deb dkk. 2014). Perbedaan jenis sapi dan iklim saat musim panas dan dingin di India mempengaruhi perbedaan ekspresi gen *Hsp90* yang signifikan ($p < 0,01$) (Kumar dkk. 2015). Selain perbedaan jenis sapi dan iklim di India, polimorfisme gen *Hsp90* juga mempengaruhi perbedaan ekspresi gen dan daya adaptasi sapi asli Thailand terhadap cekaman panas (Charoensook dkk. 2012). Akan tetapi, perbedaan yang tidak signifikan terjadi gen *Hsp90* pada sperma sapi Tharparkar yang diisolasi saat musim panas dan dingin di India (Rajoriya dkk. 2014) karena suhu dalam testis berada di bawah suhu tubuh (McLean dkk. 1983).

1. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Pada penelitian ini, PCR konvensional dipakai untuk mengetahui keberhasilan amplifikasi gen target yang menggunakan primer spesifik pada kondisi PCR tertentu. Ada tiga gen yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu *GADPH*, *HSP90*, dan *ATP1A1*. Urutan basa nukleotida primer, suhu dan waktu optimum untuk ketiga gen tersebut dapat dilihat pada tabel II.1 dan tabel II.2. Kumar dkk. (2015) menggunakan suhu 94 °C selama 5 menit untuk pradenaturasi, 35 siklus untuk tahap denaturasi yang berlangsung pada suhu 94 °C selama 20 detik, tahap *annealing* yang berlangsung pada suhu 58 °C selama 15 detik dan tahap elongasi yang berlangsung pada suhu 72 °C selama 15 detik, sebagai kondisi optimum untuk amplifikasi PCR. Akan tetapi, kondisi optimum dalam penelitian ini berbeda dari Kumar dkk (2015) karena jenis spesies yang berbeda, sehingga basa nukleotida pada primer gen target juga berbeda.

Konfirmasi hasil PCR dilakukan melalui elektroforesis, yaitu pemisahan pita-pita DNA berdasarkan berat molekulnya dalam sebuah medan listrik dan memvisualisasikan pita DNA tersebut dengan pewarna fluoresensi. Proses elektroforesis berlangsung di dalam gel agarosa yang dipakai dalam penelitian ini. Agarosa menjadi gel yang berpori-pori oleh ikatan hidrogen ketika dalam larutan dingin. Molekul DNA yang bermuatan negatif bergerak melewati pori-pori agarosa karena ada daya tarik listrik ke muatan listrik positif. Tingkat konsentrasi agarosa tergantung ukuran pasangan basa DNA. Penelitian menggunakan agarosa 2 % karena ukuran pasangan basa DNA 0,1 – 3 kb (kilobasa) (Boeffy 1984).

Visualisasi hasil elektroforesis dari PCR gen *ATP1A1*, *Hsp90*, dan *GADPH* dapat dilihat pada gambar II.5. DNA ladder 100 bp berguna sebagai standar pasangan basa untuk gen target. Panjang basa dari masing-masing gen *ATP1A1*, *Hsp90*, dan *GADPH* yang diperoleh dari hasil elektroforesis adalah 200 bp, 101 bp, dan 218 bp. Berdasarkan hasil elektroforesis ini, primer yang digunakan menunjukkan hasil yang spesifik untuk masing-masing gen sehingga dapat digunakan untuk RT-qPCR.



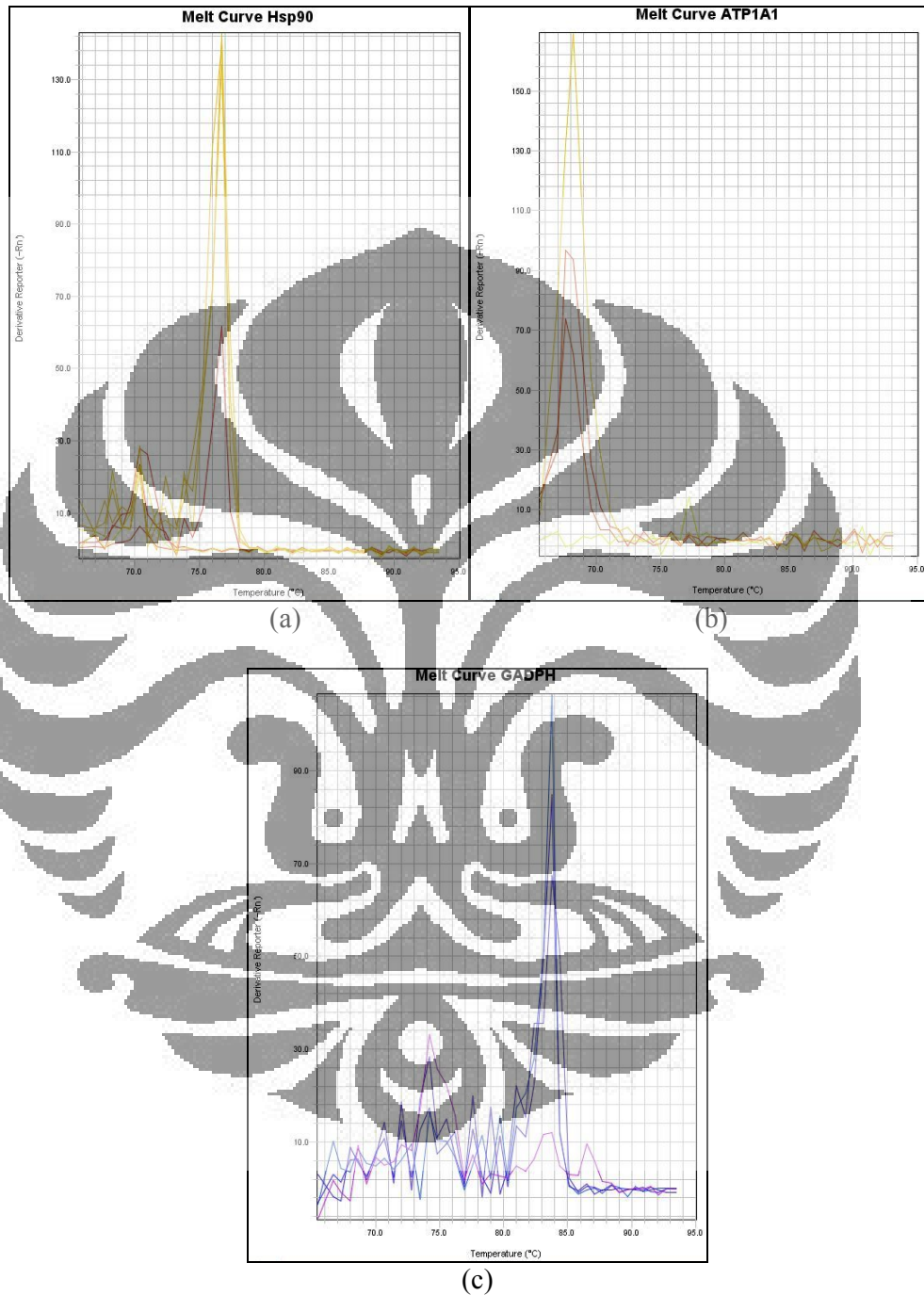
Gambar II.5. Hasil elektroforesis dari PCR cDNA. M. DNA *ladder* 100 bp, 1. Gen *ATP1A1*, 2. Gen *Hsp90*, dan 3. Gen *GADPH*

2. Kuantitatif Transkripsi Balik PCR (RT-qPCR)

Teknologi kuantitatif transkripsi balik PCR (RT-qPCR) yang merupakan teknologi gabungan antara transkripsi balik dengan PCR konvensional dipakai untuk mempelajari ekspresi gen. Prinsip RT-qPCR yaitu mengukur amplicon secara kuantitatif dalam bentuk numerik yang merupakan konversi dari sinyal fluoresensi, akibat penggabungan antara produk PCR yang diamplifikasi dengan pewarna fluoresensi. Pengukuran amplicon tersebut sangat akurat, spesifik dan sensitif, serta dihitung secara langsung meskipun proses RT-qPCR masih berlangsung (Fraga dkk. 2008). Pewarna fluoresensi yang digunakan dalam penelitian ini adalah SYBR *Green* yang hanya berfluoresensi ketika berikatan dengan untaian ganda DNA. Reaksi RT-qPCR yang menggunakan SYBR *Green* sebagai pewarnanya merupakan reaksi *singleplex*, yang berarti amplifikasi satu gen target dengan menggunakan satu pasang primer *forward* dan *reverse* (Bio-Rad 2006).

Spesifisitas primer terhadap sampel DNA dapat diketahui dari kurva disosiasi RT-qPCR. Primer spesifik untuk mengamplifikasi suatu gen target bila tidak terjadi dimer pada primer. Ini ditunjukkan dengan terbentuknya satu pola kurva. Gambar II.6 menampilkan kurva disosiasi dari primer Hsp90, ATP1A1

dan GADPH. Pola kurva yang terbentuk pada proses RT-qPCR dalam penelitian ini adalah sama, sehingga primer dapat digunakan untuk mengamplifikasi gen *Hsp90*, *ATP1A1*, dan *GADPH*.



Gambar II.6 Kurva disosiasi primer (a) *Hsp90*, (b) *ATP1A1* dan (c) *GADPH*

Metode yang dipakai untuk menentukan ekspresi gen dalam penelitian ini adalah komparasi delta Ct (*Cycle threshold*). Komparasi delta Ct ($\Delta\Delta Ct$) membandingkan nilai Ct sampel perlakuan dengan Ct sampel kontrol yang dinormalisasi oleh Ct gen pengatur internal. Ct merupakan siklus PCR dari gen berupa sinyal fluoresensi yang melewati garis ambang yang telah ditetapkan. Keuntungan menggunakan metode komparasi delta Ct adalah mudah digunakan dan datanya dapat digunakan untuk menentukan perubahan lipat pada gen (*gene fold change*) (Schmittgen & Livak 2008).

Penelitian ini mempelajari ekspresi gen termoregulator pada sapi Bali di empat lokasi penelitian. Empat lokasi tersebut adalah Cipelang, Desa Lompo Tengah, Desa Sumber Klampok dan Desa Telaga Bertong. Pengukuran suhu dan kelembaban udara sebagai sumber data untuk menentukan nilai indeks suhu dan kelembaban udara (THI) di empat lokasi dapat dilihat pada tabel I.26. Ekspresi gen termoregulator, *Hsp90* dan *ATP1A1*, di empat lokasi tersebut dapat dilihat pada tabel II.4. Nilai ekspresi gen pada penelitian ini ditentukan dari komparasi delta Ct gen dari sampel darah sore sebagai sampel perlakuan dengan sampel darah pagi sebagai sampel kontrol (Livak & Schmittgen 2001). Berdasarkan analisis statistik, data ekspresi gen *Hsp90* dan *ATP1A1* di empat lokasi tidak terdistribusi normal dan tidak homogen sehingga pengambilan kesimpulan dilakukan dengan uji Kruskal-Wallis. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada ekspresi gen *Hsp90* ($p=0,639$) dan gen *ATP1A1* ($p=0,185$).

Tabel II.4. Rasio ekspresi gen *Hsp90/GADPH* dan *ATP1A1/GADPH* pada sapi Bali dan nilai indeks suhu dan kelembaban (THI) di lokasi penelitian.

Rasio ekspresi gen	Lokasi Penelitian			
	Cipelang, Kab. Bogor	Desa Lompo Tengah, Kab. Barro	Desa Sumber Klampok, Kab. Buleleng	Desa Telaga Bertong, Kab. Sumbawa Barat
<i>Hsp90/GADPH</i>	3,08 ± 2,98	3,59 ± 3,56	2,67 ± 3,59	10,68 ± 14,4
<i>ATP1A1/GADPH</i>	31,10 ± 40,72	3,36 ± 4,08	3,03 ± 5,67	11,49 ± 21,68
THI	70,1 – 70,4	77,1 – 84,6	76,9 – 84	71,5 – 75,3

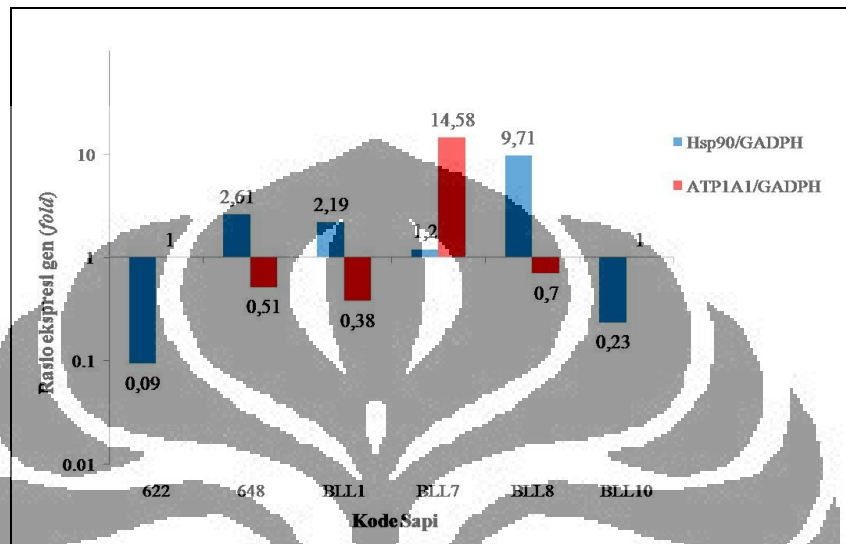
Gen *Hsp90* berguna untuk mengatur sintesis protein HSP90 yang berperan untuk mengikat polipeptida yang tidak tersintesis sempurna sehingga polipeptida

tersebut tidak terdenaturasi ketika ada cekaman panas. Jumlah gen *Hsp90* yang disintesis berkorelasi positif dengan jumlah polipeptida yang diikat (Wegele dkk. 2004). Hansen (2004) menyebutkan sapi yang adaptif terhadap cekaman panas mengekspresikan gen *Hsp90* lebih tinggi daripada sapi yang tidak adaptif. Kumar dkk (2015) menyebutkan sapi *B. indicus* melakukan sintesis gen *Hsp90* lebih tinggi pada musim panas daripada musim dingin dan musim semi. Sintesis gen *Hsp90* lebih tinggi pada sapi *B. indicus* daripada sapi *B. taurus* (Kishore dkk. 2014).

Gen *ATP1A1* yang melimpah pada sel saraf tepi dan sel darah disintesis dalam jumlah yang lebih banyak pada cekaman dingin (Kang dkk. 2015) dan cekaman panas (Liu dkk. 2011). Gen *ATP1A1* ini berguna dalam regulasi enzim Na^+/K^+ -ATPase α -1. Dalam keadaan sel normal, gen ini membutuhkan 19 – 28 % energi ATP yang disintesis oleh sel. Sementara, gen *ATP1A1* membutuhkan energi yang dibutuhkan lebih besar dari kebutuhan normal ketika sel mengalami cekaman (Clarke dkk. 2006). Enzim ini juga berguna untuk menjaga fluiditas membran sel karena cekaman dingin menyebabkan penurunan fluiditas membran dan perubahan komponen asam lemak membran sel, sehingga laju difusi air dan molekul ion menjadi rendah. Selain itu, cekaman panas dapat merangsang terjadinya cekaman oksidatif pada sel, khususnya sel darah yang sensitif terhadap cekaman oksidatif. Radikal bebas yang dihasilkan oleh cekaman oksidatif akan merusak komponen lipid sel (Bernabucci dkk. 2002). Gen *ATP1A1* disintesis pada saat cekaman panas untuk menghasilkan enzim Na^+/K^+ -ATPase α -1 untuk menjaga permeabilitas sel (Kashyap dkk. 2014).

Berdasarkan asal usul, sapi Bali berasal domestikasi Banteng (Mohamad dkk. 2012) yang diduga terjadi pertama kali di Bali (Nozawa 1979). Nilai rasio ekspresi gen *Hsp90* dan *ATP1A1* terhadap gen *GADPH* pada populasi sapi Bali di Desa Sumber Klampok lebih rendah daripada tiga lokasi lainnya (tabel II.4). Hal ini diduga karena sapi Bali di lokasi tersebut berada pada zona termoneutralnya, meskipun nilai THI pada sore hari, yaitu 84, masuk dalam zona *emergency* (Preez 2000). Pada gambar II.7 diketahui bahwa dua dari enam individu sapi Bali di sini menunjukkan terjadi penurunan regulasi gen dan empat individu lainnya menunjukkan peningkatan regulasi ekspresi gen *Hsp90*. Begitu juga pada gen

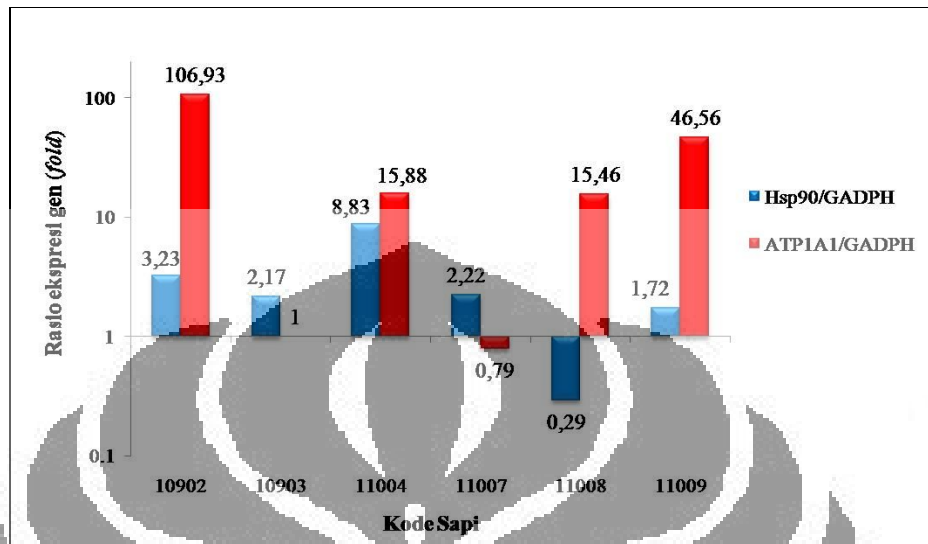
ATP1A1, tiga individu sapi Bali melakukan penurunan regulasi gen, dua gen menunjukkan tidak ada perubahan pelipatan gen, dan satu individu menunjukkan peningkatan regulasi gen. Sintesis gen *Hsp90* dan *ATP1A1* yang lebih sedikit di Desa Sumber Klampok ini menandakan individu sapi Bali lebih peka terhadap cekaman panas.



Gambar II.7. Rasio ekspresi gen *Hsp90/GADPH* dan gen *ATP1A1/GADPH* pada sapi Bali di Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng.

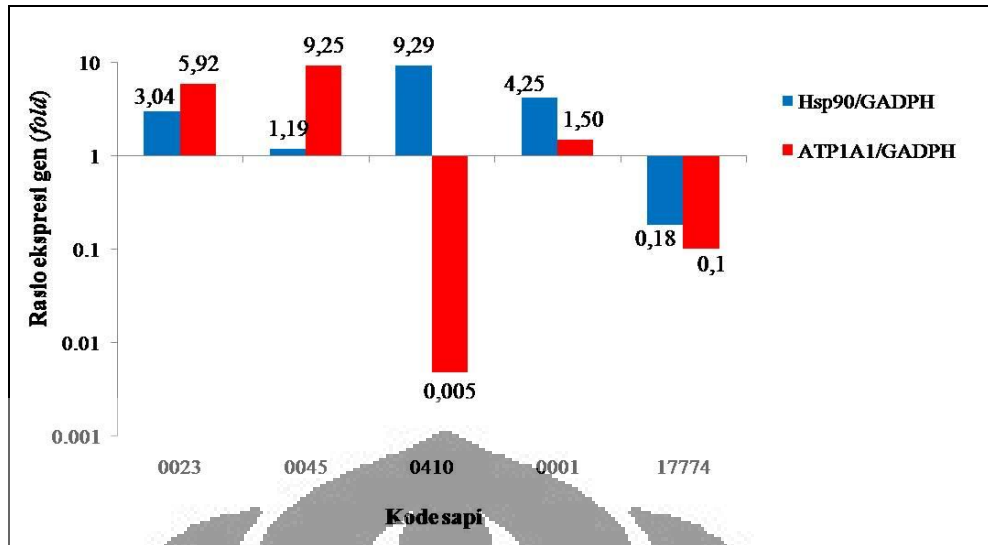
Populasi sapi Bali yang ada di Cipelang menunjukkan lima individu sapi Bali melakukan peningkatan regulasi dan satu ekor melakukan penurunan regulasi baik gen *Hsp90* maupun gen *ATP1A1* (gambar II.8). Nilai rasio ekspresi gen *Hsp90/GADPH* pada populasi sapi di Cipelang berada di bawah populasi sapi di Desa Sumber Klampok. Sapi melakukan peningkatan regulasi gen karena ada cekaman dingin. Bila kondisi lingkungan Bali merupakan zona termonetral sapi Bali, maka kondisi lingkungan di Cipelang berada di bawah zona termonetral sapi Bali. Kondisi cekaman dingin menyebabkan polipeptida tidak tersintesis sempurna sehingga gen *Hsp90* melakukan sintesis protein HSP90 untuk mencegah denaturasi. Kang dkk. (2015) menyatakan bahwa ada korelasi positif antara gen *Hsp70* dengan aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase. Protein enzim tersebut mengalami sintesis tidak sempurna sehingga didenaturasi oleh protein HSP70. Denaturasi protein yang tidak sempurna dapat dicegah oleh protein HSP90 dengan

cara melakukan lipatan protein (*folding protein*). Cekaman dingin juga menyebabkan sintesis gen *ATP1A1* lebih tinggi pada populasi sapi di daerah ini untuk menjaga fluiditas membran tetap normal.

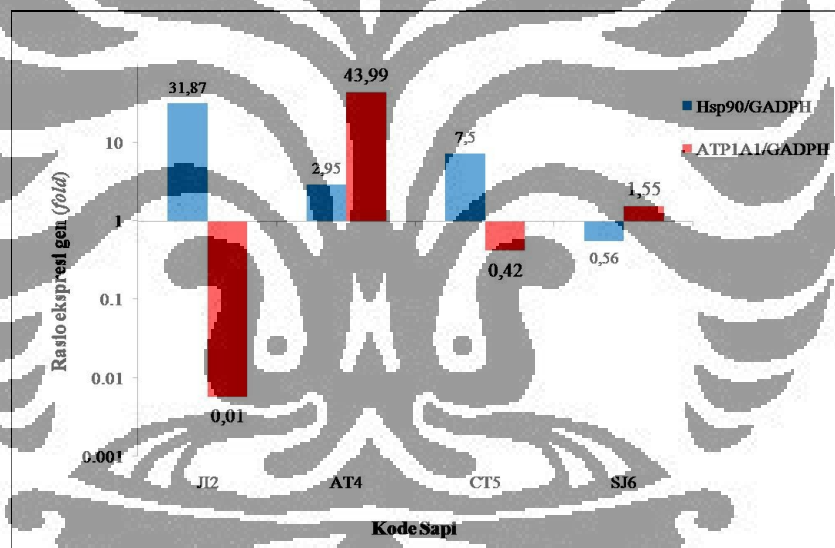


Gambar II.8. Rasio ekspresi gen *Hsp90/GADPH* dan gen *ATP1A1/GADPH* pada sapi Bali di Cipelang Kabupaten Bogor.

Populasi sapi Bali di Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong mempunyai jumlah individu yang melakukan peningkatan regulasi yang lebih banyak daripada individu sapi yang melakukan penurunan regulasi gen *Hsp90* (lihat gambar II.9 dan gambar II.10). Nilai rasio ekspresi gen *Hsp90/GADPH* pada kedua lokasi lebih tinggi daripada populasi sapi Bali di Desa Sumber Klampok karena kondisi lingkungan yang digambarkan melalui nilai THI lebih besar daripada di Desa Sumber Klampok, kecuali nilai THI di Desa Telaga Bertong. Nilai THI Desa Telaga Bertong yang diukur pada saat penelitian lebih rendah daripada Desa Sumber Klampok, tetapi suhu maksimum di Pulau Sumbawa lebih tinggi selama 2006 – 2015 (Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika 2016) yang ditampilkan pada gambar 2. Suhu lingkungan yang tinggi merupakan salah satu penyebab cekaman panas pada sapi, kemudian menyebabkan sintesis protein yang tidak sempurna sehingga dibutuhkan sintesis *Hsp90* yang lebih tinggi daripada ketika kondisi termonetral.



Gambar II.9. Rasio ekspresi gen *Hsp90/GADPH* dan gen *ATP1A1/GADPH* pada sapi Bali di Desa Lompo Tengah Kabupaten Barru.



Gambar II.10. Rasio ekspresi gen *Hsp90/GADPH* dan gen *ATP1A1/GADPH* pada sapi Bali di Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat.

Rasio ekspresi gen *ATP1A1/GADPH* pada populasi sapi Bali di Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong lebih tinggi daripada populasi sapi Bali di Desa Sumber Klampok. Populasi sapi Bali di Desa Lompo Tengah menunjukkan tiga ekor sapi Bali mengalami peningkatan regulasi gen dan dua ekor mengalami penurunan regulasi gen *ATP1A1*. Sementara, populasi sapi Bali di

Desa Telaga Bertong menunjukkan dua ekor sapi Bali mengalami peningkatan dan dua ekor sapi mengalami penurunan regulasi gen *ATP1A1*. Peningkatan regulasi gen ini sebagai upaya untuk menjaga permeabilitas dan volume membran sel karena cekaman panas yang merangsang cekaman oksidatif dapat merusak lapisan lipid pada membran (Bernabucci dkk. 2002). Penurunan regulasi gen *ATP1A1* di kedua daerah tersebut lebih tinggi dari lokasi lain, namun penurunan regulasi gen ini disertai dengan peningkatan regulasi gen *Hsp90*. Peningkatan regulasi *Hsp90* berguna untuk meningkatkan sintesis protein HSP90 untuk mencegah denaturasi protein lainnya termasuk enzim Na^+/K^+ -ATPase (Kang dkk. 2015).

Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan ada tiga jenis regulasi gen yang terjadi berdasarkan nilai perubahan lipatan (*fold*) gen (Schmittgen & Livak 2008). Peningkatan regulasi gen terjadi pada individu sapi Bali yang memiliki nilai perubahan lipatan gen lebih besar dari satu karena nilai delta Ct sampel sore hari lebih kecil daripada pagi hari yang menandakan bahwa transkripsi gen pada sore hari lebih banyak daripada pagi hari. Tidak ada perubahan regulasi gen bila nilai perubahan lipatan gen sama dengan satu karena tidak ada perbedaan antara nilai delta Ct sampel sore hari dan pagi hari. Penurunan regulasi gen terjadi pada individu sapi Bali yang memiliki nilai perubahan lebih kecil dari satu karena transkripsi gen di sore hari lebih sedikit daripada pagi hari. Penurunan regulasi suatu gen terjadi karena gen tersebut melimpah di dalam sel atau adanya sintesis gen lain yang menyebabkan transkripsi gen tersebut menjadi berhenti. Lewin (1997) menyatakan bahwa ekspresi gen *Hsp* disebabkan oleh cekaman panas dan menghentikan transkripsi gen lainnya.

KESIMPULAN

1. Sapi Bali merespons kondisi iklim di Indonesia melalui regulasi gen *Hsp90* dan *ATP1A1*.
2. Rasio ekspresi gen *Hsp90/GADPH* dan *ATP1A1/GADPH* berbeda setiap lokasi penelitian karena dipengaruhi oleh kondisi iklimnya.

SARAN

Penelitian perlu dilakukan berulang secara berkelanjutan supaya dapat diketahui pengaruh kenaikan suhu global bumi terhadap ekspresi gen termoregulator sapi Bali dan perlu dilakukan sekuensing untuk mengetahui genotip sapi yang peka terhadap cekaman panas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Anom Bowolaksono, M.Sc. dan Dr. Muhammad Imron, M.Si. atas bimbingannya selama riset berlangsung. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. Abinawanto, M.S. dan Dr. Ratna Yuniati, M.Si. atas kritik saran yang membangun kesempurnaan laporan penelitian ini. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Embrio Ternak Cipelang, Kepala Dinas Peternakan Kabupaten Barru Sulawesi Selatan, Kepala Dinas Pertanian dan Peternakan Kabupaten Buleleng Bali, dan Kepala Dinas Pertanian Perikanan dan Peternakan Kabupaten Sumbawa Barat NTB atas ijin yang diberikan untuk mengambil data di lapangan, Kepala Pusat Laboratorium Forensik Polri atas ijin yang diberikan untuk melakukan penelitian di Laboratorium Biomolekular, serta DRPM UI atas hibah PITTA UI 2016 yang mendanai penelitian ini.

DAFTAR ACUAN

Applied Biosystem. 2016. Guide Relative Quantification using realtime PCR: 70 hlm. http://www.gu.se/digitalAssets/1125/1125331_ABI_-_Guide_Relative-Quantification_using_realtime_PCR.pdf. 2 Desember 2016, pk. 10.00 WIB.

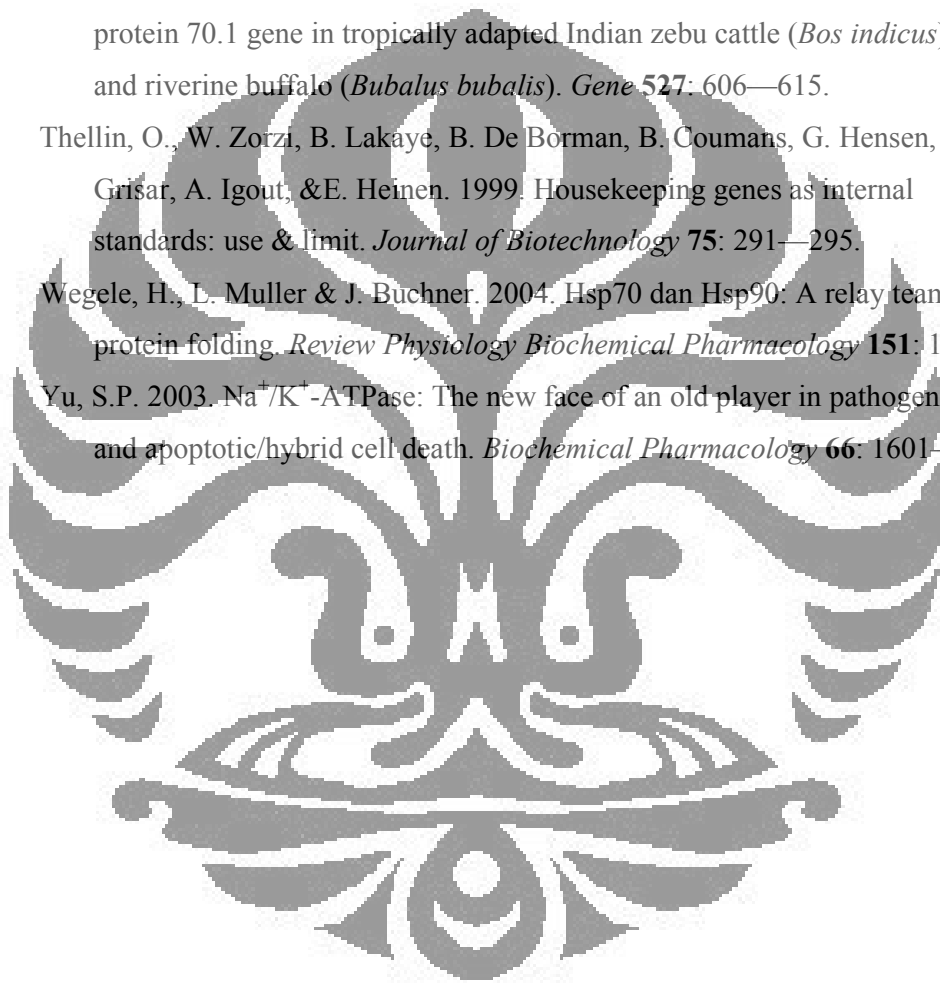
- Bernabucci, U., B. Ronchi, N. Lacetera & A. Nardone. 2002. Marker of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot seasons. *Journal Dairy Science* **85**: 2173—2179.
- Bio-Rad. 2000. IScript synthesis cDNA kit: 2 hlm. <http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/4106228.pdf>. 7 Desember 2016, pk. 11.00 WIB.
- Bio-Rad. 2006. *Real time PCR application guide*. Bio-Rad Laboratories Inc., California: 1—101 hlm.
- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. 2016. Data iklim di Indonesia: 4 hlm. http://dataonline.bmkg.go.id/data_iklim. 22 November 2016, pk. 15.00 WIB.
- Boeffy, S.A. 1984. *Agarosa Gel Electrophoresis of DNA*. Chapter 7th. In: *Methods in Molecular Biology Volume 2 Nucleid Acid*. Ed. by J.M. Walker. The Humana Press Inc., Clifton: 43—50.
- Charoensoek, R., K. Gatphayak, A.R. Sharifi, C. Chaisongkram, B. Brenig & C. Knorr. 2012. Polymorphisms in the bovine HSP90AB1 gene are associated with heat tolerance in Thai indigenous cattle. *Tropical Animal Health Production* **44**(4): 921—928.
- Chomczynski, P. & N. Sacchi, 2006. The single step methods of RNA isolation by guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nature Protocols* **1**(2): 581—585.
- Clarke, R.J., M. Catauro, H.H. Rasmussen & H.J. Apell. 2006. Quantitative calculation of the role of Na⁺/K⁺-ATPase in thermogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta* **1827**: 1205—1212.
- Deb, R., B. Sajjanar, U. Singh, S. Kumar, M. P. Brahmane, R. Singh, G. Sengar & A. Sharma. 2013. Promoter variants at AP2 box region of HSP70.1 affect thermal stress response and milk production traits in Frieswal cross bred cattle. *Gene* **532**: 230—235.
- Deb, R., B. Sajjanar, U. Singh, S. Kumar, R. Singh, G. Sengar & A. Sharma. 2014. Effect of heat stress on the expression profile of HSP90 among Sahiwal (*Bos indicus*) and Frieswal (*Bos indicus x Bos taurus*) breed of cattle: A comparative study. *Gene* **536**: 435—440.

- Feder, M.E. & G.E. Hofmann. 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: Evolutionary and Ecological Physiology. *Annual Review Physiology* **61**: 243—282.
- Finch, V.A. 1986. Body Temperature in beef cattle, It's control and relevance to production in the tropics. *Journal of Animal Science* **62**: 531—542.
- Fraga, D., T. Meulia & S. Fenster. 2008. Real Time PCR: 34 hlm. <http://online-library.wiley.com/doi/10.1002/9780470089941.et1003s00/pdf>. 20 Maret 2016 pk. 22.00 WIB.
- Gaughan, J.B. 2012. *Basic Principles Involved in Adaptation of Livestock to Climate Change*. Chapter 10. In: Sejian, V., S.M.K. Naqvi, T. Ezeji, J. Lakritz, R. Lal. 2012. *Environmental Stress and Amelioration in Livestock Production*. Springer. New York: 245—267.
- Hansen, P.J. 2004. Physiological and cellular adaptation of zebu cattle to thermal stress. *Animal Reproduction Science* **83**: 349—360.
- Haris, E. 1998. *A low-cost approach to PCR: Appropriate Transfer of Biomolecular Techniques*. Oxford University Press, New York: xxii+304 hlm.
- Hoppe, A. 2012. What mRNA abundance can tell us about metabolism. *Metabolites* **2**: 614—631.
- Intergovernmental Panel on Climate Change. 2007. Climate Change 2007: Synthesis Report, Fourth Assessment of the Intergovernmental Panel on Climate Change. 976 hlm. https://www.ipcc.ch/pdf/assessmentreport/ar4/wg2/ar4_wg2_full_re-port.pdf. 30 April 2016, pk. 10 WIB.
- Kang, C.K., Y.C. Chen, C.H. Chang, S.C. Tsai & T.H. Lee. 2015. Seawater-acclimation abates cold effect on Na⁺/K⁺-ATPase activity in gills of the juvenile Milkfish (*Chanos chanos*). *Aquaculture* **446**: 67—73.
- Kashyap, N., P. Kumar, B. Deshmukh, M.S. Dige, M. Sarkar, A. Kumar, A. Chauhan & G. Singh. 2014. Influence of ambient temperature and humidity on *ATPIA1* gene expression in Tharparkar and Vrindavani cattle. *Indian Journal of Animal Research* **48**(6): 541—544.
- Kashyap, N., P. Kumar, B. Deshmukh, S. Bhat, A. Kumar, A. Chauhan, B. Bhushan, G. Singh & D. Sharma. 2015. Association of *ATPIA1* gene

- polymorphism with termotolerance in Tharparkar and Vrindavani cattle. *Veterinary World* **8**(7): 892—897.
- Kishore, A., M. Sodhi, P. Kumari, A.K. Mohanty, D.K Sadana, N. Kapila, K. Khate, U. Shandilya, R.S. Kataria & M. Mukesh. 2014. Peripheral blood mononuclear cells: a potential cellular system to understand differential heat shock response across native cattle (*Bos indicus*), exotic cattle (*Bos taurus*), and riverine buffalo (*Bubalus bubalis*) of India. *Cell Stress and Chaperones* **19**: 613—621.
- Kumar, A., S. Ashraf, T.S. Goud, A. Grewal, S.V. Singh, B.R. Yadav & R.C. Upadhyay. 2015. Expression profiling of major heat shock protein genes during different seasons in cattle (*Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) under tropical climatic condition. *Journal of Thermal Biology* **51**: 55—64.
- Lewin, B. 1997. *GENES*, VI ed. Oxford University Press, Oxford: xviii+1260 hlm.
- Liu, Y.X., X. Zhou, D.Q. Li, Q.W. Cui & G.L. Wang. 2010. Association of ATP1A1 gene polymorphism with heat tolerance traits in dairy cattle. *Genetics and Molecular Research*. **9**(2): 891—896.
- Liu, Y., D. Li, H. Li, X. Zhou & G. Wang. 2011. A novel SNP of the *ATP1A1* gene is associated with heat tolerance traits in dairy cows. *Molecular Biology and Evolution* **28**: 83—88.
- Livak, K. & T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* **25**: 402—408.
- Maibam, U., O.K. Hooda, P.S. Sharma, A.K. Mohanty, S.V. Singh & R.C. Upadhyay. 2017. Expression of HSP70 genes in skin of zebu (Tharparkar) and crossbred (Karan Fries) cattle during different seasons under tropical climatic conditions. *Journal of Thermal Biology* **63**: 58—64.
- McGookin, R. 1985. Synthesis of Double-Stranded Complementary DNA from Poly(A)(+)mRNA. *Methods Molecular Biology* **2**: 169—176.
- McLean, J.A., A.J. Downie, C.D.R. Jones, D.P. Stombaugh & C.A. Glasbey. 1983. Thermal adjustments of steers (*Bos taurus*) to abrupt changes in

- environmental temperature. *Journal Agriculture Science Cambridge* **100**: 305—314.
- Mehla, K., A. Magrota, J. Choudhary, A.K. Singh, A.K. Mohanty, R.C. Upadhyay, S. Srinivasan, P. Gupta, N. Choudhary, B. Antony & F. Khan. 2014. Genome-wide analysis of the heat stress response in Zebu (Sahiwal) cattle. *Gene* **533**: 500—507.
- Miller, C. B. Schwalb, K. Maier, D. Schulz, S. Dumcke, B. Zacher, A. Mayer, J. Sydow, L. Marcinowski, L. Dolken, D.E. Martin, A. Tresch & P. Cramer. 2011. Dynamic transcriptome analysis measures rates of mRNA synthesis and decay in yeast. *Molecular Systems Biology* **7**(458): 1—13.
- Mohamad, K., M. Olsson, G. Andersson, B. Purwantara, H.T.A. van Tol, H. Rodriguez-Martinez, B. Colenbrander & J.A. Lenstra. 2012. The origin of Indonesian cattle and conservation genetics of the Bali cattle breed. *Reproduction in Domestic Animals* **47**: 18—20.
- Nozawa, K. 1979. Phylogenetic studies on the native domestic animals in East and Southeast Asia. *Proceeding Workshop Animal Genetic Resources in Asia and Oceania*. Tsukuba, 3-7 September 1979. Tsukuba: Society for the Advancement of Breeding Researches in Asia and Oceania (SABRAO): 23—43.
- Parsel, D.A. & S. Lindquist. 1993. The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins. *Annual Review of Genetics* **27**: 437—496.
- Preez, J.H.D. 2000. Parameters for determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **67**: 263—271.
- Promega. 2016. *Technical Manual SV Total RNA Isolation kit*. Promega, Corp, USA: 1—28 hlm.
- Rajoriya, J.S., J.K. Prasad, S.K. Ghosh, P. Perumal, A. Kumar, S. Kaushal & S.S. Ramteke. 2014. Studies on effect of different seasons on expression of *Hsp70* and *Hsp90* gene in sperm of Tharparkar bull semen. *Asian Pasific Journal of Reproduction* **3**(3): 192—199.

- Schmittgen, T.D. & K.J. Livak. 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative C_T method. *Nature Protocol* **3**(6): 1011—1018.
- Scholtz, M.M., C. McManus, K.J. Leeuw, H. Louvandini, L. Seixas, C.B.D. Meio, A. Theunissen & F.W.C. Nesser. 2013. The effect of global warming on beef production in developing countries of the southern hemisphere. *Natural Science* **5**(1A): 106—119.
- Sodhi, M., M. Mukesh, A. Kishore, B.P. Mishra, R.S. Kataria & B.K. Joshi. 2013. Novel polymorphisms in UTR and coding region of inducible heat shock protein 70.1 gene in tropically adapted Indian zebu cattle (*Bos indicus*) and riverine buffalo (*Bubalus bubalis*). *Gene* **527**: 606—615.
- Thellin, O., W. Zorzi, B. Lakaye, B. De Borman, B. Coumans, G. Hensen, T. Grisat, A. Igout, & E. Heinen. 1999. Housekeeping genes as internal standards: use & limit. *Journal of Biotechnology* **75**: 291—295.
- Wegele, H., L. Muller & J. Buchner. 2004. Hsp70 dan Hsp90: A relay team for protein folding. *Review Physiology Biochemical Pharmacology* **151**: 1—44.
- Yu, S.P. 2003. Na^+/K^+ -ATPase: The new face of an old player in pathogenesis and apoptotic/hybrid cell death. *Biochemical Pharmacology* **66**: 1601—1609.



Lampiran II.1. Konsentrasi dan kemurnian RNA dari sampel darah sapi di empat lokasi penelitian

Lokasi penelitian	Kode sapi	Waktu Pengambilan data	Konsentrasi RNA (ng/ μ L)	Rasio absorbansi 260/280
Cipelang Kabupaten Bogor, Jawa Barat	10902	Pagi	$6,15 \pm 0,64$	1,82
		Sore	$7,4 \pm 0,17$	1,86
	10903	Pagi	$4,75 \pm 0,78$	1,8
		Sore	$8,55 \pm 0,07$	1,78
	11004	Pagi	$3,40 \pm 0,71$	1,88
		Sore	$10 \pm 0,14$	1,82
	11007	Pagi	$11,9 \pm 0,85$	1,79
		Sore	$7,15 \pm 2,47$	1,8
	11008	Pagi	$6,55 \pm 1,20$	1,92
		Sore	$7,15 \pm 0,21$	1,78
11009	Pagi	$9,25 \pm 3,32$	1,81	
	Sore	$4,45 \pm 0,21$	1,86	
Desa Lompo Tengah, Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan	0023	Pagi	$49,1 \pm 0,14$	1,82
		Sore	$3,35 \pm 0,21$	1,86
	0045	Pagi	$6,75 \pm 0,35$	2,02
		Sore	$5,20 \pm 0,57$	1,85
	0410	Pagi	$11,10 \pm 0,14$	1,85
		Sore	$5,35 \pm 0,78$	1,77
	0001	Pagi	$4,15 \pm 0,21$	1,95
		Sore	$5,3 \pm 0,42$	1,92
17774	Pagi	$7,5 \pm 0,28$	1,98	
	Sore	$4 \pm 0,28$	1,85	
Desa Sumber Klampok, Kabupaten Bulcleng, Bali	622	Pagi	$0,5 \pm 0,14$	1,93
		Sore	$3,35 \pm 0,49$	1,75
	648	Pagi	$7,25 \pm 1,34$	1,78
		Sore	$6,3 \pm 0,28$	1,82
	BLL1	Pagi	$2,4 \pm 1,7$	1,8
		Sore	$3,9 \pm 0,57$	1,82
	BLL7	Pagi	$6,3 \pm 0,85$	1,8
		Sore	$3,7 \pm 0,14$	1,78
	BLL8	Pagi	$1,15 \pm 0,64$	1,85
		Sore	$10,7 \pm 2,4$	1,84
BLL10	Pagi	$1,1 \pm 0,42$	1,98	
	Sore	$5,85 \pm 0,21$	1,8	
Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat, NTB	J12	Pagi	$3,5 \pm 0,71$	1,95
		Sore	$4,4 \pm 1,41$	1,81
	AT4	Pagi	$24,25 \pm 0,35$	1,86
		Sore	$3,05 \pm 0,35$	2,13
	CT5	Pagi	$3,55 \pm 0,35$	2,12
		Sore	$3,35 \pm 0,92$	1,89
	SJ6	Pagi	$2,95 \pm 1,2$	2,12
		Sore	$4,5 \pm 1,27$	1,81

Lampiran II.2. Uji normalitas konsentrasi RNA sapi Bali di empat lokasi dengan uji Shapiro-Wilk

Lokasi		Shapiro-Wilk		
		Statistik	df	Sig.
RNA	Cipelang	,962	24	,488
	Barru	,490	20	,000*
	Buleleng	,914	24	,044*
	Sumbawa	,481	20	,000*

*Perbedaan nyata pada $p < 0,05$

Lampiran II.3. Uji homogenitas konsentrasi RNA sapi Bali di empat lokasi dengan Uji Levene

RNA				
Levene Statistik	df1	df2	Sig.	
5.066	3	84	.003	

Lampiran II.4. Uji Kruskal-Walis konsentrasi RNA sapi Bali di empat lokasi.

Test Statistics ^{a,b}	
	RNA
Chi-Square	18.589
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: LOKASI

Lampiran II.5. Konsentrasi cDNA (ng/ μ L) sapi Bali di empat lokasi penelitian

Lokasi penelitian	Kode sapi	Konsentrasi cDNA (ng/ μ L)	
		Pagi	Sore
Cipelang, Kab. Bogor, Jawa Barat	10902	1350	1023
	10903	1305	994
	10904	1342	990
	11004	1341	965
	11007	1338	974
	11008	1322	1083
	11009	1350	1023
Desa Lompo Tengah, Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan	0023	1260	1138
	0045	1112	1496
	0410	1444	1539
	0001	1592	1562
	17774	1354	2083
Desa Sumber Klampok, Kabupaten Buleleng, Bali	622	1129	1055
	648	1170	1048
	BII1	1036	534
	BII7	1148	1088
	BII8	1182	1024
	BII10	788	1043
Desa Telaga Bertong, Kabupaten Sumbawa Barat, NTB	LM1	1071	1150
	J12	1092	1096
	AT4	1192	1323
	CT5	1096	940
	SJ6	1148	1154

Lampiran II.6. Uji Kruskal-Wallis pada ekspresi gen *Hsp90* dan *ATP1A1* sapi BaliUji Statistik^{a,b}

	<i>Hsp90</i>	<i>ATP1A1</i>
Chi-Square	1.692	4.820
df	3	3
Asymp. Sig.	0,639	0,185

a. Kruskal Wallis Test

b. Variabel grup: Lokasi penelitian

Lampiran II.7. Penetapan rangking daerah penelitian berdasarkan jumlah fold gen *Hsp90* dan *ATP1A1*

Ranking			
	Lokasi	N	Rerata rangking
<i>Hsp90</i>	Cipelang	6	10.83
	Barru	5	11.40
	Buleleng	6	8.83
	Sumbawa	4	14.00
	Total	21	
<i>ATP1A1</i>	Cipelang	6	15.67
	Barru	5	9.00
	Buleleng	6	8.83
	Sumbawa	4	9.75
	Total	21	

DISKUSI PARIPURNA

Penelitian profil fisiologi dan ekspresi gen termoregulator sapi Bali berdasarkan cekaman panas dilakukan pada empat lokasi penelitian, yaitu Cipelang Kabupaten Bogor, Jawa Barat, Desa Lompo Tengah Kabupaten Barru, Sulawesi Selatan, Desa Sumber Klampok Kabupaten Buleleng, Bali dan Desa Telaga Bertong Kabupaten Sumbawa Barat, NTB. Daerah penelitian di Bali dijadikan sebagai daerah kontrol karena sapi Bali yang berasal dari daerah tersebut. Suhu harian maksimum di Bali sekitar 30,4 °C pada tahun 2015 (Badan Meteorologi, Klimatologi dan Geofisika 2015). Daerah penelitian di Cipelang dijadikan sebagai daerah pembanding negatif karena suhu hariannya yang relatif lebih rendah dari daerah kontrol, yaitu sekitar 26,1 °C (Badan Meteorologi, Klimatologi dan Geofisika 2015). Sementara daerah penelitian di Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong dijadikan sebagai daerah pembanding positif karena suhu harian maksimum di kedua daerah tersebut relatif lebih tinggi dari daerah kontrol, yaitu sekitar 31,1 °C dan 32,6 °C (Badan Meteorologi, Klimatologi dan Geofisika 2015).

Data kondisi lingkungan yang diperoleh dalam penelitian telah ditampilkan pada tabel I.26. Suhu harian dan intensitas matahari di Desa Sumber Klampok lebih tinggi dari Cipelang tetapi lebih rendah dari Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong. Sebaliknya, kelembaban udara di Desa Sumber Klampok lebih rendah dari Cipelang tetapi lebih tinggi dari Desa Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong. Berdasarkan nilai indeks suhu dan kelembaban (THI), Desa Sumber Klampok tidak berbeda nyata dengan Desa Lompo Tengah, yaitu 76,9 – 84,2. Menurut Preez (2000), nilai THI pada kisaran tersebut berada pada zona *emergency* yang dapat menimbulkan kematian, khususnya pada sapi eksotik yang tidak peka terhadap panas. Kemampuan sapi Bali hidup pada kondisi lingkungan yang bernilai THI di zona *emergency* menandakan sapi Bali peka terhadap cekaman panas.

Zona termonetral sapi potong yang hidup di daerah tropis berada pada suhu 15 – 25 °C (Mader dkk. 2003). Suhu harian di Desa Sumber Klampok, Desa

Lompo Tengah dan Desa Telaga Bertong berkisar di atas 25 °C, sehingga sapi Bali yang hidup di tiga lokasi tersebut di atas zona termonetral sapi potong. Sementara, sapi Bali di Cipelang hidup pada zona termonetral sapi potong. Termoregulasi tubuh menjadi aktif ketika kondisi lingkungan berada di luar ambang zona termonetralnya, khususnya yang disebabkan oleh suhu lingkungan yang tinggi (Gaughan dkk. 1999). Suhu udara yang tinggi disertai kelembaban yang tinggi menjadi penyebab cekaman panas pada hewan (Kashyap dkk. 2014).

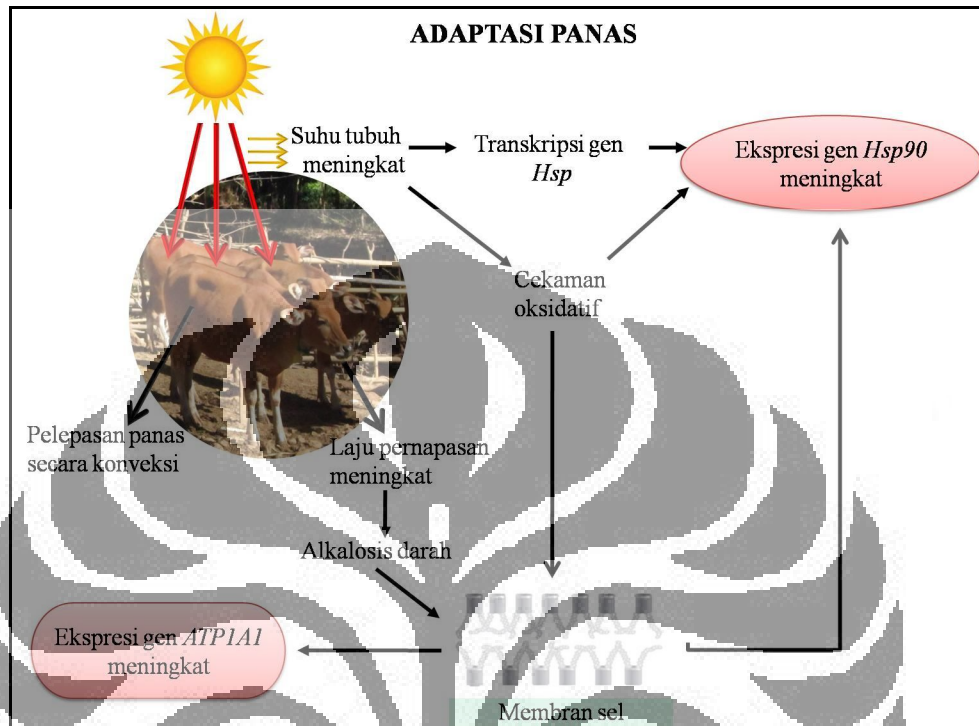
Termoregulasi sapi Bali di Desa Sumber Klampok telah aktif pada pagi hari karena kondisi suhu udara di pagi hari dan sore hari sekitar 25,2 °C dan 31,9 °C. Sapi Bali di Desa Sumber Klampok merespons kenaikan suhu udara di sore hari dengan menaikkan suhu tubuh dan laju pernapasannya. Suhu tubuh dan laju pernapasan sapi Bali di Desa Sumber Klampok pada pagi hari yang lebih tinggi daripada lokasi lain menunjukkan termoregulasi aktif sejak pagi hari. Sapi di Desa Sumber Klampok menjaga keseimbangan panas dengan cara meningkatkan pelepasan panas melalui pernapasan, sehingga beban panas yang tersimpan dalam tubuh menjadi rendah. Beban panas yang rendah ditandai dengan suhu tubuh sapi di sore hari yang lebih rendah dari dua lokasi pembanding positif. Individu sapi yang mempunyai suhu tubuh dan laju pernapasan yang tinggi, yaitu sapi 648 dan sapi B118, melakukan peningkatan ekspresi gen *Hsp90* dan penurunan ekspresi gen *ATP1A1*. Suhu tubuh sapi yang berumur di atas 1 tahun berkisar antara 37,8–39,1 °C (Gaughan dkk. 1999). Suhu tubuh yang mendekati ambang atas suhu tubuh normal menandakan ada beban panas yang relatif tinggi di dalam tubuh. Sistem termoregulasi sapi yang aktif menyebabkan pelepasan panas melalui pernapasan menjadi ditingkatkan.

Peningkatan regulasi gen *Hsp90* menjadi aktif karena ada sinyal dari suhu tubuh yang tinggi (Maloyana dkk. 1999). Beban panas yang tinggi menyebabkan sintesis polipeptida yang tidak sempurna, sehingga gen *Hsp90* meregulasi protein HSP90 untuk melipat polipeptida tersebut agar tidak terdenaturasi (Deb dkk. 2014). Lewin (1997) menyatakan bahwa sintesis gen *Hsp* menonaktifkan gen lainnya. Penurunan regulasi ekspresi gen *ATP1A1* diduga akibat aktivitas gen *Hsp90* yang tinggi. Protein enzim Na^+/K^+ -ATPase yang disintesis oleh gen *ATP1A1* diduga terganggu fungsinya karena beban panas yang tinggi dalam

tubuh. Suhu tubuh yang tinggi merangsang terjadi cekaman oksidatif. Sel darah yang merupakan sumber isolat RNA sensitif terhadap cekaman oksidatif karena cekaman oksidatif dapat melisis lipid penyusun sel (Bernabucci dkk. 2002). Individu sapi Bll7 mempunyai laju pernapasan yang tertinggi di populasinya. Laju pernapasan yang tinggi penting untuk melepaskan panas, tetapi Beatty dkk. (2006) menyatakan bahwa peningkatan respirasi menyebabkan produksi CO_2 yang melimpah. Kemelimpahan CO_2 akan menurunkan jumlah ion HCO_3^- sehingga pH sel darah menjadi basa. Perubahan nilai pH dalam sel darah menurunkan fluiditas membran dan merubah asam jenuh struktur dari penyusun sel (Kang dkk. 2015). Penurunan fluiditas membran menyebabkan aktivitas pompa ion Na^+/K^+ terganggu sehingga peningkatan regulasi gen *ATPIA1* diperlukan untuk mensintesis enzim Na^+/K^+ -ATPase agar struktur dan permeabilitas sel tetap terjaga. Sapi 622 dan Bll10 yang menunjukkan penurunan ekspresi gen *Hsp90* dan tidak ada perubahan ekspresi gen *ATPIA1* diduga karena kemelimpahan dua gen tersebut berada di kondisi normal dan beban panas yang diterimanya lebih rendah dari individu lainnya. Secara keseluruhan, regulasi ekspresi gen *Hsp90* dan *ATPIA1* di Desa Sumber Klampok lebih rendah dari lokasi lain karena kemampuan termoregulasi sapi yang menjaga beban panas dalam tubuh menjadi rendah pada sore hari.

Kondisi lingkungan di Desa Lombo Tengah dan Desa Telaga Bertong mempunyai rerata suhu harian dan intensitas matahari yang lebih tinggi dan kelembaban udara yang lebih rendah dari Desa Sumber Klampok (tabel I.26). Akan tetapi, kecepatan angin di Desa Lombo Tengah, yaitu 5 km/jam, lebih tinggi dari Desa Sumber Klampok dan Desa Telaga Bertong. Kecepatan angin di Desa Lombo Tengah membantu proses pelepasan panas secara konveksi, tetapi beban panas yang tersimpan di dalam tubuh sapi pada sore hari masih lebih tinggi dari Desa Sumber Klampok. Begitu juga dengan beban panas pada populasi sapi Bali di Desa Telaga Bertong yang lebih tinggi dari tiga lokasi lainnya karena pelepasan panas populasi sapi Bali di Desa Telaga Bertong menjadi sulit dilakukan akibat kecepatan angin yang rendah, yaitu 3,9 km/jam. Beban panas yang tinggi pada Desa Lombo Tengah dan Desa Telaga Bertong memberi sinyal untuk dilakukan peningkatan regulasi gen *Hsp90* dan gen *ATPIA1*. Hubungan respons fisiologi

terhadap regulasi gen *Hsp90* dan *ATP1A1* sapi Bali yang beradaptasi pada kondisi lingkungan yang panas seperti di Desa Sumber Klampok, Desa Lombo Tengah dan Desa Telaga Bertong dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hubungan respons fisiologi dan peningkatan regulasi gen *Hsp90* dan *ATP1A1* pada sapi Bali yang beradaptasi pada kondisi lingkungan yang panas.

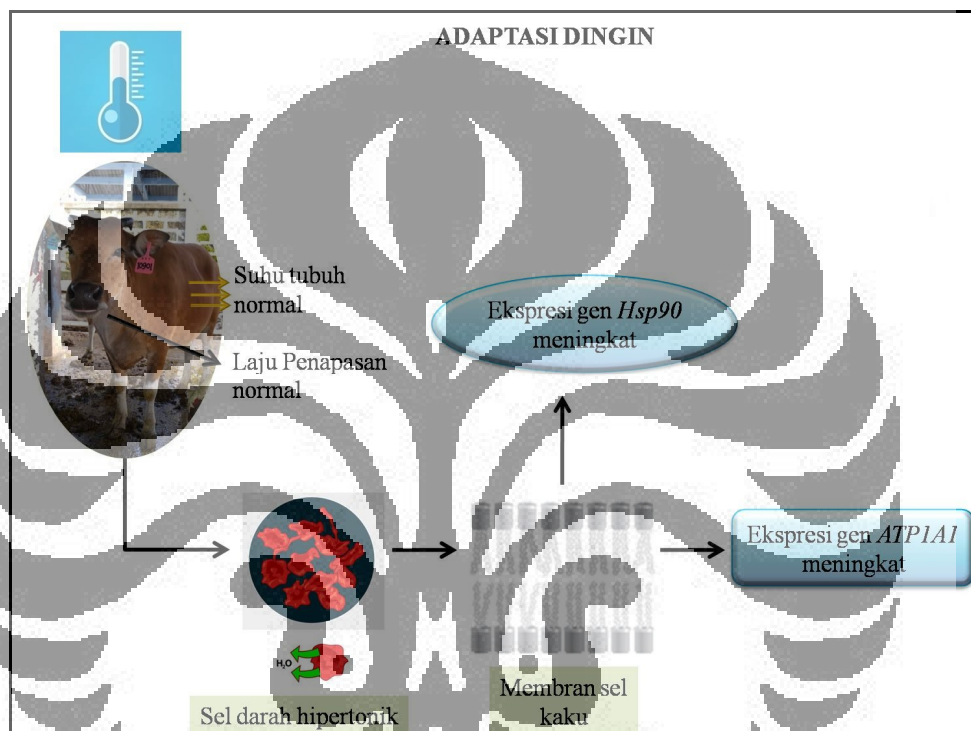
Individu sapi 0410 dan sapi 0001 di Desa Lombo Tengah mempunyai suhu tubuh dan laju pernapasan yang tinggi yang nyata lebih tinggi. Suhu tubuh yang tinggi menandakan beban panas yang tinggi sehingga memberi sinyal untuk dilakukan sintesis gen *Hsp90* agar denaturasi protein tidak terjadi. Sintesis gen *Hsp90* yang dalam jumlah besar menyebabkan kemelimpahan gen *ATP1A1* menjadi rendah. Suhu tubuh sapi 0023 dan 0045 yang relatif lebih rendah disertai laju pernapasan yang lebih tinggi dari individu sapi 17774 menyebabkan sintesis *Hsp90* lebih rendah tetapi sintesis *ATP1A1* lebih tinggi. Hal tersebut diduga akibat perubahan pH darah karena peningkatan laju respirasi. Perubahan pH akan mengganggu fluiditas membran sel dan berpengaruh pada aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase. Ekspresi gen *ATP1A1* yang lebih tinggi pada individu 0023 dan 0045

bertujuan untuk mensintesis enzim Na^+/K^+ -ATPase. Individu sapi 17774 yang mempunyai suhu tubuh relatif lebih tinggi tetapi laju pernapasan relatif lebih rendah menunjukkan penurunan regulasi gen *Hsp90* dan *ATP1A1*. Sapi 17774 diduga mempunyai kemampuan adaptasi yang rendah terhadap cekaman panas. Gaughan dkk. (1999) menyatakan sapi yang peka terhadap cekaman panas mempunyai suhu tubuh yang rendah dan laju pernapasan yang tinggi. Lebih lanjut, Deb dkk. (2014) sapi yang peka terhadap panas mengekspresikan gen *Hsp90* lebih tinggi dari sapi yang tidak peka.

Kondisi suhu lingkungan Desa Telaga Bertong yang lebih tinggi dari tiga lokasi lainnya menyebabkan rerata suhu tubuh populasi pada sore hari menjadi tinggi, yaitu $38,7^\circ\text{C}$. Selain itu, laju pernapasan populasi sapi yang lebih rendah dari populasi sapi di Desa Sumber Klampok menyebabkan beban panas yang tersimpan dalam jumlah besar, sehingga proses transkripsi gen *Hsp90* meningkat, kecuali pada individu sapi SJ6. Kemelimpahan gen *ATP1A1* yang rendah pada individu sapi JI2 dan CT5 diduga karena peningkatan regulasi gen *Hsp90* untuk mengikat popipeptida atau protein yang tidak tersintesis sempurna. Sintesis gen *Hsp* menghambat beberapa sintesis gen yang lain (Lewin 1997) akibat penempelan gen *Hsp90* pada situs awal transkripsi (*Transcription start site*) dari gen lain ketika sel mengalami cekaman dari lingkungannya (Sarwarkar dkk. 2012). Meskipun individu sapi AT4 mempunyai suhu tubuh yang relatif tinggi, peningkatan regulasi *Hsp90* juga disertai peningkatan regulasi gen *ATP1A1*, sehingga sapi AT4 mempunyai daya tahan yang tinggi terhadap kondisi lingkungannya. Sebaliknya, sapi SJ6 mempunyai daya tahan yang rendah terhadap kondisi lingkungan Desa Telaga Bertong karena beban panas yang lebih tinggi tersimpan dalam tubuhnya disertai penurunan regulasi gen *Hsp90* dan ekspresi gen *ATP1A1* yang rendah. Beban panas yang tinggi tersimpan di dalam tubuh sapi SJ6 ditandai dengan suhu tubuh berada di atas suhu tubuh normal tetapi tidak disertai pelepasan panas yang tinggi.

Kondisi lingkungan Cipelang Bogor lebih dingin daripada kondisi lingkungan di Desa Sumber Klampok. Bila daerah penelitian di Bali dijadikan sebagai zona termonetral karena daerah asalnya sapi Bali, maka kondisi daerah penelitian di Cipelang berada di bawah zona termonetral sapi Bali. Nilai indeks

suhu dan kelembaban udara (THI) di Cipelang yang mengacu pada Preez (2000) berada pada zona normal, artinya beban panas yang diterima tidak menciptakan cekaman panas bagi sapi Bali. Beban panas di dalam tubuh sapi digambarkan dengan nilai suhu tubuh yang berada di kisaran normal suhu tubuh sapi, yaitu 37,8 – 39,1 °C (Gaughan dkk. 1999). Selain itu, laju pernapasan populasi sapi di daerah Cipelang yang terendah dari populasi sapi di tiga lokasi lainnya menandakan bahwa beban panas yang dilepas lebih sedikit.



Gambar 4. Hubungan respons fisiologi dan peningkatan regulasi gen *Hsp90* dan *ATP1A1* pada sapi Bali yang beradaptasi pada kondisi lingkungan yang dingin.

Hubungan respons fisiologi dan peningkatan regulasi gen *Hsp90* dan *ATP1A1* pada sapi Bali yang beradaptasi pada kondisi lingkungan yang dingin seperti di Cipelang dapat dilihat pada gambar 4. Walaupun beban panas yang diterima oleh sapi Bali di Cipelang masih dalam kisaran normal, ekspresi gen *ATP1A1* lebih tinggi dari populasi sapi Bali di lokasi lain. Paparan suhu dingin menyebabkan sel mengalami hipotermia, menurunkan fluiditas sel, laju difusi air dan molekul ion (Kang dkk. 2015). Penurunan difusi air dan molekul ion akan

mengganggu volume sel, sehingga regulasi gen *ATP1A1* ditingkatkan untuk mensintesis enzim Na^+/K^+ -ATPase agar struktur dan permeabilitas sel tetap terjaga. Kang dkk. (2015) menyatakan bahwa ada korelasi positif antara gen *Hsp70* dengan aktivitas enzim Na^+/K^+ -ATPase ketika terpapar suhu dingin. Protein enzim tersebut mengalami sintesis tidak sempurna sehingga didenaturasi oleh protein HSP70. Denaturasi protein yang tidak sempurna dapat dicegah oleh protein HSP90 dengan cara melakukan pelipatan protein (*folding protein*). Aktivitas protein HSP70 yang bersamaan dengan protein HSP90 dalam pelipatan protein (Wegele dkk. 2004) menunjukkan bahwa sintesis gen *Hsp90* diperlukan untuk mencegah denaturasi protein enzim Na^+/K^+ -ATPase pada sapi Bali di Cipelang.

Secara umum, hasil penelitian profil fisiologi dan ekspresi gen *Hsp90* dan *ATP1A1* pada sapi Bali di Indonesia sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya pada jenis sapi yang lain, yaitu *Bos indicus* dan *B. taurus*. Kondisi iklim tropis di Indonesia mengaktifkan sistem termoregulasi tubuh sapi. Kenaikan suhu tubuh sapi disertai kenaikan laju pernapasan merupakan cara adaptasi fisiologi sapi Bali terhadap kondisi iklim di Indonesia. Kenaikan suhu tubuh memberi sinyal kepada inti sel untuk melakukan transkripsi gen *Hsp90* (Matoyana dkk. 1999, Kregel 2002) agar protein yang berguna dalam aktivitas seluler tidak terdenaturasi, sehingga viabilitas tetap terjaga (Deb dkk. 2014). Akan tetapi, cekaman panas pada daerah tropis dapat merangsang cekaman oksidatif (Bernabucci dkk. 2002), sehingga ekspresi gen *ATP1A1* lebih rendah pada daerah yang bersuhu lingkungan tinggi (Kashyap dkk. 2014). Ekspresi gen *ATP1A1* lebih tinggi pada daerah yang terpapar dingin karena enzim Na^+/K^+ -ATPase dibutuhkan untuk menjaga fluiditas membran sel yang terganggu ketika sel terpapar suhu dingin (Kang dkk. 2014).

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

1. Cekaman panas mengaktifkan termoregulasi tubuh yang ditandai dengan peningkatan suhu tubuh disertai peningkatan laju pernapasan.
2. Ekspresi gen *Hsp90* dan *ATP1A1* yang rendah pada sapi Bali di Desa Sumber Klampok karena berada pada zona termoneutralnya.
3. Peningkatan regulasi dari ekspresi gen *Hsp90* terjadi pada sapi Bali yang mengalami cekaman panas dan cekaman dingin.
4. Peningkatan regulasi dari ekspresi gen *ATP1A1* terjadi pada sapi Bali yang mengalami cekaman dingin, tetapi penurunan regulasi dari ekspresi gen *ATP1A1* pada sapi Bali yang mengalami cekaman panas.

SARAN

1. Penelitian perlu dilakukan berulang secara berkelanjutan supaya dapat diketahui pengaruh kenaikan suhu global bumi terhadap sapi Bali dan sapi lokal lainnya di Indonesia.
2. Penelitian ekspresi gen termoregulator lainnya perlu dilakukan untuk mengetahui regulasi termoregulator pada sapi asli Indonesia.
3. Penelitian gen termoregulator perlu dilanjutkan ke arah sekuensing yang berbasis data genome sehingga diketahui genotip sapi yang peka terhadap panas, khususnya sapi Bali.

DAFTAR ACUAN

- Beatty, D.T., A. Bernes, E. Taylor, D. Pethick, M. McCarthy & S.K. Maloney. 2006. Physiological response of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle to prolonged, continuous heat and humidity. *Journal Animal Science* **84**: 972—985.
- Bernabucci, U., B. Ronchi, N. Lacetera & A. Nardone. 2002. Marker of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot seasons. *Journal Dairy Science* **85**: 2173—2179.
- Bionaz, M. & J.J. Loo. 2007. Identification of reference genes for quantitative real-time PCR in the bovine mammary gland during the lactation cycle. *Physiology Genomics* **29**: 312—319.
- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. 2015. *Prakiraan musim kemarau 2015 di Indonesia*. Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika Indonesia, Jakarta: vii+94 hlm.
- Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika. 2016. Data iklim di Indonesia: 4 hlm. http://dataonline.bmkg.go.id/data_iklim. 22 November 2016, pk. 15.00 WIB.
- Clarke, R.J., M. Catauro, H.H. Rasmussen & H.J. Apell. 2006. Quantitative calculation of the role of Na⁺/K⁺-ATPase in thermogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta* **1827**: 1205—1212.
- Collier, R.J. & J.L. Collier. 2011. *Environmental Physiology of Livestock*. John Wiley & Sons, New Delhi: xi+358 hlm.
- Cooper, G.M. & R.E. Hausman. 2013. *The cell: A molecular approach*, 6th ed. Sinauer Associates, Inc., Massachusetts: xxv+832 hlm.
- Deb, R., B. Sajjanar, U. Singh, S. Kumar, M.P. Brahmane, R. Singh, G. Sengar & A. Sharma. 2013. Promoter variants at AP2 box region of *HSP70.1* affect thermal stress response and milk production traits in Frieswal cross bred cattle. *Gene* **532**: 230—235.
- Deb, R., B. Sajjanar, U. Singh, S. Kumar, R. Singh, G. Sengar & A. Sharma. 2014. Effect of heat stress on the expression profile of *HSP90* among Sahiwal

- (*Bos indicus*) and Frieswal (*Bos indicus* x *Bos taurus*) breed of cattle: A comparative study. *Gene* **536**: 435—440.
- Finch, V.A. 1986. Body Temperature in beef cattle it's control and relevance to production in the tropics. *Journal Animal Science* **62**: 531—542.
- Gaughan, J.B., T.L. Mader, S.M. Holt, M.J. Josey & K.J. Rowan. 1999. Heat tolerance of Boran and Tuli crossbred steers. *Journal Animal Science* **77**: 2398—2405.
- Gaughan, J.B., S.L. Bonner, I. Loxton & T.L. Mader. 2013. Effect of chronic heat stress on plasma concentration of secreted heat shock protein 70 in growing feedlot cattle. *Journal Animal Science* **91**: 120—129.
- Hahn, G.L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *Journal Animal Science* **77**: 10—20.
- Hansen, P.J. 2004. Physiological and cellular adaptation of zebu cattle to thermal stress. *Animal Reproduction Science* **83**: 349—360.
- Hardjosubroto, W. & J.M. Astuti. 1993. *Buku Pintar Peternakan*. PT Gramedia Widiasarana Indonesia, Jakarta: x+178 hlm.
- Intergovernmental Panel on Climate Change. 2007. Climate Change 2007: Synthesis Report, Fourth Assessment of the Intergovernmental Panel on Climate Change. 976 hlm.
https://www.ipcc.ch/pdf/assessmentreport/ar4/wg2/ar4_wg2_full_re-port.pdf.
 30 April 2016, pk. 10 WIB.
- Kang, C.K., Y.C. Chen, C.H. Chang, S.C. Tsai & T.H. Lee. 2015. Seawater-acclimation abates cold effect on Na⁺/K⁺-ATPase activity in gills of the juvenile Milkfish (*Chanos chanos*). *Aquaculture* **446**: 67—73.
- Kashyap, N., P. Kumar, B. Deshmukh, M.S. Dige, M. Sarkar, A. Kumar, A. Chauhan & G. Singh. 2014. Influence of ambient temperature and humidity on *ATP1A1* gene expression in Tharparkar and Vrindavani cattle. *Indian Journal of Animal Research* **48**(6): 541—544.
- Kashyap, N., P. Kumar, B. Deshmukh, S. Bhat, A. Kumar, A. Chauhan, B. Bhushan, G. Singh & D. Sharma. 2015. Association of *ATP1A1* gene polymorphism with termotolerance in Tharparkar and Vrindavani cattle. *Veterinary World* **8**(7): 892—897.

- Kregel, K.C. 2002. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *Journal Applied Physiology* **92**: 2177—2186.
- Kumar, A., S. Ashraf, T.S. Goud, A. Grewal, S.V. Singh, B.R. Yadav & R.C. Upadhyay. 2015. Expression profiling of major heat shock protein genes during different seasons in cattle (*Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) under tropical climatic condition. *Journal of Thermal Biology* **51**: 55—64.
- Lewin, B. 1997. *GENES*, VI ed. Oxford University Press, Oxford: xviii+1260 hlm.
- Liu, Y.X., X. Zhou, D.Q. Li, Q.W. Cui & G.L. Wang. 2010. Association of ATP1A1 gene polymorphism with heat tolerance traits in dairy cattle. *Genetics and Molecular Research* **9**(2): 891—896.
- Liu, Y., D. Li, H. Li, X. Zhou & G. Wang. 2011. A novel SNP of the *ATP1A1* gene is associated with heat tolerance traits in dairy cows. *Molecular Biology and Reproduction* **38**: 83—88.
- Mader, T.L., M.S. Davis & T. Brown-Brandl. 2003. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *Journal Animal Science* **84**: 712—719.
- Maibam, U., O.K. Hooda, P.S. Sharma, A.K. Mohanty, S.V. Singh & R.C. Upadhyay. 2017. Expression of HSP70 genes in skin of zebu (Tharparkar) and crossbred (Karan Fries) cattle during different seasons under tropical climatic conditions. *Journal of Thermal Biology* **63**: 58—64.
- Maloyana, A. A. Palmon & M. Horowitz. 1999. Heat acclimation increases the basal *Hsp72* level and alters its production dynamics during heat stress. *American Journal of Physiology* **276**(5): 1506—1515.
- Mehla, K., A. Magrota, J. Choudhary, A.K. Singh, A.K. Mohanty, R.C. Upadhyay, S. Srinivasan, P. Gupta, N. Choudhary, B. Antony & F. Khan. 2014. Genome-wide analysis of the heat stress response in Zebu (Sahiwal) cattle. *Gene* **533**: 500—507.
- Mohamad, K., M. Olsson, G. Andersson, B. Purwantara, H.T.A. van Tol, H. Rodriguez-Martinez, B. Colenbrander & J.A. Lenstra. 2012. The origin of

- Indonesian cattle and conservation genetics of the Bali cattle breed. *Reproduction in Domestic Animals* **47**: 18—20.
- Nozawa, K. 1979. Phylogenetic studies on the native domestic animals in East and Southeast Asia. *Proceeding Workshop Animal Genetic Resources in Asia and Oceania*. Tsukuba, 3-7 September 1979. Tsukuba: Society for the Advancement of Breeding Researches in Asia and Oceania (SABRAO): 23—43.
- Pane, I. 1993. *Pemuliaan Ternak Sapi*. Cetakan ke-2. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Preez, J.H.D. 2000. Parameters for determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **67**: 263—271.
- Purwantara, B., R.R. Noor, G. Anderson & H.R. Martinez. 2012. Banteng and Bali Cattle in Indonesia: Status and Forecasts. *Reproduction Domestic Animal* **47**: 2—6.
- Rafi'i, S. 1995. *Meteorologi dan Klimatologi*. Angkasa, Bandung: xvii+346 hlm.
- Rajoriya, J.S., J.K. Prasad, S.K. Ghosh, P. Perumal, A. Kumar, S. Kaushal & S.S. Ramteke. 2014. Studies on effect of different seasons on expression of *Hsp70* and *Hsp90* gene in sperm of Tharparkar bull semen. *Asian Pacific Journal of Reproduction* **3**(3): 192—199.
- Saiya, H.V. 2012. Aklimatisasi Sapi PO dan Sapi Bali merespon perubahan cuaca di Kabupaten Merauke Papua [Tesis]. Institut Pertanian Bogor, Bogor: xii+59 hlm.
- Sawarkar, R., C. Sievers & R. Paro. 2012. Hsp90 globally targets paused RNA polymerase to regulate gene expression in response to environmental stimuli. *Cell* **149**: 807—818.
- Schmittgen, T.D. & K.J. Livak. 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative C_T method. *Nature Protocol* **3**(6): 1011—1018.
- Scholtz, M.M., C. McManus, K.J. Leeuw, H. Louvandini, L. Seixas, C.B.D. Meio, A. Theunissen & F.W.C. Nesser. 2013. The effect of global warming on beef production in developing countries of the southern hemisphere. *Natural Science* **5**(1A): 106—119.

- Sodhi, M., M. Mukesh, A. Kishore, B.P. Mishra, R.S. Kataria & B.K. Joshi. 2013. Novel polymorphisms in UTR and coding region of inducible heat shock protein 70.1 gene in tropically adapted Indian zebu cattle (*Bos indicus*) and riverine buffalo (*Bubalus bubalis*). *Gene* **527**: 606—615.
- Steibel, J.P., R. Poletto, P.M. Coussens & G.J.M. Rosa. 2009. A powerful and flexible linear mixed model framework for the analysis of relative quantification RT-PCR data. *Genomics* **94**: 146—152.
- Wegele, H., L. Muller & J. Buchner. 2004. Hsp70 dan Hsp90: A relay team for protein folding. *Review Physiology Biochemical Pharmacology* **151**: 1—44.

