



**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**

Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5992785, 5993016 Fax (031) 5993015  
Laman: <http://www.fkh.unair.ac.id> ; e-mail: [info@fkh.unair.ac.id](mailto:info@fkh.unair.ac.id)

**SALINAN**

**KEPUTUSAN**  
**DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**NOMOR 39/UN3.1.6/2023**

Tentang

**PENGANGKATAN DOSEN PENGUJI UJIAN TERBUKA DISERTASI MAHASISWA**  
**PROGRAM STUDI S3 SAINS VETERINER**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN**  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**JANUARI 2023**

**DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA,**

- Menimbang : a. Bahwa dalam rangka melaksanakan Tri Dharma Perguruan Tinggi dipandang perlu mengangkat Dosen Penguji Ujian Terbuka Disertasi Mahasiswa Program Studi S3 Sains Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Januari 2023;
- b. Sehubungan dengan butir (a) tersebut di atas, dipandang perlu menerbitkan Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Mengingat : 1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 4301);
2. Undang-Undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5336);
3. Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954 tentang Penetapan Universitas Airlangga di Surabaya sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1955 tentang Pengubahan Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954 (Lembaran Negara RI Tahun 1954 Nomor 99, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 695 juncto Lembaran Negara RI Tahun 1955 Nomor 748);
4. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 16, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5500);
5. Peraturan Pemerintah Nomor 30 Tahun 2014 tentang Statuta Universitas Airlangga. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 100, Tambahan Negara Nomor 5535);
6. Peraturan Pemerintah Nomor 8 Tahun 2020 tentang Perubahan Atas Peraturan Pemerintah Nomor 26 Tahun 2015 tentang Bentuk dan Mekanisme Pendanaan Perguruan Tinggi Negeri Badan Hukum (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2020 Nomor 28, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 6461);
7. Surat Keputusan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia Nomor: 055/O/1972 tanggal 25 Maret 1972 tentang Pendirian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga;
8. Keputusan Menteri Pendidikan Nasional Republik Indonesia Nomor:232/U/2000 tentang Pedoman Penyusunan Kurikulum Pendidikan Tinggi dan Penilaian Hasil Belajar Mahasiswa;
9. Peraturan Rektor Nomor 39 Tahun 2017 tentang Perubahan atas Peraturan Rektor Nomor 42 Tahun 2016 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Airlangga;



ASEAN  
University  
Network



10. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor : 2158/H3/KR/2011 tanggal 7 Nopember 2011 tentang Izin Penyelenggaraan Program Studi Sains Veteriner Jenjang S-3 Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga;
11. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor : 762/UN3/2020 tanggal 30 September 2020 tentang Pengangkatan Dekan Fakultas dan Direktur Sekolah Pascasarjana Periode 2020-2025 di lingkungan Universitas Airlangga.

Memperhatikan : Surat keputusan Rektor Nomor 698/UN3/2019 tentang Perpanjangan Izin Penyelenggaraan Program Studi di Lingkungan Universitas Airlangga,

**MEMUTUSKAN:**

Menetapkan : **KEPUTUSAN DEKAN TENTANG PENGANGKATAN DOSEN PENGUJI UJIAN TERBUKA DISERTASI MAHASISWA PROGRAM STUDI S3 SAINS VETERINER FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA JANUARI 2023**

**PERTAMA** : Mengangkat para Dosen Penguji Ujian Terbuka Mahasiswa Program Studi S3 Sains Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Bulan Januari 2023 seperti tercantum dalam daftar lampiran Keputusan ini ;

**KEDUA** : Dosen Penguji Ujian Terbuka Mahasiswa Program Studi S3 Sains Veteriner dalam melaksanakan tugasnya berpedoman pada peraturan dan ketentuan yang berlaku dan bertanggung jawabkan tugasnya kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga;

**KETIGA** : Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Surabaya  
Pada tanggal 2 Januari 2023

DEKAN,

ttd.

**MIRNI LAMID**  
NIP. 196201161992032001

Salinan disampaikan kepada Yth. :

1. Rektor Universitas Airlangga
2. Yang bersangkutan

Salinan sesuai dengan aslinya  
Kepala Bagian Tata Usaha

  
Hendro Gunanto, SE, M. PSDM  
NIP. 198002051000031002

**Lampiran** : Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Nomor 39/UN3.1.6/2023 tanggal 1 Januari 2023 tentang Dosen Penguji Ujian Terbuka Disertasi Mahasiswa Program Studi S3 Sains Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Bulan Januari 2023.

**DOSEN PENGUJI UJIAN TERBUKA DISERTASI MAHASISWA  
PROGRAM STUDI S3 SAINS VETERINER  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
JANUARI 2023**

No.	Nama/NIM	Hari/Tanggal	Judul	Penguji
1.	Sri Utami / 061817117302	Selasa / 24 Januari 2023	DNA Barcode ( <i>Gen Cytochrome C Oxidase I / COI</i> ) Untuk Mendeteksi Keragaman Genetik Sapi Persilangan	Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., MP (Ketua) Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., MS (Promotor) Ir. Ali Jamil, MP., Ph. D (Ko-Promotor) Dr. Syahdar Baba, S. Pt., M. Si (Anggota) Dr. Rimayanti, drh., M. Kes (Anggota) Prof. Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M. Si (Anggota) Dr. Epy Muhammad Luqman, drh., M. Si (Anggota) Dr. Yeni Dhamayanti, drh., M. Kes (Anggota) Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP (Anggota)
2.	Arif Nur Muhammad Ansori / 061817117309	Kamis / 26 Januari 2023	Penyiapan Protein Spike Dari SARS-CoV-2 Isolat Indonesia Sebagai Kandidat Antigen Vaksin Imunoterapi Berbasis Sel Dendritik Dalam Program Pengendalian <i>Coronavirus Disease 2019 (Covid-19)</i>	Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP (Ketua) Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., MS (Promotor) Dr. Kuncoro Puguh Santoso, drh., M. Kes (Ko-Promotor) Prof. Dr. dr. Terawan Agus Putranto, Sp. Rad (Anggota) Prof. Dr. Widjiati, drh., M. Si (Anggota) Dr. Erma Safitri, drh., M. Si (Anggota) Dr. Boedi Setiawan, drh., MP (Anggota) Dr. Rochmah Kurnijasanti, drh., M. Si (Anggota) Prof. Dr. Rr. Sri Pantja Madyawati, drh., M. Si (Anggota)


Ditetapkan di Surabaya  
Pada tanggal 2 Januari 2023

DEKAN,

ttd.

**MIRNI LAMID**  
NIP. 196201161992032001

Salinan sesuai dengan aslinya  
Kepala Bagian Tata Usaha



Hendro Gunarto, SE, M. PSDM  
NIP. 198002052000031002

**DISERTASI**

**DNA BARCODE (*GEN CYTOCHROME OXIDASE I*) UNTUK  
DETEKSI KERAGAMAN GENETIK SAPI PERSILANGAN  
DI SULAWESI SELATAN**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**



**OLEH:**

**SRI UTAMI**  
**NIM. 061817117302**

**PROGRAM DOKTOR  
PROGRAM STUDI SAINS VETERINER  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2023**

**DISERTASI**

**DNA BARCODE (*GEN CYTOCHROME OXIDASE I*) UNTUK  
DETEKSI KERAGAMAN GENETIK SAPI PERSILANGAN  
DI SULAWESI SELATAN**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**



**OLEH:**

**SRI UTAMI**  
**NIM. 061817117302**

**PROGRAM DOKTOR  
PROGRAM STUDI SAINS VETERINER  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2023**

### PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Sri Utami  
NIM : 061817117302  
Program Studi : Sains Veteriner  
Judul Disertasi : DNA Barcode Untuk Deteksi Keragaman Genetik Sapi  
Persilangan di Sulawesi Selatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa

1. Disertasi saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (*plagiarism*) dari karya orang lain.
2. Disertasi ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.
3. Disertasi ini tidak terdapat pendapat yang ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan didalam daftar pustaka.

Demikian, pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.



Surabaya,

Sri Utami

NIM 061817117302

**LEMBAR PENGESAHAN**

Disertasi Ini Telah Disetujui  
Pada Bulan Januari 2023

Oleh :

Promotor



Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., M.S  
NIP. 195803081984031003

Ko-Promotor



Ir. Ali Jamil, M.P., Ph.D.  
NIP. 19508301998031001

Mengetahui,  
Koordinator Program Studi Sains Veteriner



Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, Drh., MP  
NIP. 196208281989032001



## UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan Disertasi dengan judul DNA Barcode Untuk Deteksi Keragaman Genetik Sapi Persilangan Di Sulawesi Selatan.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Mirni Lamid, drh.MP dan Koordinator Program Studi Sains Veteriner Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, Drh, MP atas fasilitas dan dukungan selama menjalani pendidikan di program studi S3 Sains Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Chairul Anwar Nidom, drh.MS selaku Promotor, dan Ir. Ali Jamil, M.P, Ph.D selaku Ko-Promotor atas saran, bimbingan dan dukungannya baik materiil dan spiritual.

Prof. Dr. Mirni Lamid, drh.MP, Prof. Dr.Rr.Sri Pantja Madyawati, drh.M.Si, Prof.Dr.Ir. Sri Hidanah, drh, M.S, Prof.Dr.Widjiati, drh.M.Si, Dr. Kadek Rachmawati, drh. M.Kes selaku anggota penguji, saya menghaturkan terimakasih dan penghargaan atas masukan dan saran untuk kesempurnaan disertasi ini kepada Dr. Soeharsono, drh, M.Si selaku konsultan statistik dan analisis data.

Seluruh staf pengajar S3 Sains Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan Doktor.

Dr. Reviany V. Nidom , Apt, M. farm, Dr. drh. Ire, Drh Arif dan seluruh tim Profesor Nidom Foundation atas bantuannya selama penelitian.

Kepala Balai Besar Karantina Makassar, Bpk Hasrul, Bpk Andi Yusmanto, Bpk Luthfi dan Kepala Balai Besar Karantina Surabaya Drh. Cicik Sukarsih, MSi. Kepala Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari atas dukungannya selama penyelesaian studi.

Kepala Dinas Peternakan Provinsi Sulawesi Selatan, Kepala Dinas Peternakan Kabupaten Gowa dan Kepala Dinas Peternakan Kabupaten Sidrap beserta tim yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk melakukan penelitian.

Staf Bidang Karantina Hewan Balai Besar Karantina Pertanian Makassar, Tenaga Ahli Madya Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya atas kerjasamanya selama saya menempuh studi.

Keluarga tercinta Drh. Muhlis Natsir, M.Kes, Zulfikri Febriansyah, Zahrah adeliyana Sari, Alya Syakila atas keikhlasannya mendampingi dalam penyelesaian studi. Bpk Sabar, Ibu Suparmi, Alm. Tetta M. Natsir, Mama Sitti Djanawang, Kakak-adik dan ipar- ipar terkasih atas doa dan semangat yang diberikan selama menjalani studi

Semoga semua kebaikan yang dicurahkan mendapat berkah dan rahmat dari Allah SWT.

Penulis

**RINGKASAN**

**DNA BARCODE (GEN *Cytochrome C Oxidase I* /COI) UNTUK  
MENDETEKSI KERAGAMAN GENETIK SAPI  
PERSILANGAN DI SULAWESI SELATAN**

**Sri Utami**

Pengembangan produktifitas sapi potong, masih banyak kendala yang perlu dicarikan jalan keluarnya. Beberapa kendala yang dihadapi antara lain sapi lokal Indonesia mempunyai produktivitas yang masih tergolong rendah; belum optimalnya program peningkatan populasi sapi lokal; sistem pemeliharaan yang masih bersifat ekstensif tradisional; tingginya pemotongan ternak produktif; keterbatasan pakan baik kualitas maupun kuantitas yang disebabkan oleh penyusutan luas padang penggembalaan; dan penurunan mutu genetik. Produktivitas sapi potong dapat ditingkatkan melalui perbaikan mutu genetik dan lingkungan, melalui program pemuliaan dengan cara seleksi dan pengaturan perkawinan.

DNA *barcode* salah satunya gen COI merupakan salah satu pendekatan yang digunakan untuk menganalisis variasi genetik. Kunci pengelolaan optimal terhadap sumberdaya genetik ternak salah satunya ialah keragaman genetik. Tingkat keragaman genetik pada tingkat DNA dapat digunakan untuk mengetahui potensi genetik dari ternak.

Tujuan penelitian ini adalah mendeteksi keragaman genetik dan analisis kekerabatan sapi *purebred* dan persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap Sulawesi Selatan menggunakan gen COI, untuk mengetahui korelasi antara SNP dengan profil hematologi dan kimia darah, serta analisis kemiripan / *similarity*.

Rancangan penelitian adalah eksploratif laboratoris dan dilakukan dalam tiga tahap. Tahap pertama penelitian dimulai dengan pengumpulan sampel sebanyak dua puluh jenis sapi di tiga lokasi yaitu sapi persilangan milik peternak di Kabupaten Gowa (empat ekor) dan Sidrap Propinsi Sulawesi Selatan (sembilan ekor) serta sapi *purebred* milik BBIB Singosari Malang Jawa Timur (tujuh ekor). Sapi persilangan yang diambil sampel berusia sekitar 3-4 tahun, dengan berat rata-rata 250-300 kg. Penelitian dilakukan di Laboratorium Professor Nidom Foundation mulai bulan Maret 2021 sampai dengan September 2022.

Sampel *whole blood* diambil untuk analisis genetik dan pengukuran profil hematologi, sedangkan serum untuk uji kimia darah. Tahap kedua melakukan isolasi dan analisis DNA. Tahap ketiga melakukan analisis hasil sekuensing untuk mengetahui keragaman genetik dan kekerabatan / filogenetik serta korelasinya dengan profil hematologi serta kimia darah. Gen COI yang digunakan adalah HCO 2198 and LCO 1490 was amplified employing two primers: Forward 5' TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA 3' and Reverse 5'

GGTCAAATCATAAAGATATTGG 3'. Analisis sekuen hasil menggunakan software *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) versi 11. Analisis korelasi bivariat (*Pearson Correlation*) untuk mengetahui adanya korelasi keragaman genetik (SNP) nukleotida dan asam amino dengan profil hematologi. Analisis *Multidimensional Scaling* (MDS) untuk menganalisis kemiripan (*similarity*) sapi sampel.

Hasil penelitian menunjukkan Sapi Persilangan (Angus-PO) dan sapi Bali memiliki keragaman genetik tertinggi diantara sapi sampel lainnya, hal ini terlihat pada jumlah titik mutasi nukleotida serta asam amino, dan jumlah nukleotida spesifiknya. Sapi persilangan (Simmental-Bali) memiliki jumlah *missense mutation* terbanyak diantara sapi sampel lainnya. Titik mutasi tersebut dapat dijadikan penanda genetik. Analisis kekerabatan sapi sampel membentuk tiga *cluster* utama (A,B,C) dan satu *cluster outgroup* (D). Sapi persilangan (Angus-PO) terpisah dari kelompok sapi lainnya (Cluster A). Lima (5) jenis sapi *purebred* tergabung dalam cluster B dan memiliki kekerabatan paling dekat dengan *B. taurus*. Dua belas (12) jenis sapi persilangan tergabung dalam cluster C yang memiliki silsilah keturunan yang lebih dekat dengan sapi *Bos indicus* (Bali dan Ongole) daripada *Bos taurus*. Terdapat korelasi SNP nukleotida dan asam amino dengan beberapa profil hematologi dan kimia darah sapi sampel yakni WBC, RBC, HGB, HCT, MCH, MCHC dan Albumin. Analisis kemiripan (*similarity*) menunjukkan hasil pengelompokan yang sama dengan analisis filogenetik bahwa sapi persilangan (Angus-PO) terpisah dengan kelompok sapi sampel lainnya. Sampel kelompok sapi *purebred* sebagian besar cenderung berkelompok pada kuadran sisi positif dimensi-1 dan dimensi-2, sedangkan kelompok persilangan sebagian besar cenderung bergabung pada sisi positif dimensi-1 dan sisi negatif dimensi-2. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa DNA *barcode* (gen COI) dapat digunakan mendeteksi keragaman genetik dan kekerabatan sapi. Sapi persilangan (Angus-PO) dan (simmental-Bali) berpotensi dikembangkan dalam mendukung peningkatan produktifitas sapi potong dengan memperhatikan kelestarian sapi lokal (Bali) dan perbaikan manajemen pemeliharaan sapi terutama pakan berkualitas. Saran perlunya penelitian lanjutan untuk mengetahui gen-gen spesifik sapi persilangan yang memiliki kualitas lebih baik dari induk lokalnya dan berkorelasi secara ekonomis.

## SUMMARY

### GENETIC DIVERSITY OF CROSSBRED CATTLE USING CYTOCHROME OXIDASE SUBUNIT I (COI) GENE IN SOUTH SULAWESI, INDONESIA

Sri Utami

Since livestock producers in Indonesia rely heavily on cattle for their revenue, cattle are one of the most essential livestock products. The productivity of Indonesian livestock, especially local cattle, is still relatively low and is a major problem that must be resolved immediately. The program to increase the local cattle population is not yet optimal due to the extensive traditional rearing system, high production of livestock slaughter, limited feed, shrinking grazing area, and decreased genetic quality. Productivity of beef cattle can be increased through genetic and environmental quality improvements, in its application through a breeding program. The mtDNA COI is a gene that is often used as a DNA barcode to analyze the diversity of genetic in cattle. This gene was also used to reconstruct phylogenetics at the species level of evolution. This research targeted to evaluate the phylogenetic relationship and genetic diversity of local and crossbred (CB) cattle in order to support policies and programs to elevate the quality of beef cattle in South Sulawesi Province, Indonesia.

This study organized at the Animal Laboratory, Professor Nidom Foundation, Surabaya, Indonesia from March, 2021 to September 2021. Twenty blood samples were isolated from three regions representing seven purebred cattle belongs to Singosari National Artificial Insemination Center, Malang, Indonesia, and four CB cattle from Gowa District and nine CB cattle from Sidrap, South Sulawesi, Indonesia.

Samples isolated from jugular vein using 3 mL syringe. Those blood samples were kept in room temperature and preserved in EDTA for laboratory analysis. The DNA was extracted using gSYNC™ DNA extraction kit and stored at -20 °C before further analysis. Gene COI HCO 2198 and LCO 1490 was amplified employing two primers: Forward 5' TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA 3' and Reverse 5' GGTCAAATCATAAAGATATTGG 3'.

All samples (mtDNA COI gene sequences) were aligned using the ClustalW. MEGA 11 software was used to estimate the COI gene diversity metrics, such as the number of polymorphic sites genetic distances (Kimura two-parameter model algorithm), and the resulting distance matrices were used to create a neighbor-joining (NJ) tree (1000 bootstrapping repeats). In the present research, two samples of *Bos taurus* (GenBank Accession Number: HM.102289.1 and HQ.860420.1) were used in the phylogenetic analysis. Bivariate correlation analysis on SPSS version 22 was used to determine a significant relationship of nucleotide base and amino acid diversity to some parameters of hematology and blood chemistry description.

The precision and concentration of the DNA used as a template in the PCR procedure affected its success. The purity and concentration of the DNA ranged

from 372.6 to 764.6 with the degree of purity reached from 1.8 to 1.96  $\mu\text{g/mL}$ . The result of electrophoresis on a 1.5% agarose gel showed successfully DNA amplification (Figure 2 and 3), generating a COI gene composing of 700 bp. Considering result of alignment 770 nt COI gene, the base content of thymine (T) were 28.86%, cytosine (C) 26.78%, adenine (A) 27.38% and guanine (G) 16.99%. Total nucleotide A+T were 56.24%, and G+C were 43.77%, therefore GC<AT. Multiple alignments obtained SNP (single nucleotide polymorphism) were 962 sites consist of 618 transition, 179 transversion, 158 insertion, and 7 deletion. Based on the polymorphic sites Bali cattle dominated among the purebred were found 56 sites, PO 33 and Madura cattle 8 sites. Among the crossbred (CB) cattle, the highest number of SNP found in (Angus-PO) were 139 sites, (Bali-Limousine-Brahman) 81 sites, and (PO -Brahman) 72 sites (Figure 4). In addition, data obtained that specific nucleotide COI gene was 53.89% (415/770) conserved nucleotide and 42.2% (325/770) variable nucleotide. Variable nucleotide consist of 15.97% (123/770) parsimony informative and 22.7% (176/770) singlet on nucleotide.

The result showed that all these samples were grouped into three main clades (A, B, and C) and outgroup (D). Clade A is consist of CB cattle (Angus-PO) with bootstrap 94%. CB cattle (Angus-PO) which separated from other groups of CB cattle. B clade was supported by 100% bootstrap value and consist purebreed cattle Angus, Brahman and Simmental with the closest genetic distance was 0.00 and 100% homolog to *B. taurus*, while Limousine has a genetic distance of 0.002 and Madura with a value of 0.013. Cluster C has a bootstrap value of 48%, the members of this cluster are mostly CB cattle except PO and Bali. The result of Pearson's correlation analysis could be shown on Table 2 and Table 3. Results of Pearson's correlation analysis showed that there was a very significant correlation between SNP (nucleotide) and several hematological parameters. These hematological parameters were WBC, RBC, HCT, MCH, and MCHC. Three parameters had a very significant correlation to SNP, namely RBC (0.003), HCT (0.005), and MCHC (0.005). Other parameters had a significant correlation to SNP were WBC (0.017) and MCH (0.017).

In conclusion, this study revealed that a lot of SNP found in local cattle (Bali and PO) and CB cattle in Gowa and Sidrap indicated various genetic diversity could be a marker candidate and potential to be developed in future research knowing the correlation of the SNP with the growth rate of CB. This study also shows that the correlation of SNP to hematological and blood chemistry description can be an appropriate potential indicator and parameter to describe healthy animal status. This information will be helpful for further strategy in breeding development program.

**DNA BARCODE FOR DETECTING GENETIC DIVERSITY OF  
CROSSED CATTLE IN SOUTH SULAWESI**

Sri Utami

**ABSTRACT**

This study aimed to assess the genetic diversity and phylogenetic relationship of local cattle and cross breed (CB) cattle. Chemical values and blood parameters of livestock observed in order to determine the correlation between biochemical and hematological parameters to genetic diversity. The genome was isolated from 20 whole blood samples from 7 purebred belongs to Singosari National Artificial Insemination Center Malang Indonesia, 4 cross breed in Gowa and 9 cross breed in Sidrap South Sulawesi. This study conducted at the Animal Laboratory, Professor Nidom Foundation, Surabaya, Indonesia from February to October 2021. This study was conducted on 20 blood samples were collected from three regions representing 7 kinds of purebred cattle belongs to Singosari National Artificial Insemination Center, Malang Indonesia, 4 kinds of CB cattle from Gowa district and 9 kinds of CB cattle from Sidrap South Sulawesi. Those blood samples were preserved in EDTA and The genomic DNA was extracted from blood samples using gSYNC™ DNA extraction kit and stored at -20°C before further analysis. Then Qualitative and Quantitative test of DNA isolated was used on 1,5% agarose gel electrophoresis in 1XTAE solution. Electrophoresis was run at 100 volts for 35-40 minutes. Partial sequences of mtDNA COI bp, were amplified using the *polymerase chain reaction* technique primer HCO 2198 dan LCO 1490 5'-Forward TAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3' and reverse 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'. The mtDNA COI gene sequences from 20 samples were aligned using the Clustal W . The COI gene diversity measures, such as the number of polymorphic sites, genetic distances based on the Kimura two-parameter model algorithm were estimated using MEGA version 11 software. The resulted distance matrices were used to construct a neighbor-joining (NJ) tree with 1000 bootstrapping replicates using the same software. The Bivariat Correlation analysis (*Pearson's Correlation*) on SPSS version 22 was used to determine a significant relationship of nucleotide base and amino acid diversity to some parameters of hematology and blood chemistry description. The result of this analysis was used to construct *Multidimensional Scaling* (MDS) map based on significant relationship parameters of hematology and blood chemistry description to nucleotide and amino acid diversity. This study revealed that a lot of SNP found in local cattle (Bali and PO) and CB cattle in Gowa and Sidrap indicated various genetic diversity can be as a marker candidate and potential to be developed into future research knowing the correlation of the SNP with the growth rate of CB. This study also shows that the correlation of SNP to hematological and blood chemistry description can be an appropriate potential indicator and parameter to describe animal health and physiological status. This information will be helpful for further strategy in breeding development program.

**Key words:** *COI, Cross breed, Genetic diversity, Phylogenetic, Multidimensional Scaling*

**DAFTAR ISI**

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DALAM.....	ii
PERNYATAAN .....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
UCAPAN TERIMAKASIH .....	v
RINGKASAN .....	vii
<i>SUMMARY</i> .....	ix
<i>ABSTRACT</i> .....	xi
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xvi
DAFTAR GAMBAR .....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG .....	xix
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar belakang .....	1
1.2. Rumusan masalah .....	7
1.3. Tujuan penelitian .....	8
1.3.1. Tujuan Umum .....	8
1.3.2. Tujuan Khusus .....	8
1.4. Manfaat penelitian .....	8
1.4.1. Manfaat Teoritis .....	8
1.4.2. Manfaat Praktis .....	8
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>10</b>
2.1 Tinjauan Tentang Sapi .....	11
2.1.1. Sapi <i>Purebred</i> .....	11
2.1.1.1. Sapi Ongole.....	11
2.1.1.2. Sapi Bali.....	12
2.1.1.3. Sapi Madura.....	15



2.1.1.4.	Sapi Brahman.....	16
2.1.1.5.	Sapi Limousine.....	18
2.1.1.6.	Sapi Angus.....	19
2.1.1.7.	Sapi Simmental.....	21
2.1.2.	Sapi Persilangan.....	22
2.1.2.1.	Sapi Peranakan Ongole (PO) .....	23
2.1.2.2.	Sapi Persilangan Simmental-PO (Simpo) .....	25
2.1.2.3.	Sapi Persilangan Limousine-PO (Limpo) .....	26
2.1.2.4.	Sapi Persilangan Simmental-Bali (Simbal) ...	27
2.2	Performan Fisik .....	29
2.2.1.	Ukuran Tubuh.....	29
2.2.2.	Pemeriksaan Hematologi dan Kimia darah.....	31
2.2.2.1.	Hematologi .....	31
2.2.2.1.1.	Hemaglobin (HGB) .....	34
2.2.2.1.2.	Hematokrit (HCT) .....	35
2.2.2.1.3.	MCV,MCH dan MCHC .....	35
2.2.2.2.	Kimia Darah .....	37
2.3	DNA Barcode.....	40
2.3.1.	Sumber DNA Barcode.....	42
2.3.2.	Pentingnya DNA Barcode dalam Sistematika.....	45
2.3.3.	Alur Kerja DNA Barcode .....	47
2.3.4.	Prinsip dan Aplikasi Analisis Fenetik dan Filogenetik...	51
2.4	Gen COI.....	58
2.5	Single Nucleotide Polymorphism (SNP).....	63
2.6	Multidimensional Scaling (MDS).....	64
<b>BAB 3</b>	<b>KERANGKA KONSEPTUAL.....</b>	<b>67</b>
3.1	Kerangka Konseptual Penelitian .....	67
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual .....	68
<b>BAB 4</b>	<b>MATERI DAN METODE PENELITIAN.....</b>	<b>80</b>
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	80
4.1.1	Tahap Pertama.....	80
4.1.1.1	Koleksi Sampel.....	80
4.1.1.2	Ukuran Tubuh.....	81
4.1.1.3	Profil Hematologi dan Kimia Darah.....	81
4.1.2	Tahap Kedua.....	81
4.1.3	Tahap Ketiga.....	81
4.2	Jenis dan Jumlah Sampel.....	82
4.2.1	Pengujian Hematologi dan Kimia Darah.....	82
4.2.2	Isolasi dan Analisis DNA.....	82
4.3	Definisi Operasional.....	82
4.4	Tempat dan Waktu Penelitian.....	84
4.5	Alat dan Bahan Penelitian.....	85
4.5.1	Alat Penelitian.....	85
4.5.2	Bahan Penelitian.....	85
4.6	Metode Penelitian.....	86
4.6.1.	Ukuran Tubuh.....	86

4.6.2.	Pengambilan Sampel Penelitian.....	86
4.6.3.	Pemeriksaan Hematologi dan Kimia Darah.....	88
4.6.4.	Ekstraksi DNA.....	88
4.6.5.	Uji Kuantitas dan Kualitas DNA.....	90
4.6.5.1.	Uji Kuantitas DNA.....	90
4.6.5.2.	Uji Kualitas DNA.....	90
4.6.6.	Amplifikasi DNA.....	90
4.6.7.	Elektroforensis.....	91
4.6.8.	Sekuensing.....	92
4.6.8.1.	Purifikasi Hasil PCR.....	92
4.6.8.2.	Sekuensing DNA.....	92
4.7	Analisis Data.....	93
4.7.1	Data Performan fisik dan SNP.....	93
4.7.2	Hasil Sekuensing.....	93
4.7.3	Analisis Filogenetik.....	93
4.7.4	Analisis korelasi bivariat.....	94
4.7.5	Analisis MDS.....	94
4.8	Kerangka Operasional Penelitian.....	96
<b>BAB 5</b>	<b>HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>97</b>
5.1	Tahap Pertama.....	97
5.1.1.	Koleksi Sampel.....	97
5.1.2	Ukuran Tubuh.....	98
5.1.3.	Profil Hematologi dan Kimia darah.....	99
5.2	Tahap Kedua.....	108
5.2.1.	Isolasi dan Analisis DNA.....	108
5.2.2	Uji Kuantitas dan Kualitas DNA.....	108
5.2.3.	Amplifikasi DNA.....	109
5.3	Tahap Ketiga.....	110
5.3.1.	Analisis Hasil Sekuensing.....	110
5.3.2	Komposisi Nukleotida.....	111
5.3.3.	Identifikasi SNP.....	113
5.3.4.	Nukleotida Spesifik.....	118
5.3.5.	Mutasi Asinonim / <i>Missense Mutation</i> .....	118
5.3.6.	Analisis Kekerabatan.....	123
5.3.6.1.	Jarak Genetik dan Homologi.....	123
5.3.6.2.	Analisis Filogenetik.....	124
5.3.7.	Analisis Korelasi SNP dengan Hematologi.....	126
5.3.7.1.	Korelasi SNP Nukleotida dengan Hematologi.....	126
5.3.7.2.	Korelasi SNP Asam Amino dengan Hematologi dan Kimia Darah.....	128
5.3.8.	Analisis MDS.....	129
<b>BAB 6</b>	<b>PEMBAHASAN.....</b>	<b>132</b>
6.1	Tahap Pertama.....	132

6.1.1.	Ukuran Tubuh.....	132
6.1.2.	Profil Hematologi dan Kimia darah.....	134
6.1.2.1.	Profil Hematologi.....	134
6.1.2.2.	Nilai Kimia darah.....	144
6.2	Tahap Kedua.....	152
6.2.1.	Isolasi dan Analisis DNA.....	152
6.2.1.1.	Uji Kuantitas dan Kualitas DNA.....	152
6.2.1.2.	Amplifikasi DNA.....	155
6.3	Tahap Ketiga.....	157
6.3.1.	Analisis Hasil Sekuensing.....	157
6.3.1.1	Komposisi Nukleotida.....	157
6.3.1.2	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (SNP).....	159
6.3.1.3	Mutasi Nukleotida Spesifik.....	166
6.3.1.4	Mutasi Asinonim / <i>Missense Mutation</i> .....	167
6.3.1.5	Analisis Kekekabatan.....	170
6.3.1.5.1.	Jarak Genetik dan Homologi.....	170
6.3.1.5.2.	Analisis Filogenetik.....	171
6.3.2.	Analisa Korelasi SNP dan Hematologi.....	174
6.3.2.1.	Korelasi SNP Nukleotida dan Hematologi.....	174
6.3.2.2.	Korelasi SNP Asam Amino dan Kimia Darah.....	175
6.3.3.	Analisis MDS.....	176
6.4	Kebaruan Kependelitan ( <i>Novelty</i> ).....	177
6.5	Keterbatasan Penelitan.....	179
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....		
7.1	Kesimpulan.....	180
7.2	Saran.....	181
DAFTAR PUSTAKA.....		182
LAMPIRAN.....		224

## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
Tabel 2.1	Sumber DNA Barcode.....	43
Tabel 4.1	Primer gen COI ( <i>Cytochrome C Oxidase I</i> ) HCO 2198 dan LCO 1490.....	91
Tabel 5.1	Jenis Sapi dan Kode Sampel Sapi <i>Purebred</i> dan Persilangan.....	97
Tabel 5.2	Perbandingan Rata-rata Ukuran Linier Tubuh Sapi Persilangan dan <i>Purebred</i> umur 3-4 tahun.....	98
Tabel 5.3	Data Hasil Pengujian Hematologi.....	101
Tabel 5.4	Data hasil pengujian Kimia Darah Sapi Persilangan dan <i>Purebred</i> .....	105
Tabel 5.5	Jumlah SNP Nukleotida dan <i>missense mutation</i> , dan SNP spesifik sapi <i>Purebred</i> .....	115
Tabel 5.6	Jumlah SNP Nukleotida dan <i>missense mutation</i> , SNP spesifik sapi persilangan.....	116
Tabel 5.7	Hasil analisis korelasi bivariat ( <i>pearson correlation</i> ) SNP Nukleotida dengan nilai hematologi dan kimia darah.....	127
Tabel 5.8	Hasil analisis korelasi bivariat ( <i>Pearson Correlation</i> ) SNP asam amino dengan nilai hematologi dan nilai kimia darah.....	129

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1	Sapi Ongole ..... 12
Gambar 2.2	Sapi Bali Jantan ..... 14
Gambar 2.3	Sapi Bali Betina..... 14
Gambar 2.4	Sapi Madura..... 16
Gambar 2.5	Sapi Brahman..... 17
Gambar 2.6	Sapi Limousin..... 19
Gambar 2.7	Sapi Angus..... 21
Gambar 2.8	Sapi Simental..... 22
Gambar 2.9	Sapi Peranakan Ongole..... 25
Gambar 2.10	Sapi Peranakan Simmental po (Simpo)..... 26
Gambar 2.11	Sapi Peranakan Limousin Ongole (Limpo)..... 27
Gambar 2.12	Ukuran Tubuh Sapi..... 31
Gambar 2.13	Posisi relatif DNA <i>barcode</i> terletak antara genetika populasi dan filogenetika (Hajibabaei <i>et al.</i> , 2007). Setiap kotak kecil mewakili satu individu. Perbedaan warna menunjukkan perbedaan spesies dan perbedaan di dalam spesies ditunjukkan dengan variasi bayangan warna..... 46
Gambar 2.14	Daerah spesifik gen COI sebagai standar identifikasi hewan..... 60
Gambar 3.1	Bagan Kerangka Konseptual..... 67
Gambar 4.1	Lokasi Pengambilan sampel..... 80
Gambar 4.2	Kerangka Operasional Penelitian..... 96
Gambar 5.1	Perbandingan rata-rata ukuran linier tubuh sapi persilangan dan <i>purebred</i> umur 3-4 tahun..... 99
Gambar 5.2	Grafik Hasil Pengujian Hematologi Darah..... 102
Gambar 5.3	Grafik Hasil Pengujian Kimia Darah ..... 106
Gambar 5.4	Hasil PCR Sapi persilangan..... 109
Gambar 5.5	Hasil PCR Sapi <i>Purebred</i> ..... 110
Gambar 5.6	Komposisi Nukleotida Sapi Persilangan ..... 112
Gambar 5.7	Komposisi Nukleotida Sapi <i>Purebred</i> ..... 112
Gambar 5.8	Probabilitas substitusi antar basa..... 113
Gambar 5.9	Urutan nukleotida sapi <i>purebred</i> yang berubah asam aminonya.. 119
Gambar 5.10	Posisi basa identik sapi persilangan yang berubah asam aminonya..... 122
Gambar 5.11	Pohon Filogenik Sapi Persilangan, <i>Purebred</i> dan <i>Outgroup</i> ..... 125
Gambar 5.12	Peta Kuadran Kemiripan menggunakan analisis MDS berdasarkan SNP Nukleotida..... 130
Gambar 5.13	Peta Kuadran Kemiripan menggunakan analisis MDS berdasarkan SNP Asam amino..... 131

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran	Halaman
1 Data pemilik dan performa sapi sampel .....	224
2 Standar SNI Pengukuran Kuantitatif Ukuran Tubuh Sapi PO dan Bali jantan umur diatas 36 bulan (Kelas I, II, dan III).....	229
3 Pengukuran Konsentrasi DNA sapi <i>purebred</i> dan persilangan .....	230
4 Komposisi Nukleotida sampel sapi <i>purebred</i> dan persilangan .....	231
5 Keragaman SNP Nukleotida dan mutasi asinonim sapi <i>purebred</i> dan persilangan.....	232
6 Nukleotida spesifik sapi <i>purebred</i> dan persilangan .....	237
7 Jarak Genetik dan homologi sapi <i>purebred</i> dan persilangan .....	238
8 Perubahan nukleotida dan asam amino sapi ongole dan Bali.....	240
9 Perubahan Nukleotida dan asam amino sapi persilangan.....	244
10 Ethical Clearance.....	254

## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

%	= Percent
±	= Kurang lebih
ALP	= <i>Alkaline Phospatase</i>
BLAST	= <i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
ClustalW	= Clustal Weighting
COI	= Cytochrome Oxidase I
Cyt-b	= Cytochrome b
DGLS	= Director General of Livestock Services
dkk	= dan kawan-kawan
DNA	= <i>Deoxyribonukleat Acid</i>
HCT	= <i>Hematocrite</i>
HGB	= <i>Hemoglobin</i>
K80	= Kimura 2-Parameter 80
Kg	= Kilogram
LIMBAL	= Limousine Bali
LIMPO	= Limousine Peranakan Ongole
MCH	= <i>Mean Cospucular Hemaglobine</i>
MCHC	= <i>Mean Cospucular Hemaglobine Concetration</i>
MCV	= <i>Mean Cospucular Volume</i>
MDS	= <i>Analisis Muldimensional Scaling</i>
ME	= <i>Minimum Evolution</i>
mtDNA	= <i>Mitcondrial Deoxyribonukleat Acid</i>
nDNA	= Nu
NJ	= <i>Neighboring Joining</i>
PCR	= <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PCV	= <i>Packet Cell Volume</i>
p-distance	= <i>Pairwise distance</i>
PLT	= <i>Platelets</i>
PO	= Peranakan Ongole
RBC	= <i>Red Blood Cell</i>
RDW	= <i>Red cell distribution width</i>
RNA	= <i>Ribonukleat Acid</i>
rRNA	= <i>Ribosom Ribonukleat Acid</i>
SGOT	= <i>Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase</i>
SGPT	= <i>Serum Glutamic Pyruvate Transaminase</i>
SIMBAL	= Simmental Bali
SIMPO	= Simmental Peranakan Ongole

SNP	= <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SO	= <i>Simmental Ongole</i>
Sp.	= <i>Spesies</i>
SPSS	= <i>Statistical Program for Social Science</i>
tRNA	= <i>Trasport Ribonukleat Acid</i>
UPGMA	= <i>Uweighted-Pair Group Method With Arithmetic Means</i>
WBC	= <i>White Blood Cell</i>



# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pemerintah Indonesia telah mencanangkan pengembangan populasi sapi potong sebagai Program Super Prioritas Kementerian Pertanian Tahun 2020. Program ini melalui kegiatan pengembangan 1.000 desa sapi berupa, pengembangan sapi indukan dan sapi bakalan dengan berbasis korporasi petani atau peternak, agar mampu mengembangkan usaha sapi masyarakat menjadi usaha yang berorientasi bisnis, sebagai tumpuan para kreator peningkatan kesejahteraan, yang sekaligus sebagai penopang perekonomian daerah yang berkelanjutan.

Program ini telah diimplementasikan pada lima (5) Provinsi sebagai *pilot project* yaitu Lampung, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, Sulawesi Selatan dan Jawa Timur. Keberhasilan dari *pilot project* ini dapat direplikasi ke seluruh Provinsi di Indonesia. Tujuan program ini diharapkan dapat tercapai peningkatan populasi sapi dan pemenuhan protein hewani bagi seluruh masyarakat di Indonesia.

Pertumbuhan kebutuhan daging nasional terjadi akibat peningkatan konsumsi dan pertumbuhan penduduk. Pada tahun 2022, konsumsi daging per kapita mencapai 2,57 kg/tahun, meningkat dari tahun 2021 sebesar 2,46 kg/tahun. Sementara itu, terjadi pertambahan jumlah penduduk dari 272,24 juta jiwa pada tahun 2021 menjadi 274,85 juta jiwa pada tahun 2022. Pertambahan jumlah penduduk ini mengakibatkan kebutuhan daging meningkat dari 669.731 ton menjadi 706.388 ton. Padahal produksi nasional daging sapi pada tahun 2022 diperkirakan sekitar 436.704 ton. Dengan stok awal tahun sebanyak 62.485 ton, Indonesia diperkirakan masih mengalami defisit antara 207.199 sampai dengan 266.065 ton pada tahun 2022 ini. (Timorria, 2022).

Kebutuhan daging sapi di Indonesia saat ini dipasok dari tiga sumber yaitu peternakan rakyat, peternakan komersial dan impor. Kementerian Pertanian menyebutkan volume impor daging sapi terus mengalami penurunan, diperkirakan kebutuhan impor daging sapi atau kerbau pada 2022 sebesar 266.065 ton, sedangkan realisasi impor daging sapi tahun 2021 sebesar 356.738 ton. Kebijakan penurunan jumlah importasi daging sapi harus diikuti dengan program pengembangan sektor peternakan rakyat, sehingga dibutuhkan usaha untuk meningkatkan populasi dan produktivitas sapi potong (Hamid dkk, 2021).

Beberapa kendala yang dihadapi dalam upaya pengembangan sektor peternakan rakyat antara lain yaitu sapi lokal (asli) Indonesia mempunyai produktivitas yang masih tergolong rendah, belum optimalnya program peningkatan populasi sapi lokal, sistem pemeliharaan yang masih bersifat ekstensif tradisional, tingginya tingkat pemotongan ternak produktif, keterbatasan pakan baik kualitas maupun kuantitas yang disebabkan oleh penyusutan luas padang penggembalaan, penurunan mutu genetik dan adanya wabah penyakit Penyakit Mulut dan Kuku sempat menjangkiti ribuan hewan ternak ruminansia sejak Mei 2022, perlahan mulai menurun (Pradana, 2022).

Salah satu upaya perbaikan produktivitas sapi potong di Indonesia dapat dilakukan melalui program seleksi bibit. Seleksi bibit umumnya menghasilkan peningkatan performan produksi ketika pakan yang diberikan berkualitas baik dan lingkungan mendukung. Kemampuan produksi sapi potong diekspresikan dengan pertumbuhan bobot badan dan ukuran tubuh sejalan dengan pertambahan umur (Ali dan Sodik, 2016). Ukuran tubuh merupakan ukuran penting dalam menilai sifat kuantitatif ternak yang dapat digunakan untuk program seleksi bibit. Penampilan sapi jantan yang baik dapat diukur dengan pengukuran dimensi tubuhnya berupa pengukuran bobot badan, tinggi badan, panjang badan dan lingkar dada (Rianto dan Endang, 2011).

Nilai hematologi atau profil darah berguna untuk menilai kondisi kesehatan dan sebagai acuan nilai awal (*baseline*) atau kontrol dalam suatu

penelitian. Adanya gangguan metabolisme, penyakit, kerusakan struktur atau fungsi organ, pengaruh agen/obat, dan stress dapat diketahui dari perubahan profil darah (Iheidioha *et al.*, 2012). Terjadinya perubahan pada darah dapat mengindikasikan bahwa adanya kelainan atau penyakit (Anwar, 2015). Darah merupakan komponen penting dalam penilaian kondisi fisiologis tubuh. Profil darah dapat dibedakan menjadi dua, yaitu profil hematologi atau hitung lengkap (*complete blood count*, CBC) dan profil kimia darah (*blood clinical chemistry*). Profil hematologi untuk mengevaluasi komponen selular, sedangkan profil kimia darah mengevaluasi komponen dalam cairan darah (Fitria dan Sarto, 2014).

Produktivitas sapi potong menurut Wahyu (2018) dapat ditingkatkan melalui perbaikan mutu genetik dan lingkungan, melalui program pemuliaan dengan cara seleksi dan pengaturan perkawinan. Salah satu upaya Pemerintah dalam meningkatkan mutu genetik sapi lokal adalah program inseminasi buatan pejantan dari *Bos taurus*, *Bos indicus*, yang memiliki ukuran tubuh dan bobot badan lebih besar. Selama ini Indonesia telah memiliki berbagai bangsa ternak sapi potong antara lain sapi Bali, Aceh, Madura, Pesisir, Peranakan Ongole (PO), Pasundan dan Katingan. Terjadinya persilangan antara sapi lokal dengan sapi *Bos taurus*, *Bos indicus* diharapkan dapat menghasilkan pedet yang mempunyai keunggulan dalam produksi dan reproduksi dibanding dengan sapi lokal. Sampai saat ini, sistem pemuliaan ternak masih berjalan secara konvensional, sehingga memerlukan waktu yang lebih lama untuk mendapatkan ternak bibit yang unggul. Oleh karena itu, aplikasi teknologi genom untuk akselerasi pengembangan ternak lokal di Indonesia perlu ditingkatkan (Sudrajad *et al.* 2021). Menyikapi tantangan tersebut, untuk dapat meningkatkan produktivitas dan eksistensi sapi lokal perlu dilakukan upaya perlindungan, pelestarian, dan pengelolaan sapi lokal melalui pemurnian genetik, peningkatan mutu genetik, pembatasan pengeluaran ternak, dan perbaikan manajemen pemeliharaan. Program pemurnian genetik dengan tetap mempertahankan keragaman genetik ternak lokal untuk seleksi ataupun pemanfaatan gen tertentu guna mendapatkan produktivitas yang diinginkan (Sudrajad *et al.* 2021).

Saat ini telah banyak informasi genetik pada beberapa bangsa sapi lokal misalnya mengenai potensi sumber daya genetik sapi PO dan sapi Sumba Ongole (SO) (Agung *et al.*, 2019). Populasi sapi potong di Pulau Jawa yang ada sekarang terdiri dari bangsa sapi PO, persilangan Simmental dengan PO (SIMPO), persilangan Limousin dengan PO (LIMPO), Brangus dan Madura, tetapi hingga saat ini belum terdapat data yang menyatakan terkait jumlah masing-masing bangsa sapi dan struktur populasinya. Populasi sapi di Sulawesi Selatan masih didominasi sapi Bali walaupun beberapa Kabupaten telah mengembangkan sapi persilangan Bali dengan Limousin (LIMBAL), Bali dengan Simmental (SIMBAL), Bali dengan Madura, dan Bali dengan Brahman (Wahyu, 2018).

Adanya persilangan antar bangsa sapi lokal tersebut menyebabkan kemungkinan adanya keragaman genetik, sehingga perlu mendapat perhatian yang seksama dalam keperluan mempertahankan plasma nutfah sapi lokal. Sistem perkawinan yang telah lama digunakan untuk meningkatkan produktivitas sapi potong adalah persilangan. Faktor genetik ditentukan oleh susunan gen yang terdapat di dalam kromosom, telah diketahui pada suatu bangsa sapi potong memiliki jumlah kromosom dan pasangan gen yang sama tetapi memiliki urutan gen yang berbeda. Hal ini menyebabkan kemampuan sapi dalam produksi dan reproduksi juga berbeda sehingga mengakibatkan adanya keragaman pada produktivitasnya. Keragaman genetik ini bukan hanya menghasilkan faktor yang positif yaitu meningkatnya produksi dan reproduksi, tetapi hilangnya potensi keunggulan sapi lokal selain produksi dan reproduksi tersebut. Data keragaman dan kekerabatan ternak sapi lokal dan sapi persilangan di Indonesia dan prediksi garis keturunannya diperlukan untuk mendukung usaha konservasi suatu spesies ternak maupun untuk kepentingan pengembangan pemuliaan ternak tersebut (Pamungkas *et al.* 2012; Sutarno and Setyawan 2016).

Menurut Sudrajad *et al.*, (2021) teknologi genom dapat dimanfaatkan sebagai upaya perbaikan ternak dengan peningkatan ketepatan dan efisiensi program seleksi ternak. Seleksi berdasarkan marka genetik dengan menganalisis data/informasi genom telah banyak diteliti dan berpotensi dimanfaatkan untuk pengembangan ternak di Indonesia.

Kunci pengelolaan optimal terhadap sumberdaya genetik ternak salah satunya ialah keragaman genetik (Chamdi, 2005). Memahami dan mempertahankan keragaman genetik suatu populasi sangat penting dalam konservasi. Keragaman genetik tinggi akan sangat membantu suatu populasi beradaptasi terhadap perubahan yang terjadi di lingkungan sekitarnya, termasuk mampu beradaptasi terhadap penyakit-penyakit di alam. Diketuinya status genetik, maka dapat dirancang program konservasi untuk menghindari kepunahan spesies (Handayani dan Setia, 2021).

Berkembangnya teknologi molekuler telah memberikan harapan untuk melakukan seleksi pada tingkat genom (*genomic selection*). Secara genetik, variasi sifat antar ternak merupakan pencerminan keragaman pada gen atau DNA. Teknologi biologi molekuler yang semakin maju, menjadikan peluang memetakan gen atau lokus yang mengekspresi karakter kuantatif tertentu semakin tinggi. Berbagai penelitian yang mengkaji marka molekuler dikaitkan dengan sifat atau karakter yang bernilai ekonomi pada ternak telah dilakukan (Koopaei & Koshkoiyeh, 2011). Selain itu untuk mengetahui tingkat keragaman genetik pada tingkat DNA yang dapat digunakan untuk mengetahui potensi genetik dari ternak (Ribeca *et al.*, 2013). Materi genetik pada organisme eukariota dibedakan menjadi materi genetik pada inti (DNA inti) dan materi genetik pada mitokondria (mtDNA). Studi pada mtDNA kerap digunakan untuk mengetahui laju evolusi, migrasi suatu populasi, maupun kekerabatan karena mitokondria diwariskan hanya dari jalur maternal (Sato, 2013).

Beberapa studi untuk mengetahui keragaman genetik telah berkembang mulai dari penanda atau penciri morfologi ke penciri histobiologi dan penciri biokimia ke molekuler DNA. Deteksi dini potensi genetik ternak dengan memanfaatkan teknologi DNA melalui identifikasi genotipe gen-gen tertentu yang mengontrol kemampuan produksi ternak atau sifat-sifat yang bernilai ekonomi merupakan hal yang perlu dilakukan dalam upaya menghasilkan bibit unggul melalui proses seleksi dan persilangan terarah (Chung *et al.*, 2013). Salah satu teknik yang berkembang untuk mengetahui tingkat kekerabatan suatu organisme ialah teknik perbandingan materi genetik, dengan pemahaman bahwa adanya laju

evolusi serta spesialisasi suatu populasi, pembuatan pohon filogenetik berdasarkan materi genetik dapat membuat konstruksi hubungan kekerabatan, dan metoda *maximum likelihood* sesuai digunakan dalam konteks keilmuan saat ini (Aprilanto dan Sembiring, 2016).

DNA *barcode* merupakan salah satu pendekatan yang digunakan untuk menganalisis variasi genetik (Zubaidah, 2013). Istilah DNA *barcode* mengisyaratkan bahwa setiap spesies makhluk hidup dicirikan oleh suatu sekuen atau urutan DNA spesifik sehingga dapat menunjukkan variasi genetik di dalam suatu spesies dan antar spesies. DNA *barcode* merupakan salah satu sarana molekuler dan bioinformatik untuk identifikasi spesies biologi. Penggunaan DNA *barcode* untuk analisis variasi genetik didasarkan pada asumsi bahwa variasi genetik antar spesies melebihi variasi intraspecies. Tujuan penggunaan DNA *barcode*, yaitu untuk identifikasi molekuler spesies yang sudah terdeskripsikan maupun untuk spesies yang belum terdeskripsikan. Analisis DNA *barcode* yang ideal mencerminkan distribusi variabilitas intraspecies dan interspecies, memberikan peluang yang sangat cepat dan akurat sebagai marker untuk identifikasi berbagai variasi taksa dan mengungkapkan beberapa kelompok hewan yang belum diketahui tingkat taksonominya (Rahayu & Nugroho, 2015).

DNA *barcode* yang umumnya digunakan untuk studi keragaman adalah gen *cytochrome oxidase subunit I (COI)*. Gen COI memiliki banyak kelebihan untuk mempelajari karakteristik genetik karena sedikit sekali mengalami delesi dan insersi pada sekuennya, serta banyak bagian yang bersifat *conserve* (memiliki struktur yang tetap), asam amino yang menyusun protein COI jarang mengalami *substitusi* sehingga dapat digunakan sebagai DNA *barcoding* pada sebagian besar spesies. Gen COI juga dapat digunakan untuk merekonstruksi filogenetik pada cabang evolusi tingkat spesies. Hal ini telah dilakukan pada berbagai species seperti sapi (Shabthar *et al.* 2013) dan ayam (Yu-Shi *et al.* 2011).

*Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) adalah setiap perubahan basa/genotip pada nukleotida di posisi tertentu dalam urutan DNA (Sudrajad *et al.* 2016). SNP banyak ditemukan dan tersebar pada genom, sehingga keragaman

genetik bangsa sapi dapat diidentifikasi berdasarkan jumlah situs polimorfik, jumlah haplotipe, keragaman haplotipe, keragaman nukleotida dan jarak genetik.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk memperoleh data dan informasi tentang sapi persilangan yang berpotensi secara genetik dan fenotip dalam upaya mendukung kebijakan dan program peningkatan mutu genetik sapi potong di Kabupaten Gowa dan Kabupaten Sidrap Provinsi Sulawesi Selatan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian diatas dan untuk mendukung program perbaikan mutu genetik dan fenotip, maka dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana keragaman genetik sapi *purebred* dan persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap Provinsi Sulawesi Selatan ?
2. Bagaimanakah hubungan kekerabatan/ *filogenetik* sapi *purebred* dan persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap Provinsi Sulawesi Selatan ?
3. Bagaimana gambaran kemiripan/ *similarity* sapi sampel berdasarkan keragaman genetik dan fenotipnya ?
4. Bagaimana gambaran performan fisik (ukuran tubuh dan profil hematologi, kimia darah) sapi *purebred* dan persilangan Kabupaten Gowa dan Sidrap Provinsi Sulawesi Selatan ?
5. Apakah terdapat korelasi antara performan fisik (ukuran tubuh, profil hematologi dan kimia darah) sapi sampel dengan keragaman genetik sapi *purebred* dan persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap Provinsi Sulawesi Selatan ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan umum**

Mendapatkan data dan informasi sapi persilangan yang berpotensi secara genetik dan fenotip untuk dikembangkan di Kabupaten Gowa dan Sidrap Provinsi Sulawesi Selatan.

#### **1.3.2 Tujuan khusus**

1. Menganalisis keragaman genetik sapi *purebred* dan persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap Provinsi Sulawesi Selatan.
2. Menganalisis hubungan kekerabatan/ filogenetik sapi *purebred* dan persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap Provinsi Sulawesi Selatan.
3. Menganalisis kemiripan/ *similarity* sapi sampel berdasarkan keragaman genetik dan fenotipnya.
4. Mengetahui gambaran performan fisik (ukuran tubuh dan profil hematologi, kimia darah) sapi *purebred* dan persilangan Kabupaten Gowa dan Sidrap Provinsi Sulawesi Selatan.
5. Menganalisis korelasi antara performan fisik (ukuran tubuh, profil hematologi dan kimia darah) sapi sampel dengan keragaman genetik sapi *purebred* dan persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap Provinsi Sulawesi Selatan.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Manfaat teoritis**

Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah tentang penggunaan gen COI sebagai DNA *barcode* untuk mengidentifikasi keragaman genetik sapi persilangan, seleksi dan pengembangan perkawinan silang lebih terarah dalam meningkatkan produktivitas sapi potong di Provinsi Sulawesi Selatan.

#### **1.4.2 Manfaat praktis.**

Manfaat praktis hasil penelitian adalah : Pemerintah daerah Provinsi Sulawesi Selatan dan Kabupaten Gowa, Sidrap dapat



menggunakan data dan informasi hasil penelitian ini sebagai bahan kebijakan melakukan seleksi performan ideal sapi persilangan yang berpotensi untuk dikembangkan dalam rangka peningkatan produktivitas dan perbaikan mutu genetik dan perkawinan silang lebih terarah.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Tentang Sapi

Penggolongan sapi ke dalam suatu Genera berdasarkan pada persamaan karakteristik yang dimilikinya. Karakteristik yang dimiliki tersebut akan diturunkan ke generasi berikutnya. Menurut Kindersley (2010), sapi mempunyai klasifikasi taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Mamalia
Ordo	: Artiodactyla
Famili	: Bovidae
Genus	: Bos
Spesies	: Bos sp.

Sapi pada umumnya digolongkan menjadi tiga kelompok yaitu sapi lokal (*Bos sondaicus*), sapi Zebu (*Bos indicus*), dan sapi Eropa (*Bos taurus*). Bangsa-bangsa sapi yang ada saat ini berasal dari ketiga kelompok sapi tersebut dan terdapat bangsa-bangsa sapi baru hasil persilangan antar bangsa yang merupakan bangsa ketiga sapi tersebut. Menurut Sudarmono dan Sugeng (2008), ciri-ciri bangsa sapi yang berasal dari wilayah tropis yaitu memiliki gelambir, kepala panjang, dahi sempit, ujung telinga runcing, bahu pendek, garis punggung berbentuk cekung, kaki panjang, tubuh relatif kecil, dengan bobot badan 250—650 kg, tahan terhadap suhu tinggi, dan tahan terhadap caplak. Sapi yang berasal dari wilayah subtropis memiliki bentuk kepala pendek, ujung telinga tumpul, garis punggung lurus, kaki pendek, bulu panjang dan kasar, tidak tahan

terhadap suhu tinggi, banyak minum dan kotorannya basah, cepat dewasa kelamin, dan bentuk tubuh besar.

### 2.1.1. Sapi *Purebred*

#### 2.1.1.1 Ongole

Sapi ongole adalah jenis ras sapi yang berasal dari Distrik Prakasam di negara bagian Andhra Pradesh di India. Trah ini diberi nama berdasarkan tempat asalnya, Kota Ongole. Sapi Ongole, yang tergolong dalam subspecies *Bos indicus*, banyak diminati karena dikatakan tahan terhadap penyakit mulut dan kuku serta penyakit sapi gila. Di daerah asalnya, Sapi Ongole banyak dipelihara dan dikembangbiakan oleh para peternak lokal India. Sampai saat ini, Sapi Ongole sudah dikembangbiakan di banyak negara seperti Indonesia, Amerika, Meksiko, Paraguay, Belanda, Malaysia, Kolombia Brazil, Australia, Argentina, dan Filipina. Keunikan sapi Ongole warna tubuhnya yang putih, memiliki punuk yang besar dan gelambir yang lebar menjadi daya tarik tersendiri bagi masyarakat dan para peternak. Sapi ini juga memiliki tanduk dengan ukuran paling kecil dibandingkan dengan jenis sapi lainnya. Mayoritas, bobot Sapi Ongole berkisar antara 400 – 600 kilogram (kg) dengan tinggi badan sapi jantan berkisar antara 140 – 160 centimeters (cm), sedangkan sapi Ongole betina berkisar antara 130 – 140 cm.

Keunggulan yang dimiliki oleh jenis sapi ini antara lain memiliki sifat tahan terhadap cuaca panas dan rasa haus serta lapar sehingga cocok dijadikan sebagai sapi pekerja, laju pertumbuhan yang cepat, adaptif terhadap pakan dan lingkungan berkualitas rendah, dan tahan terhadap serangan penyakit.

Pada tahun 1900-an, Sapi Ongole mulai didatangkan ke Indonesia, tepatnya daerah Jawa. Jenis sapi ini digunakan untuk melakukan *grading up* atau peningkatan kualitas mutu genetik Sapi Jawa. Dalam program *grading up* di daerah Jawa, terjadi persilangan yang cukup kompleks antara Sapi Ongole dengan Sapi Jawa sehingga persentase DNA Sapi Jawa menurun dan didominasi oleh Sapi Ongole dan terciptalah jenis Sapi Peranakan Ongole (PO).



Gambar 2.1 Sapi Ongole

(sumber foto: <https://www.sapibagus.com/sapi-ongole-lokal-indonesia-favorit-peternak/>)

#### 2.1.1.2 Sapi Bali

Sapi Bali merupakan salah satu bangsa sapi asli dan plasma nutfah nasional di Indonesia yang merupakan hasil domestikasi langsung dari Banteng liar (Martoyo, 2003). Sapi Bali juga telah masuk dalam aset dunia yang tercatat dalam list FAO sebagai salah satu bangsa sapi yang ada di dunia (DGLS, 2003). Sapi Bali memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan paling banyak dipelihara oleh peternak karena memiliki tingkat kesuburan yang tinggi, kematian yang rendah, mudah beradaptasi dengan lingkungan serta mempunyai persentase karkas yang tinggi (Purwantara *et al.* 2012). Tingginya tingkat fertilitas sapi Bali dalam menghasilkan pedet, merupakan salah satu

potensi yang mampu mendukung upaya peningkatan populasi melalui usaha pembiakan. Performa reproduksi induk merupakan salah satu faktor terpenting yang perlu diketahui dalam menjunjang efisiensi program pembiakan sapi potong. Beberapa parameter performa reproduksi yang penting meliputi umur pertama beranak, tingkat kelahiran (*calving rate*), jarak beranak (*calving interval*), *service per conception* (S/C), serta masa kosong (*days open*) (Rahayu, 2015). Sapi bali memiliki performa produksi yang cukup bervariasi dan kemampuan reproduksi yang, lebih tahan terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik, cepat beradaptasi apabila dihadapkan dengan lingkungan yang baru, cepat berkembang biak, dan kandungan lemak karkas rendah (Harjosubroto, 1994). Dibanding dengan sapi potong lokal lain, sapi Bali mempunyai performans produksi yang lebih efisien; dengan angka kebuntingan dan angka kelahiran yang tinggi (80 persen), penambahan bobot badan dengan pakan yang baik dapat mencapai 0,7 kg/hari (jantan dewasa) dan 0,6 kg/hari (betina dewasa), serta persentase karkas berkisar antara 51,5–59,8 persen, dengan persentase tulang kurang dari 15 persen berat karkas, dan dagingnya berkadar lemak rendah (Pane, 2006). Populasi yang tinggi dan menyebar diseluruh daerah di Indonesia juga menjadi bukti bahwa sapi Bali mampu beradaptasi dengan baik dan cocok untuk dipelihara dan dikembangkan oleh peternak sebagai sumber pangan nasional. Tingginya populasi sapi di NTB dan Sulawesi Selatan memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai sentra produksi sapi Bali selain di Pulau Bali. Penyebaran sapi Bali yang berada diluar Bali tersebut dapat menjadi pengembangan sapi bali, namun perlu adanya kajian secara mendalam untuk memperoleh informasi yang lengkap dalam proses pelestariannya. Salah satu aspek

kajian tersebut adalah upaya mempertahankan sifat-sifat khas yang dapat dimanfaatkan di masa mendatang. Hal ini didasarkan dari adanya penurunan mutu genetik sapi Bali yang diduga menurun sebagai akibat seleksi negatif dan faktor lain seperti manajemen pemeliharaan yang kurang tepat.

Menurut Hikmawaty dkk (2014) keragaman fenotipik diantara sapi Bali tersebut dapat menjadi dasar perbaikan mutu genetik melalui seleksi dalam upaya mendapatkan sapi Bali yang berkualitas dan memiliki mutu genetik yang tinggi. Ukuran tubuh ternak dapat berbeda antara satu sama lain yang kemungkinan adanya perbedaan keragaman tersebut disebabkan potensi genetik, lokasi asal, sistem pemeliharaan dan perkawinan yang diterapkan di daerah tersebut. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gunawan *et al.* (2008) bahwa selain disebabkan karena faktor genetik perbedaan ukuran-ukuran tubuh yang terjadi disebabkan perbedaan lingkungan diantaranya manajemen pemeliharaan. Lebih lanjut Noor dkk (2014) menyatakan keragaman suatu sifat yang tinggi pada populasi memungkinkan upaya seleksi terhadap sifat tersebut efektif dilaksanakan.



Gambar 2.2. Sapi Bali Jantan

(sumber : <https://sinauternak.com/mengenal-sapi-bali-asli-indonesia/>)



Gambar 2.3. Sapi Bali Betina

### 2.1.1.3 Sapi Madura

Sapi Madura adalah salah satu rumpun sapi lokal yang dimiliki Indonesia. Karakteristiknya sangat toleran terhadap stres akibat iklim ekstrim, tahan terhadap serangan caplak, sangat adaptif untuk lingkungan, kualitas dagingnya bagus dan kulitnya disinyalir terbaik di dunia. Pertambahan bobot badan berkisar 200 – 700 gram perhari dengan capaian bobot badan dewasa 250-700 kg (Kutsiyah 2012; 2015, Agustina, 2011). Asal usul Sapi Madura merupakan hasil persilangan Sapi Bali (*Bos sondaicus*) dengan dengan Sapi Jawa (*Bos javanicus*), dimana sapi Jawa sendiri merupakan hasil persilangan Sapi Zebu (*Bos indicus*) dan Sapi Eropa (*Bos Taurus*). Sapi ini pada awalnya berkembang biak di pulau Madura dan pulau-pulau kecil di sekitarnya. Kemudian menyebar ke beberapa wilayah di Indonesia seperti Jawa, Sumatera dan Kalimantan. Keunggulan Sapi Madura dengan kondisi fisiknya yang cukup kuat serta daya tahan terhadap panas membuat Sapi Madura dapat dijadikan sumber tenaga kerja, baik untuk mengolah lahan pertanian atau sebagai penarik gerobak. Sapi Madura khususnya yang jantan memiliki kemampuan lari yang hebat yang tidak dimiliki oleh jenis sapi lain.

Keunggulan lainnya merupakan tipe sapi potong yang baik sebab mempunyai dada yang lebar dan dalam dan kualitas daging yang baik. Kelebihan dari daging Sapi Madura seratnya lebih halus, teksturnya lembut dengan kadar lemak dalam daging relatif rendah. Disamping itu mampu beradaptasi terhadap pakan berkualitas rendah. Ciri-ciri fisik sapi Madura antara lain warna tubuh sapi betina kuning kecoklatan dan sapi jantan berwarna merah bata, di bagian pantat dan paha belakang dan kaki bagian

bawah berwarna putih dengan batas yang tidak jelas ekor berwarna hitam. Sekitar mata berwarna hitam serta pinggir telinga berwarna hitam.



Gambar 2.4 Sapi Madura  
(sumber: <https://www.tribunnews.com>)

#### 2.1.1.4 Sapi Brahman

Sapi Brahman disebut sebagai sapi suci di India, merupakan salah satu jenis sapi potong unggul dan tersebar luas di dunia. Ciri-cirinya antara lain memiliki telinga besar dan cenderung menggantung, selain itu telinganya bergerak lemas atau kendur, punuk pun besar dan menonjol di punggung bagian depan dekat kepala. Semua ternak *Bos indicus* termasuk Brahman dicirikan oleh punuk besar di atas bahu dan leher. Warna sapi Brahman bervariasi dari abu-abu sangat muda atau merah hingga hampir hitam. Sebagian besar dari jenis ini berwarna abu-abu terang hingga sedang. Sapi jantan dewasa biasanya lebih gelap daripada sapi dan biasanya memiliki area gelap di leher, bahu, dan paha bagian bawah. Ukuran sapi jantan bisa mencapai 800 kg – 1 ton. Sedangkan sapi betina bisa mencapai 460 – 700 kg. Pertambahan bobot badan setiap harinya mempunyai rata-rata paling tinggi dari sapi jenis lainnya. Karkas yang dihasilkan oleh sapi brahman relatif tinggi. Keunggulan sapi Brahman mempunyai



tingkat adaptasi lingkungan yang baik, jadi peternak tidak harus khawatir mengenai perubahan lingkungan ternak secara tiba-tiba. Sapi Brahman memiliki banyak kulit kendur yang dianggap berkontribusi pada kemampuannya untuk menahan cuaca hangat dengan meningkatkan area permukaan tubuh yang terkena pendinginan.

Sapi Brahman memiliki kelenjar keringat memadai dan kemampuan untuk berkeringat bebas, sapi *Bos indicus* juga menghasilkan sekresi berminyak dari kelenjar sebaceous yang memiliki bau khas dalam mengusir serangga.



Gambar 2.5 Sapi Brahman  
(sumber : <https://duniasapi.com.html>)

Sapi Brahman telah menjadi sangat penting di daerah tropis dalam program introduksi sapi persilangan. Breed sintetis telah dihasilkan dari persilangan tersebut antara lain Brangus - Braford - SimBrah - ChaBray – BeefMaster. Salah satu jenis sapi yang banyak dikembangkan di Indonesia adalah sapi Brahman Cross (BX). Sapi BX merupakan silangan sapi brahman dengan sapi Eropa (Firdausi *et al.* 2012)

#### 2.1.1.5 Sapi Limousin

Sapi limosin atau Limousin adalah sapi yang pertama kali dikembangkan di beberapa negara berasal dari Haute-Vienne Prancis termasuk bangsa *Bos Taurus*. Sapi ini memiliki ciri yaitu mempunyai ukuran tubuh yang besar dan panjang, dengan bulu yang berwarna coklat tua, warna sekeliling mata dan bagian lutut ke bawah berwarna sedikit terang, sapi jantan memiliki tanduk yang tumbuh ke luar yang sedikit melengkung. Sapi Limousin adalah jenis sapi pedaging yang mempunyai nilai jual tinggi. Sapi memiliki tinggi mencapai 1 ½ meter, bulu diseluruh tubuhnya tebal sehingga menutupi seluruh tubuhnya. Sapi limosin memiliki warna mulai dari kuning hingga merah keemasan, memiliki tanduk dengan warna yang cerah. Sapi betina memiliki bobot bisa mencapai 575 kg, sedangkan pada sapi jantan dewasa bobotnya dapat mencapai 1100 kg. Menurut (Yulianto dan Saparinto, 2014), kelebihan sapi limousin yaitu bentuk tubuh panjang, padat, besar, pertumbuhan cepat, fertilitas cukup tinggi, dan mudah melahirkan, dengan bobot lahir mencapai 39-40 kg, sedangkan bobot sapih ±198 kg, tahan terhadap penyakit yang biasanya menyerang jenis sapi lain seperti penyakit anthraks. Sapi limousin murni sulit ditemukan di Indonesia. Sapi limousin yang dipelihara peternak umumnya merupakan hasil persilangan dengan sapi lokal. Kebanyakan sapi limousin yang ada di Indonesia adalah limousin cross. Persilangan tersebut misalnya dengan peranakan ongole (PO), Brahman, Hereford. Persilangan sapi limousin dengan sapi ongole dikenal dengan nama sapi Limpo (Limousin Ongole). Sapi limpo memiliki ciri tidak berpuncuk, tidak

bergelambir, dan warna bulu hanya coklat kehitaman atau coklat muda (Syamsul dan Ruhyadi, 2012).



Gambar 2.6 Sapi Limousin  
(sumber : <https://duniasapi.com.html>)

#### 2.1.1.6 Sapi Angus

Sapi Aberdeen Angus adalah sapi yang berasal dari skotlandia dan merupakan hasil persilangan Bos taurus. Penyebaran sapi ini telah sampai ke berbagai belahan dunia seperti Australia, Amerika, Indonesia maupun sebagian Afrika. Sapi ini tidak begitu tahan penyakit bila berada di daerah tropis. Pertumbuhan sapi ini cukup baik, cepat gemuk dengan pakan kualitas bagus, dagingnya tebal. Presentase karkas dapat mencapai 60% (Purnama dan Cahyo, 2010). Sapi Angus masuk ke Indonesia sekitar tahun 1974 merupakan jenis ternak sapi asli asal timur laut Selandia Baru, 4 daerah Aberdeen, Banff, Kincardine, Angus. Ciri paling khas sapi Angus adalah warnanya yang serba hitam (ala ninja) pada seujur tubuhnya. Jika dalam bahasa Jawa sapi ini sangat mudah diingat karena namanya Angus kalau dalam bahasa jawa bisa berarti

gosong dan semua yang gosong tentunya berwarna hitam jadi klop dengan warna kulit jenis sapi ini. Tinggi Angus mencapai 1,2 meter, dan panjang tubuh 1,8. Sapi Angus termasuk dalam kategori sapi bertubuh besar. Bobot tubuhnya bisa mencapai ukuran 800 sampai 1000 kg saat dewasa, sedangkan berat yang betina dewasa umumnya antara 500 - 750 kg. Postur badannya kompak dengan tubuh yang panjang, ototnya nampak berisi dan komposisi karkasnya banyak.

Ciri fisik sapi Angus lainnya adalah tidak memiliki punuk dan juga tidak mempunyai tanduk, bentuknya agak pendek tetapi gerakannya lincah atau aktif bergerak. Meski bertubuh bulat dan pendek, sapi ini tergolong sangat aktif bergerak, apalagi ditunjang dengan kekuatan dan kekekan kaki yang dimilikinya. Keunggulan dari segi daging, sapi Angus memiliki komposisi daging yang seratnya padat dan halus sehingga sangat disukai, jika dibandingkan dengan jenis sapi lain. Sapi ini tergolong jenis sapi yang mampu tumbuh dengan baik dan cepat dalam berbagai kondisi. Meskipun mereka mendapatkan pakan dengan kualitas rendah, tidak menghalangi cepatnya pertumbuhan tubuh dan dagingnya. Sapi ini mampu beradaptasi dengan berbagai kondisi lingkungan. Meskipun mereka berasal dari daerah sub-tropis, tidak menutup kemungkinan untuk ditanakkan di daerah tropis. Kemampuan beradaptasinya cukup baik dan cepat. Angus adalah ibu yang baik. Indukan sapi Angus menurunkan sifat dan karakter yang baik dalam merawat dan menyusui anak-anaknya (Savić *et al.*, 2013).



Gambar 2.7 Sapi Angus  
(sumber : <https://www.merdeka.com>).

Menurut Law *et al.* (2013) sapi Aberdeen Angus memiliki performan berat hidup dan sesaat setelah disapih, serta produksi susu lebih banyak dibandingkan bangsa sapi lainnya.

#### 2.1.1.7 Sapi Simmental

Sapi Simmental adalah salah satu ras sapi yang biasa juga disebut Swiss Fleckvieh. Nama sapi Simmental diambil dari salah satu nama lembah yang ada di sungai Simme. Sungai tersebut berada di daerah Bernese Oberland, Kanton Bern, Swiss. Badannya panjang, padat dan berisi dengan warna kulit dominan merah beta atau cokelat kemerahan. Pada bagian muka, lutut ke bawah, serta ujung ekor memiliki corak warna putih. Sapi Simmental jantan umumnya memiliki berat sekitar 1.400 Kg. Sedangkan untuk betinanya biasanya memiliki berat antara 600-800 Kg. Pertambahan berat sapi ini mencapai sekitar 1,5 kg hingga 2,1 kg tergantung pakan sapi yang

diberikan. Hal ini dikarenakan sapi Simmental memiliki metabolisme yang sangat cepat. Sapi Simmental memiliki persentase jumlah lemak yang jauh lebih sedikit dibandingkan dengan dagingnya, sehingga beternak sapi Simmental akan memberikan keuntungan bagi peternaknya karena jumlah dagingnya yang banyak. Simmental merupakan sapi potong bertipe besar dan memiliki rumen yang cukup besar, selain itu juga memiliki *voluntary intake* yang tinggi. *Voluntary intake* merupakan kemampuan makhluk hidup untuk menambah konsumsi lebih dari kebutuhan yang sebenarnya, sehingga sangat berpotensi digemukkan.



Gambar 2.8 Sapi Simmental  
(sumber : <https://www.gading.desa.id> )

### 2.1.2 Sapi Persilangan (*Crossbred*)

Memelihara sapi *crossbred* adalah alternatif yang paling optimal dalam sistem produksi sapi potong di Indonesia (Widi, 2015). Sistem perkawinan yang paling banyak digunakan dalam penerapan pemuliaan ternak adalah perkawinan silang.

Perkawinan silang / *cross breeding* merupakan persilangan antar ternak dari bangsa (*breed*) yang berbeda. Alasan perkawinan silang karena dapat digunakan untuk menghasilkan efek *heterosis*, jika efek ini muncul maka produksi rata-rata anak akan melebihi produksi rata-rata tetuanya. *Heterosis* dapat menyebabkan ternak silangan memiliki produksi 1-17% di atas produksi rata-rata tetuanya. Pedet akan tumbuh dengan keunikan dan performa yang lebih baik dari kedua sapi induknya (Leroy *et al.*, 2016). Misalnya saja, sapi Limousin yang di kawin suntik dengan jenis sapi Peranakan Ongole (PO) akan menghasilkan jenis sapi dengan penampilan fisik yang merupakan kombinasi dari kedua jenis sapi tersebut.

Keunggulan sapi persilangan dalam segi pertumbuhan, sapi-sapi *crossbred* ini cenderung memiliki pertumbuhan yang lebih baik dan lebih cepat dibandingkan dengan jenis sapi aslinya atau induknya. Hal ini dikarenakan mereka sudah mengalami proses pemuliaan dengan menggabungkan dua jenis sapi yang memiliki keunggulannya masing-masing melalui proses kawin suntik tersebut. Keunggulan sapi persilangan lainnya adalah persentase karkas yang akan dihasilkan pun akan jauh lebih baik dan lebih tinggi dibandingkan dengan jenis sapi induknya, rendemen karkas sapi *crossbred* bisa mencapai 50% atau bahkan lebih tinggi. Pertumbuhan harian atau ADG bisa mencapai 1 kilogram (kg) per hari bila diberikan pakan dengan kualitas baik.

#### 2.1.2.1 Sapi Peranakan Ongole (PO)

Pada tahun 1906, sapi ongole didatangkan langsung dari Madras di India ke Pulau Sumba. Selanjutnya, tahun 1916 sapi ongole yang sudah berkembang biak di

sumba mulai menyebar ke tempat-tempat lain di Indonesia dengan sebutan Sumba Ongole (SO). Pada tahun 1930-an, pemerintah Hindia-Belanda dengan kebijakan di bidang perternakan yang disebut ongolisasi mengawinsilangkan sapi SO dengan sapi Jawa, untuk memperbaiki ukuran dan bobot badan sehingga lahirlah sapi Peranakan Ongole (PO) (Murtidjo, 2012).

Sapi Peranakan Ongole memiliki bulu berwarna putih atau kelabu, bentuk kepala pendek melengkung, telinga panjang menggantung, dan perut agak besar. Pada sapi PO jantan, kadang dijumpai bercak-bercak berwarna hitam pada lututnya, mata besar terang, dan dilingkari kulit berjarak sekitar 1 cm dari mata berwarna hitam. Ciri khas yang membedakan sapi PO dengan sapi-sapi lainnya adalah ponok di atas gumba, kaki panjang berurat kuat, serta ada gelambir menggantung dari bawah kepala, leher sampai perut. Saat dewasa, jantan PO bisa mencapai bobot sekitar 600 kg dan yang betina rata-rata 450 kg. Pertambahan bobot sapi PO berkisar antara 0,4 - 0,8 kg/hari. Sapi PO murni mulai sulit ditemukan karena telah banyak disilangkan dengan sapi Brahman. Sapi PO berdasarkan sifat induk persilangannya terkenal sebagai sapi pedaging dan sapi pekerja, mempunyai kemampuan adaptasi yang tinggi pada perbedaan kondisi lingkungan, tenaga yang kuat, serta aktivitas reproduksi induknya cepat kembali normal setelah beranak. Persilangan sapi Ongole dengan sapi lokal Indonesia, tipe sapi pedaging dan sapi pekerja, mampu beradaptasi terhadap berbagai kondisi lingkungan, cepat bereproduksi, berat badan 600 kg dengan pertambahan bobot harian 0,75 kg/ekor/hari (Murtidjo, 2012).





Gambar 2.9. Sapi Peranakan Ongole/PO  
(sumber : <https://www.agrifarming.in>)

#### 2.1.2.2 Sapi Simpo (Simmental - PO)

Sapi Simmental murni sulit ditemukan di Indonesia. Kebanyakan sapi Simmental yang ada di Indonesia merupakan sapi Simmental *cross* atau telah disilangkan dengan sapi lain. Salah satunya adalah hasil persilangan dengan sapi ongole yang dikenal dengan sapi Simmental Ongole (Simpo). Sapi Simpo sudah tidak memiliki gelambir dengan bulu berwarna merah bata, merah tua, hingga coklat muda.

Ciri khas sapi Simpo adalah adanya warna putih berbentuk segitiga diantara kedua tanduknya. Para peternak bisanya sangat menyukai sapi ini dibandingkan dengan sapi PO, karena sapi Simpo adalah sapi unggulan dimana saat memeliharanya pertumbuhan bobot harinya bisa mencapai 2 kg/hari. Sapi Simpo hasil inseminasi buatan telah mewariskan 50% sifat dari kedua sapi ini. Sapi PO lebih tahan akan panas jika kita bandingkan dibandingkan dengan sapi Simmental, sedangkan pertumbuhan bobot harian Simmental lebih tinggi dibandingkan dengan sapi Ongole (Murtidjo, 2012).



Gambar 2.10. Sapi Peranakan Simmental Ongole (Simp)  
(sumber : <https://icar.org>)

#### 2.1.2.3 Sapi Limpo (Limousin - PO)

Persilangan sapi limousin dengan sapi ongole dikenal dengan nama sapi limousin ongole (Limpo). Sapi limpo memiliki ciri tidak berpuncuk dan tidak bergelambir, serta warna bulunya hanya coklat tua kehitaman dan coklat muda. Sapi Limpo merupakan sapi hasil persilangan antara pejantan sapi Limousin dengan induk sapi PO kebanyakan sapi-sapi ini merupakan hasil perkawinan IB, sapi Limpo sebagai turunan sapi tipe besar sehingga secara genetik mempunyai laju pertumbuhan yang lebih besar dan lebih cepat dibanding sapi PO.

Hastuti (2007) menyatakan bahwa karakteristik eksterior sapi Limpo adalah warna sekitar mata bervariasi coklat sampai hitam, moncong warna hitam dengan sebagian kecil berwarna merah. Peternak lebih menyukai sapi jenis ini dibanding sapi lokal karena berat lahir yang lebih besar, pertumbuhan lebih cepat, adaptasi baik pada

lingkungan serta pakan yang sederhana, ukuran tubuh dewasa lebih besar dan penampilan yang eksotik.



Gambar 2.11. Sapi Peranakan Limousin Ongole (Limpo)  
(sumber : <https://www.facebook.com/106490101148286/>)

Perbedaan tampilan fisik sapi Limpo dan Simpo yaitu sapi Limpo, variasi warna bulu badannya hanya coklat tua dan coklat putih. Warna bulu badan sapi Simpo yang paling dominan munculnya saat lahir dan semakin dominan ketika sapi semakin tua adalah merah bata. Warna merah tua yang jarang muncul pada saat sapi lahir, menjadi semakin banyak muncul pada saat sapi lepas sapih karena ada sapi yang mengalami perubahan warna menjadi merah tua saat lepas sapih dari coklat muda saat lahir.

#### 2.1.2.4 Sapi Persilangan Simmental Bali (Simbal)

Sapi Bali mampu beradaptasi di berbagai lingkungan pemeliharaan, serta memperlihatkan kemampuan untuk berkembang biak. Daya adaptasi yang sangat tinggi terhadap lingkungan ditunjukkan dengan kemampuan memanfaatkan pakan yang berkualitas rendah, tetapi fertilitas dan *conception rate* yang baik (Rachma *et al.* 2011). Lebih lanjut dijelaskan bahwa sapi Bali memiliki tingkat pertumbuhan yang rendah di

banding sapi-sapi *Bos taurus*. Produktivitas sapi Bali dapat ditingkatkan melalui seleksi atau persilangan. Pemerintah provinsi Sulawesi Selatan melakukan dua kebijakan untuk memacu produksi sapi Bali, yaitu melalui seleksi dan juga melakukan persilangan antara indukan sapi Bali dengan beberapa bangsa pejantan. Diantara bangsa pejantan yang digunakan adalah sapi Simmental yang merupakan salah satu sapi *Bos taurus* dengan kerangka tubuh yang besar. Sapi Simmental memiliki tingkat pertumbuhan yang tinggi (Khairi, 2016). Simbal merupakan anak hasil persilangan antara indukan sapi Bali dan pejantan sapi Simmental (Depison, 2010). Namun informasi tentang tingkat produktivitas kedua bangsa sapi ini belum banyak diketahui. Upaya yang saat ini dilakukan yaitu melalui identifikasi lanjut tingkat produktivitas kedua bangsa sapi ini, salah satunya dengan karakterisasi kuantitatif yang bersifat ekonomis. Berdasarkan hasil penelitian (Depison dan Ediyanto, 2021), hasil analisis statistik uji beda rata-rata bobot badan dan penambahan bobot badan sapi Bali jantan, betina serta koreksi betina ke jantan berbeda nyata dengan sapi Simbal. Perbedaan ini diduga karena bangsa sapi Simbal memiliki postur tubuh yang lebih besar dibandingkan bangsa sapi Bali. Hal ini sesuai dengan pendapat Kocu *et al.* (2019) bahwa perbedaan bobot badan antara sapi Bali dan sapi Simbal disebabkan karena sapi persilangan Simmental Bali merupakan ternak dengan ukuran kerangka besar sedangkan sapi bali merupakan ternak dengan ukuran kerangka kecil. Perbedaan bangsa ternak akan berpengaruh terhadap produksi daging sapi (Setiyono *et al.* 2017). Pertambahan bobot badan yang berbeda antara sapi Bali dan sapi Simbal dikarenakan Sapi Bali memiliki pertumbuhan relatif lebih lambat daripada sapi hasil persilangan

Simmental dan Bali (Syaiful *et al.*, 2020). Menurut Depison (2010), bahwa Bobot badan anak hasil persilangan antara sapi Bali dan pejantan Simmental lebih tinggi daripada anak hasil persilangan sapi Bali dengan pejantan PO, Brahman dan Limousin.

## **2.2 Performan Fisik Sapi**

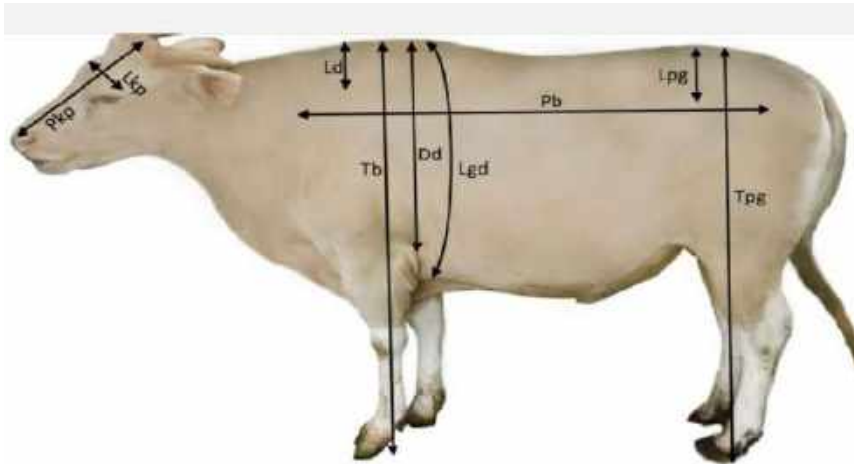
### **2.2.1 Ukuran Tubuh**

Kecepatan pertumbuhan tubuh ternak bisa diketahui berdasarkan pola pertumbuhan dari setiap dimensi tubuh. Menurut Rianto dan Endang (2011) bahwa penampilan sapi jantan yang baik dapat diukur dengan pengukuran dimensi tubuhnya berupa pengukuran bobot badan, tinggi pundak, panjang badan dan lingkar dada. Menurut Ni'am *et al.* (2012) bahwa dengan bertambahnya bobot badan maka bertambah pula ukuran lingkar dada dan sebaliknya, bertambah lingkar dada maka bertambah pula bobot badan sesuai dengan umur, bobot hidup menunjukkan volume dan tinggi pundak, tinggi pinggul, panjang badan dan lingkar dada sapi kerangka besar sapi Ballim (Bali-Limousin) dan Balsim (Bali-Simmental) menunjukkan lebih tinggi daripada sapi lokal. Menurut Susanti *et al.* (2015), pertumbuhan sapi hasil persilangan akan dipengaruhi oleh pejantan yang digunakan dalam perkawinan/inseminasi ternak. Pertambahan umur ternak maka semakin meningkat pula ukuran tubuh dan bobot tubuh ternak (Ismirandy, 2018).

Pengukuran karakteristik fenotip dapat membantu untuk memfasilitasi seleksi dan persilangan antara keturunan dan jenis ternak tergantung keragaman genetik

(Kurnianto *et al.*, 2013). Ukuran tubuh seperti lingkar dada, panjang badan dan tinggi badan/ gumba dapat digunakan untuk menaksir berat badan sapi berdasarkan rumus Schoorl, Lambourne, Winter dan Denmark (Ni'am dkk., 2012).

Lingkar dada (*chest circumference*) merupakan ukuran panjang kulit yang mengelilingi dada. Kegunaan lingkar dada pada sapi perah adalah untuk mengestimasi bobot badan. Lingkar dada pada hewan yang sedang tumbuh dapat dikatakan bahwa setiap lingkar dada bertambah 1% maka bobot badan bertambah lebih kurang 3% (Permadi dan Aryanto, 2011). Berat badan sebagai salah satu indikator pertumbuhan sapi dan reproduksinya dapat diwakili dengan pengukuran lingkar dada (Fourie dkk., 2002). Menurut Maskur (2019) lingkar dada memiliki koefisien korelasi yang paling tinggi terhadap bobot badan diikuti panjang badan dan tinggi pinggul. Lingkar dada adalah lingkaran yang diukur pada dada atau persis di belakang siku, tegak lurus dengan sumbu tubuh. Panjang badan, diukur secara lurus dengan tongkat ukur dari siku (*humerus*) sampai benjolan tulang tapis (*tuber ischii*). Tinggi badan ialah jarak tegak lurus dari titik tertinggi pundak sampai ke tanah atau lantai, alat yang digunakan adalah tongkat ukur. Ukuran tubuh sapi dapat dilihat pada Gambar 2.12



Keterangan : Lkp = lebar kepala, Pkp = panjang kepala, Ld = lebar dada, Tb = tinggi badan, Dd = dalam dada, Lgd = lingkaran dada, Pb = panjang badan, Lpg = lebar panggul, Tpg = tinggi panggul).

Gambar 2.12 Ukuran Tubuh Sapi  
(Sumber: Researchgate.net / Scientific Diagram)

Berdasarkan hasil penelitian Syaiful, dkk (2020) Sapi Simbal mempunyai pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan sapi Bali, sehingga terdapat perbedaan pada ukuran lingkaran dada, panjang badan dan tinggi badannya. Rusfidra (2007) menyatakan bahwa potensi persilangan antar populasi yang berbeda bangsa akan nampak secara visual pada turunan persilangannya, ternak yang dikawinkan berbeda bangsa akan mewarisi turunan fenotipe pada hasil persilangannya. Perbedaan ukuran tubuh pada sapi dipengaruhi oleh faktor genetik, lingkungan, pakan, manajemen dan jenis kelamin.

## 2.2.2 Pemeriksaan Hematologi dan Kimia Darah Sapi

### 2.2.2.1 Hematologi

Kondisi fisiologis hewan dapat dilihat atau ditentukan dari pemeriksaan hematologi. Adanya gangguan metabolisme, penyakit, kerusakan struktur atau fungsi

organ, pengaruh agen/obat, dan stress dapat diketahui dari perubahan profil darah (Iheidioha *et al.*, 2012). Studi tentang morfologi sel darah merah, sel darah putih dan hematologi yang sering digunakan untuk mengukur derajat kesehatan hewan presentase hematokrit (PCV), jumlah sel darah putih (WBC). Nilai hematokrit sering disebut sebagai PCV. Hematokrit merupakan perbandingan presentase eritrosit di dalam volume darah utuh (Siswanto, 2011)

Fungsi darah adalah untuk membawa nutrien yang telah disiapkan oleh saluran pencernaan menuju ke jaringan tubuh, mengantarkan oksigen dari paru paru ke jaringan tubuh, mengangkut produk buang dari berbagai jaringan menuju ginjal untuk diekskresikan, mengangkut hasil sekresi kelenjar endokrin (hormon) dan enzim dari organ ke organ, ikut berperan dalam mempertahankan keseimbangan air, sistem buffer seperti bikarbonat di dalam darah membantu mempertahankan pH yang konstan pada jaringan dan cairan tubuh, berperan penting dalam pengendalian suhu tubuh dengan cara mengangkut panas dari struktur yang lebih dalam menuju ke permukaan tubuh (Roland, Drillich, Iwersen, 2014). Fungsi lain darah yaitu mengatur konsentrasi ion hydrogen dalam tubuh /keseimbangan asam dan basa, membantu pertahanan tubuh terhadap penyakit, pembekuan darah pada luka mencegah terjadinya kehilangan darah yang berlebihan pada waktu luka serta mengandung faktor-faktor penting untuk pertahanan tubuh terhadap penyakit. Darah adalah jaringan cair yang terdiri atas dua bagian yaitu plasma darah dan sel darah. Volume darah secara keseluruhan adalah satu per dua belas berat badan. Sekitar 55% adalah plasma darah, sedangkan 45% sisanya terdiri dari sel darah. Sel darah terdiri atas tiga jenis yaitu eritrosit yang tampak merah



karena kandungan hemoglobin (Hb) nya, sel darah putih atau leukosit dan trombosit (keping-keping darah) yang merupakan keping-kepingan halus sitoplasma (Saravanan, Umapathi, Priyanka, *et al.* 2020).

Darah terdiri dari sel-sel yang terendam dalam cairan yang disebut plasma. Sebagian besar sel-sel darah berada di dalam pembuluh-pembuluh, akan tetapi leukosit dapat bermigrasi melintasi dinding pembuluh darah guna melawan infeksi. Darah mengandung sekitar 80% air dan 20% bahan organik, sedangkan bahan anorganik kurang dari 1%. Viskositas darah adalah 3 sampai 5 kali viskositas air, derajat keasaman (pH) berkisar antara 7-7,8 mempunyai sistem buffer, kemampuan mempertahankan pH darah di dalam batas-batas yang relatif sempit karena adanya buffer kimia terutama natrium bikarbonat (Kim *et al.*, 2015).

Menurut Syam dkk (2016), peran utama darah adalah sebagai media transportasi untuk membawa oksigen dari paru-paru ke sel-sel jaringan tubuh, membawa bahan makanan dari usus ke sel-sel tubuh, mengangkut zat-zat tak terpakai sebagai hasil metabolisme untuk dikeluarkan dari tubuh, mentransfer enzim-enzim dan hormon, mengatur suhu tubuh, keseimbangan cairan asam-basa, pertahanan tubuh terhadap infiltrasi benda-benda asing dan mikroorganisme serta ikut berperan dalam mempertahankan keseimbangan air serta penggumpalan/pembekuan darah, untuk mencegah terjadinya kehilangan darah yang berlebihan pada waktu luka. Ayadi *et al.*, (2017) menyatakan, bahwa darah merupakan jaringan cair yang terdiri atas dua bagian yaitu plasma darah dan sel darah. Sel darah terdiri dari tiga jenis yaitu trombosit, leukosit dan eritrosit.

#### 2.2.2.1.1 Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin (Hb) adalah metaloprotein (protein yang mengandung zat besi) di dalam sel darah merah yang berfungsi sebagai pengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh pada mamalia dan hewan lainnya. Hemoglobin (Hb) juga pengusung karbon dioksida kembali menuju paru-paru untuk dihembuskan keluar tubuh. Molekul Hemoglobin (Hb) terdiri dari globin, apoprotein, dan empat gugus heme, suatu molekul organik dengan satu atom besi (Syam dkk., 2016). Menurut Moretti, *et al* (2015) faktor-faktor yang mempengaruhi kadar Hemoglobin (Hb) adalah:

##### a. Kecukupan Zat Besi

Zat Besi sangat penting dalam pembentukan Hemoglobin (Hb), Besi juga termasuk mikronutrien essensial dalam memproduksi Hemoglobin (Hb) yang berfungsi mengantar oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh. Besi berperan dalam sintesis Hemoglobin (Hb) dalam sel darah merah dan mioglobin dalam sel otot. Kurang lebih 4% besi di dalam tubuh berada sebagai mioglobin dan senyawa-senyawa besi sebagai enzim oksidatif seperti sitokrom dan flavoprotein. Walaupun jumlahnya sangat sedikit namun sangat berperan penting dalam proses oksidasi untuk menghasilkan adenosin tri phosphat (ATP) yang merupakan molekul berenergi tinggi.

##### b. Metabolisme Besi dalam Tubuh

Besi berada didalam sel-sel darah merah atau Hemoglobin (Hb) (lebih dari 2,5 g), myoglobin (150 mg), phorphyrin cytochrome, hati, limpa sumsum tulang (>200-1500 mg). Ada dua bagian besi dalam tubuh, yaitu bagian fungsional dan cadangan. Bagian fungsional adalah bagian yang digunakan untuk keperluan metabolik dan

bagian yang merupakan cadangan. Hemoglobin (Hb), myoglobin, sitokrom, serta enzim hem dan non-hem adalah bentuk fungsional. Sedangkan besi cadangan, dibutuhkan untuk fungsi fisiologis dan jumlahnya 5-25 mg/kg dari berat badan. Ferritin dan hemosiderin adalah bentuk besi cadangan yang pada umumnya terdapat pada hati, limpa dan sumsum tulang belakang. Metabolisme besi dalam tubuh terdiri dari proses absorpsi, pengangkutan, pemanfaatan, penyimpanan dan pengeluaran.

#### 2.2.2.1.2 Hematokrit (Ht)

Hematokrit (Ht) merupakan suatu hasil pengukuran yang menyatakan perbandingan sel darah merah terhadap volum darah. Kata Hematokrit (Ht) berasal dari bahasa Yunani, yaitu hema (berarti darah) dan krite (yang memiliki arti menilai atau mengukur). Secara harafiah, hematokrit (Ht) berarti mengukur atau menilai darah. Sebagai hewan yang diunggulkan, sapi bali mempunyai mutu yang tinggi, dan nilai mutu ini ditentukan oleh faktor fisik dan genetik. Faktor genetik ditentukan oleh keadaan fisiologis sapi itu sendiri, dan keadaan fisiologis dapat dilihat atau ditentukan dari profil darahnya, misalnya jumlah eritrosit, kadar hemoglobin (Hb), dan nilai hematokrit (Ht) nya. Sehingga mengetahui profil darahnya dengan tujuan mengetahui fisiologis hewan adalah penting untuk dilakukan (Adili, Melizi, Belabbas, 2016).

#### 2.2.2.1.3 MCV, MCH dan MCHC

Indeks RBC seperti rata-rata volume sel hidup (MCV) yang mendefinisikan ukuran (volume) RBC telah sama pentingnya dalam penilaian anemia (Doig dan Zhang, 2017), MCH atau *mean corpuscular hemoglobin* adalah pengukuran yang menjelaskan jumlah rata-rata hemoglobin dalam satu sel darah merah/ eritrosit.

Berbeda dengan MCH, MCV menggambarkan ukuran rata-rata sel darah merah, sedangkan MCHC /*mean corpuscular hemoglobin concentration* menggambarkan konsentrasi rata-rata hemoglobin di dalam sel darah merah. Hasil MCH cenderung adalah cerminan dari hasil MCV. Ini karena sel darah merah yang berukuran lebih besar umumnya mengandung lebih banyak hemoglobin, begitu pula sebaliknya. *Mean Cell Hemoglobin* (MCH) dapat dihitung dari nilai Hemoglobin (dalam gm/dl) dan Jumlah Sel Merah Total (dalam juta/mm<sup>3</sup>) sebagai berikut:

$MCH = \text{hemoglobin (dalam gram/dl)} \times 10 / \text{jumlah sel merah (dalam juta/mm}^3\text{)}$ . Jumlah hemoglobin sangat rendah sehingga dinyatakan dalam pikogram atau pg (10-12 gram). Nilai MCH normal sapi bali hasil penelitian Diparayoga dkk (2014) yaitu 11,6 - 15,2 pg.

MCV (*Mean Corpuscular Volume*) / volume sel rata-rata adalah pengukuran ukuran rata-rata sel darah merah. Nilai MCV meningkat diistilahkan *macrocytes* (*macrocytic*) biasanya ditemukan pada kasus *megaloblastic* anemia, gangguan fungsi hati, reticulosis. MVC normal *normocytes normocytic*, dan penurunan nilai MCV ditandai *microcytes* (*microcytic*) biasanya disebabkan anemia karena defisiensi zat besi, Thalassemia, anemia hemolytic. MCV dapat dihitung dari nilai volume sel yang dikemas (dalam %) dan jumlah total sel darah merah (dalam juta / mm<sup>3</sup>) sebagai berikut :

$MCV = PCV \text{ (dalam\%)} \times 10 / \text{Jumlah Sel Merah (dalam juta/mm}^3\text{)}$ , MCV dinyatakan dalam Femtoliters atau fl (10-15 liter). Nilai MCV normal sapi bali menurut Diparayoga dkk (2014) yaitu 39 fl - 50 fL.

MCHC/konsentrasi hemoglobin sel rata-rata mengacu pada konsentrasi hemoglobin dalam 1 desiliter atau 1 liter sel darah merah yang dikemas. MCHC dapat dihitung dengan kandungan hemoglobin (dalam gram/dl) dan Volume Sel Yang Dikemas (dalam %).  $MCHC = \text{Hemoglobin (dalam gram/dl)} \times 100 / \text{Volume Sel yang dikemas (dalam\%)}$ . Nilai MCHC normal sapi bali menurut Diparayoga dkk (2014) yaitu 29,8 - 33,0 g/dL. Nilai MCHC yang lebih tinggi dari normal disebut hiperkromik atau konsentrasi Hb dalam darah lebih tinggi dari normal, kondisi ini dikarenakan terjadinya hemolisis yaitu pecahnya sel darah merah dan keluarnya hemoglobin ke dalam plasma, hal ini mengakibatkan terjadinya kondisi hemoglobinemia yaitu kondisi dimana hemoglobin (Hb) bebas di plasma darah sehingga menyebabkan hemoglobin dalam plasma darah ikut terhitung saat pengukuran konsentrasi hemoglobin, ini yang menyebabkan nilai MCHC cenderung lebih tinggi dari normal (Stockham dan Scott 2008). Selain itu, menurut Siswanto dkk (2014) ada beberapa faktor yang memengaruhi antara lain nutrisi, lingkungan, penyakit, penyimpanan darah.

#### 2.2.2.2 Kimia Darah

Kadar protein hematologis dan serum telah dievaluasi pada reaktor tuberkulin dan sapi perah non-reaktor di Irak dan juga menemukan beberapa perubahan signifikan (Salman *et al.*, 2013). Di India, Shettar *et al.*, (2011) membandingkan parameter hematologis dan biokimia dari peternakan sapi perah yang terorganisir dan mengamati variasi signifikan dari beberapa parameter antara hewan reaktor dan non-reaktor tuberkulin. Analisis biokimia serum darah sangat berguna untuk mendapatkan gambaran status metabolisme dan kesehatan hewan. Menurut Bari *et al.*, (2018)

parameter hematobiokimia bisa menjadi indeks yang baik untuk diagnosis penyakit pada hewan.

Albumin yang utama adalah sebagai pengatur tekanan osmotik dalam darah. Jika keseimbangan albumin terganggu, maka akan berpotensi menyebabkan terjadinya kebocoran cairan dari dalam pembuluh darah ke jaringan sekitar sehingga menyebabkan kadar SGOT yang merupakan salah satu enzim penting pada organ hati akan meningkat jika ada kerusakan sel-sel hati. Organ hati merupakan salah satu *extrapulmonary tuberculosis* (Hickey *et al.*, 2016).

Pengukuran aktivitas plasma dari enzim AST, SGPT, ALT, SGOT, alkalin fosfatase, dan  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase adalah cara yang sering dilakukan untuk mendeteksi kerusakan hati pada hewan. Enzim-enzim tersebut merupakan enzim intraselluler yang akan dilepaskan saat terjadi kematian sel hati. Enzim transaminase dijumpai dalam jumlah besar pada jaringan tertentu, seperti pada hati (SGOT) dan (SGPT) atau jantung (SGPT). Adanya peningkatan kadar SGOT dan atau SGPT dalam darah mengindikasikan terjadinya nekrosis dari jaringan-jaringan tersebut. Urea merupakan produk akhir dari proses katabolisme asam amino, disintesis oleh hati (ureogenesis) dan 90% dieliminasi melalui urin. Hati mengubah NH<sub>3</sub> yang berasal dari metabolisme protein menjadi urea yang diekskresi lewat ginjal. Kreatinin merupakan komponen nonprotein nitrogen yang difiltrasi bebas oleh glomerulus dan tidak direabsorpsi oleh tubulus seperti halnya urea. Kreatinin terbentuk dari kreatin dan kreatinfosfat. Keratin terdapat dalam otot, otak, dan darah baik dalam bentuk kreatinfosfat maupun dalam bentuk bebas. Trigliserida adalah salah satu jenis lemak

yang terdapat dalam darah dan berbagai organ dalam tubuh. Dari sudut ilmu kimia trigliserida merupakan substansi yang terdiri dari gliserol yang mengikat gugus asam lemak. Trigliserida dalam tubuh digunakan untuk menyediakan energi berbagai proses metabolisme. Fungsi lipid ini mempunyai peranan yang hampir sama dengan karbohidrat. Sebagian besar trigliserida di sintesis dalam hati tetapi ada juga yang disintesis di dalam jaringan adiposa. Trigliserida yang ada dalam hati kemudian ditransport oleh lipoprotein ke jaringan adipose, dimana trigliserida juga disimpan untuk energi (Puppel dan Kuczyńska, 2016; Molefe dan Mwanza 2019; Zaitsev, *et al.*, 2020).

Alkali fosfatase adalah jenis enzim hidrolase yang ditemukan pada sebagian besar organ tubuh. ALP terdistribusi luas di sepanjang membran permukaan sel yang aktif secara metabolik. Dalam jumlah besar ditemukan di dalam hati, tulang, ginjal dan plasenta. Dalam sel, ALP muncul karena terlibat dalam pembelahan senyawa yang mengandung fosfat. Dalam tubuh manusia terdapat macam-macam bentuk (isoenzim) di berbagai jaringan, yaitu plasenta, usus, tulang, ginjal dan hati (Sacher & Mc Pherson, 2004; Syed, 2009; Pincus, 2011). Alkali fosfatase adalah milik sekelompok enzim yang mengkatalis hidrolisis berbagai phosphomonoester dalam suasana basa. ALP adalah enzim monospesifik yang mampu bereaksi dengan banyak substrat yang berbeda. Secara khusus, fungsi ALP adalah untuk membebaskan fosfat anorganik dari ester fosfat organik bersamaan dengan produksi alkohol.

### 2.3 DNA Barcode

Identifikasi dengan DNA *barcode* dapat dilakukan dalam mengidentifikasi spesies dengan tingkat akurasi yang tinggi, dan dapat menjawab tantangan dalam identifikasi secara cepat dan akurat, tetapi hal tersebut juga bergantung pada database yang baik dan lengkap (Bingpeng *et al.*, 2018; Saleky & Dailami, 2021). Seiring dengan kemajuan pesat biologi molekuler, gen COI pada genom mitokondria menjadi starting point dalam penelitian taksonomi dan filogenetika molekuler. Gen COI menjadi marka spesifik-spesies untuk identifikasi secara molekuler khususnya pada hewan, sedangkan ITS, mat-k dan rbc1 untuk tumbuhan. DNA *barcode* menjadi pusat perhatian taksonom dunia, karena memiliki 2 tujuan, yaitu untuk identifikasi molekuler yang sudah terdeskripsikan maupun spesies yang belum terdeskripsikan. Sebelum mengupas tuntas penelitian identifikasi molekuler menggunakan DNA *barcode*, kita akan pahami terlebih dahulu pengertian DNA *barcode* dan sejarah DNA *barcode* hingga menjadi starting point dalam dunia taksonomi molekuler. DNA barcode merupakan suatu teknik menggunakan sekuen DNA yang berukuran pendek, yang digunakan untuk mempercepat dan mempermudah proses identifikasi suatu spesies.

Identifikasi organisme yang pada awalnya hanya berdasarkan karakter morfologi saat ini telah berkembang ke arah taksonomi molekuler, dimana pengelompokan dilakukan berdasarkan kemiripan gen yang dimiliki organisme. Namun, DNA *barcode* yang telah ada saat ini tidak bisa dipakai bagi tumbuhan secara universal, karena adanya keragaman yang sangat tinggi pada tumbuhan. DNA *barcode* merupakan salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk menganalisis variasi



genetik. DNA *barcode* dapat memberikan kontribusi kuat untuk penelitian keanekaragaman hayati dan taksonomi.

DNA *barcode* adalah urutan sekuen pendek DNA yang telah terstandarisasi untuk identifikasi spesies hewan secara tepat, cepat, dan akurat. DNA *barcode* sebagai sekuen pendek DNA yang telah terstandarisasi digunakan untuk identifikasi dan penemuan spesies secara cepat. Hal ini dapat disimpulkan bahwa DNA *barcode* dicirikan sebagai urutan sekuen pendek DNA yang “unik”, sehingga menunjukkan variasi genetik di dalam setiap spesies, juga diantara spesies. Teknik DNA *barcode* dapat digunakan untuk mengidentifikasi semua bentuk tingkatan kehidupan mulai dari telur, larva, pupa sampai dewasa. Casiraghi *et al.* (2010) menjelaskan bahwa DNA *barcode* adalah alat molekuler dan bioinformatika untuk identifikasi spesies biologi. Awal mula ide dasar pemanfaatan DNA *barcode* adalah untuk analisis variabilitas marka molekuler terstandar, dapat memungkinkan untuk membedakan identitas taksa hingga tingkat spesies.

Metode ini didasarkan pada asumsi bahwa variasi genetik di antara spesies melebihi variasi di dalam spesies. Analisis DNA *barcode* yang ideal mencerminkan distribusi variabilitas intraspecies dan interspecies, memberikan peluang yang sangat cepat dan akurat sebagai marker untuk identifikasi berbagai variasi taksa dan mengungkapkan beberapa kelompok hewan yang belum diketahui tingkat taksonominya (Rahayu & Nugroho, 2015). Perintis pertama kali penggunaan DNA *barcode* adalah Dr. Paul Hebert dan kawan-kawan. Beliau berasal dari Universitas Guelph, Kanada pada tahun 2003. Beliau berhasil mengidentifikasi dan

mendiferensiasi spesies (yang berasal dari sepihan, potongan organ, bahkan pradewasa suatu organisme) dengan hanya menggunakan sekuen gen pendek.

Publikasi Hebert dkk. (2003) telah menggemparkan para ahli taksonomi, genetik dan biologi evolusi dunia pada saat itu. Barcode dengan sekuen pendek dari genom mitokondria diibaratkan seperti mesin scanner yang biasa digunakan di supermarket untuk mengetahui identitas dari suatu barang dengan tepat dan cepat. Jika dua organisme dilihat dengan kasat mata merupakan organisme yang sangat mirip, namun berbeda dengan kasus penggunaan DNA *barcode* tersebut. Karakteristik DNA *barcode* yaitu sekuen DNA bersifat ortolog, memiliki variabilitas yang cukup untuk membedakan antar spesies, dan dapat menunjukkan variabilitas rendah dalam individu yang termasuk spesies yang sama. Pemilihan jenis DNA *barcode* dalam studi taksonomi harus memperhatikan beberapa hal yaitu harus ada dalam semua taksa yang dibandingkan, memiliki pengetahuan tentang gen atau wilayah genom lainnya untuk mengembangkan primer, tingkat evolusi gen harus sesuai dengan tingkat takson yang diteliti, mudah dilakukan alignment, dan bersifat homolog (Virgilio, 2012).

### 2.3.1 Sumber DNA Barcode

Sumber sekuen DNA yang digunakan dalam taksonomi molekuler dapat diperoleh dari inti (nDNA), kloroplas (cpDNA), dan mitokondria DNA (mtDNA). Tabel 1 dibawah ini menunjukkan spesifikasi gen yang dapat digunakan sebagai karakter dalam identifikasi spesies.

Tabel 2.1 Sumber DNA Barcode

Gen	Lokasi Genom
<i>COI</i> -barcode ( <i>cytochrome-c oxidase sub unit I</i> )	Mitokondria
<i>16 S-rDNA</i>	Mitokondria
<i>Cyt-b</i> ( <i>Cytochrome b</i> )	Mitokondria
<i>ITS1-rDNA</i> ( <i>Internal Transcribed Spacer</i> )	Inti
<i>ITS 2-rDNA</i> ( <i>Internal Transcribed Spacer</i> )	Inti
<i>18S-rDNA</i>	Inti
<i>rbcL</i> ( <i>Large Sub Unit of Riboluse 1,5- biphospate carboxylase/oxygenase</i> )	Plastida
<i>matK</i>	Gen di kloroplas

Gen yang banyak digunakan sebagai penanda barcode tersebut dari gen pengkode protein antara lain cytochrome c oxidase I (COI) dan cytochrome b (cyt-b), sedangkan dari gen RNA ribosom adalah 12S rRNA dan 16S rRNA. Penggunaan gen ribosom biasanya untuk taksa yang lebih tinggi, seperti tingkat suku (famili) atau marga (ordo), sedangkan gen pengkode protein dapat berada pada tingkat spesies maupun subspecies hingga spesies yang memiliki kekerabatan sangat dekat sekalipun. Sekuen DNA yang sering digunakan dalam penelusuran hubungan kekerabatan, penelusuran evolusi suatu spesies, dan sistematika molekular adalah DNA mitokondria (Chinnery dan Hudson G, 2013; Yan C, *et al.*, 2019).

DNA mitokondria memiliki laju mutasi sepuluh kali lipat lebih tinggi daripada DNA inti, tidak memiliki intron, jarang terjadi rekombinasi, DNA mitokondria bersifat monofiletik, diturunkan secara maternal dalam bentuk haploid berdasarkan garis keturunan maternal, DNA mitokondria memiliki jumlah salinan DNA yang sangat banyak dalam organelnya, dan pada sel yang sama terdapat 100-10.000 salinan genom mitokondria. Oleh sebab itu, untuk mengisolasi DNA mitokondria lebih mudah

daripada DNA inti (Saccone dkk., 1999; Rubinoff, 2006). Selain itu, pencarian filogenetik sering menggunakan DNA mitokondria karena sangat berguna dalam mempelajari hubungan spesies dan taksa yang baru saja bercabang (Bogenhagen, 2012; Rahayu & Nugroho, 2016).

DNA mitokondria hewan secara umum memiliki jumlah dan jenis gen yang sama yaitu terdiri atas 37 gen, dengan 13 gen pengkode protein (URF1, URF2, URF3, URF5, URF6, URFA6L, URF4L, *Cytochrome Oxidase Unit I*, *Cytochrome Oxidase II*, *Cytochrome Oxidase Unit III*, *Cytochrome b*, dan *ATP ase 6*), 22 gen pengkode *transfer RNA (tRNA)* dan 2 gen ribosomal (*12S rRNA* dan *16S rRNA*). Setiap gen memiliki karakter tersendiri dalam penelusuran hubungan kekerabatan suatu spesies (Garcia, dkk 2017).

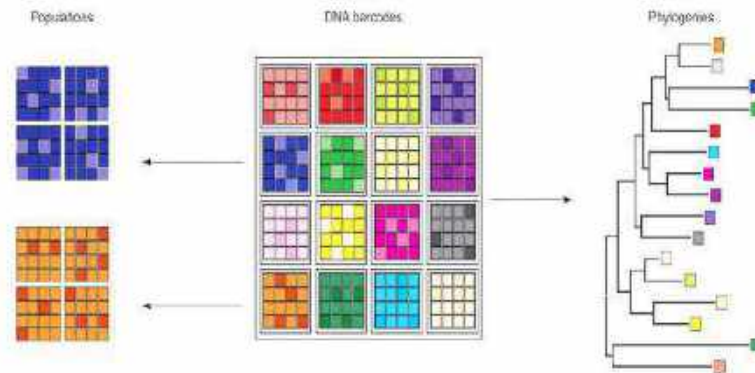
Gen 12S rRNA merupakan gen yang conserved, sering digunakan untuk penelusuran kekerabatan pada level tertinggi (filum dan sub filum), gen 16S rRNA sering digunakan pada kategori pertengahan (tingkat famili dan genus); gen pengkode protein termasuk gen yang relatif *conserved*, penanda yang kuat, sehingga sering digunakan untuk analisis keragaman genetik pada katagori yang lebih rendah (famili, genus dan spesies), salah satunya adalah gen COI merupakan gen yang relatif conserved, menempati posisi tertinggi ketiga yang mengalami substitusi pada basa nukleotidanya, hal inilah yang mengarahkan laju mutasinya menjadi tiga kali lipat lebih besar dibandingkan dengan gen 12S rRNA dan 16S rRNA; dan gen daerah pengontrol (*D-loop*) yang merupakan non coding region, berpengaruh dalam replikasi dan translasi mitokondria, segmen DNA yang memiliki tingkat hipervariasi yang tinggi dalam

penelusuran ditingkat spesies maupun sub spesies (Sato M dan Sato K, 2013; Siddappa, dkk 2013).

### 2.3.2. Pentingnya DNA Barcode dalam Sistematika

Semakin berkembangnya ilmu pengetahuan di bidang molekuler terutama penemuan mesin sekuenser telah memungkinkan untuk melakukan pengujian atau konfirmasi identitas spesies organisme dalam waktu yang sangat singkat yang dilakukan oleh bukan ahli taksonomi tidak peduli apakah spesimennya sudah terpecah-pecah rusak atau masih pradewasa dengan cara melihat salah satu sekuen gennya. Bahkan di negara maju yang sudah lengkap peralatan sekuensingnya proses ini hanya dilakukan dalam waktu 8 jam. Metode ini diperlukan karena dapat dilakukan dengan sangat sederhana dan mudah diterapkan dengan cepat. Sekuensing DNA selanjutnya dapat dimanfaatkan untuk menentukan identitas maupun fungsi gen atau fragmen DNA dengan cara membandingkan sekuensnya dengan sekuens DNA lain yang sudah diketahui (Robert, 2012; Fiala *et al.*, 2015; Lokapirnasari *et al.*, 2017).

Persoalan pengungkapan identitas spesies terkendala waktu yang lama, observasi lapangan menunjukkan bahwa banyak spesimen yang ditemukan terkadang rusak menjadi serpihan dan organisme belum dewasa yang sangat sulit sekali dikenali bentuk aslinya, sehingga diperlukan suatu terobosan ide yang cepat, tepat, dan akurat melalui metode DNA Barcoding.



Gambar 2.13. Posisi relatif DNA *barcode* terletak antara genetika populasi dan filogenetika (Hajibabaei *et al.*, 2007). Setiap kotak kecil mewakili satu individu. Perbedaan warna menunjukkan perbedaan spesies dan perbedaan di dalam spesies ditunjukkan dengan variasi bayangan warna.

Analisis perbandingan sekuen DNA saat ini digunakan pada hampir semua bidang ilmu biologi dari biologi perkembangan sampai epidemiologi, namun cabang biologi yang telah mengembangkan aplikasi yang digunakan untuk menilai kekerabatan biologi dengan sekuen DNA adalah filogenetika molekuler dan genetika populasi. Kedua bidang kajian tersebut memiliki fokus yang berbeda. Kajian filogenetika molekuler biasanya berurusan dengan hubungan evolusioner antara clades yang lebih rendah, sedangkan target genetika populasi adalah variasi di dalam dan di antara populasi dari spesies tunggal. DNA *barcode* menempati posisi tengah dengan fokus pada penggambaran daripada kekerabatannya. Kegunaan DNA *barcode* sebagai antara lain: 1. DNA *barcode* sebagai pendukung domains sains (ekologi, biomedik, epidemiologi, biologi evolusi, biogeografi, biologi konservasi, dan bio-industri). 2. DNA *barcode* meningkatkan kemampuan survai yang bertujuan untuk deteksi spesies dan identifikasi spesies patogen yang berperan dalam bidang Medik, Ekologi dan

Agronomi, 3. dapat mengenali, mendeteksi, melacak keberadaan organisme paten pada Agrobioteknologi. 4. DNA *barcode* digunakan sebagai determinasi identitas taksonomi suatu taksa tertentu (Ubaidillah & Sutrisno, 2012).

### 2.3.3 Alur Kerja DNA *Barcode*

DNA barcoding di usulkan pertama kali oleh Hebert *et al.*, (2003), yang menyatakan bahwa semua spesies organisme dapat diidentifikasi dengan menggunakan sekuen pendek dari sebuah gen yang posisinya di dalam genom telah terstandarisasi (disepakati bersama) yang disebut sebagai “DNA *Barcode*”. Beberapa keunggulan DNA barcoding menurut Virgilio *et al.*, (2012) adalah (i) memerlukan spesimen/yang sangat sedikit/kecil (ii) mampu mendokumentasikan keragaman grup-grup taksonomi yang belum dikenal atau grup grup taksonomi yang berasal dari daerah yang belum pernah teridentifikasi, (iii) mampu mengungkapkan variasi baru/keragaman baru pada species-species yang sebelumnya digolongkan pada satu species saja. Menurut Balke dan Schmidt (2012) DNA barcoding dapat digunakan untuk dua tujuan, yaitu sebagai perangkat baru untuk membantu para ahli taksonomi yang biasa bekerja keras pada spesimen-spesimen yang sulit diidentifikasi and merupakan perangkat inovatif bagi yang bukan ahli taksonomi dan untuk mengidentifikasi tanaman secara cepat. Sehingga identifikasi tanaman dengan menggunakan DNA barcoding bisa dilakukan oleh siapa saja (yang bukan ahli taksonomi) asal memiliki pengetahuan dan ketrampilan teknis tentang DNA barcoding. Kegunaan DNA barcoding adalah sebagai (i) perangkat riset bagi ahli taksonomi untuk (a) membantu mengidentifikasi spesies, (b) memperluas pendugaan/diagnose spesies ke arah semua tahapan sejarah perkembangan kehidupan

organisme hidup, termasuk buah-buahan, biji-bijian, penentuan kelamin, spesimen-spesimen yang rusak dan lain-lain, (c) menguji konsistensi definisi spesies dengan acuan variabilitas DNA, (ii) perangkat bagi pengguna taksonomi untuk (a) mengidentifikasi spesies-spesies yang dilindungi/ dikendalikan, termasuk spesies infasive, (b) menguji kemurnian dan identitas produk-produk biologi, (c) membantu para ahli ekologi dalam studi lapang terhadap organisme yang masih belum diketahui identitasnya, (iii) perangkat penemuan terutama menandai spesies-spesies baru yang belum terdeskripsi dengan baik.

Isolasi DNA merupakan teknik ekstraksi DNA dari suatu sel sebagai tahap awal analisis genetik. Secara umum, tahap isolasi DNA dimulai dari pengambilan sampel sel, pelisisan membran dan/ atau dinding sel, ekstraksi DNA, presipitasi DNA, pemurnian DNA, dan pengawetan DNA (Gaikwad, 2010). Tahapan analisis menggunakan *DNA barcode* :

a. Pengambilan sampel dan preservasinya.

Tujuan dari tahapan ini adalah untuk mendapatkan sampel yang baik dan terfiksasi agar dalam proses ekstraksi mendapatkan DNA berkualitas baik. Sampel berupa darah utuh diambil menggunakan jarum steril untuk menghindari kontaminasi disimpan dalam tabung EDTA, diusahakan secepatnya dianalisis sebelum 24 jam. Preservasi dilakukan apabila sampel tidak langsung diisolasi DNANYa dengan metode preservasi diantaranya dikeringkan dengan silika gel, atau difiksasi dengan alkohol/CTAB.



b. Ekstraksi DNA dari sampel.

Tujuan dari ekstraksi adalah untuk mengisolasi DNA genom. Prosedur ekstraksi DNA dilakukan menurut manual pada produk isolasi DNA kit atau disolasi dengan metode konvensional. Produk DNA kemudian diuji kualitasnya dengan merunning di gel agarose dan spectrophotometer untuk melihat konsentrasi dan kemurniannya (kontaminasinya).

c. Amplifikasi DNA *Barcode* dengan menggunakan PCR (*Polimerase Chain Reaction*).

Tujuan dari tahapan ini adalah untuk menggandakan/multiplikasi DNA pada lokasi-lokasi khusus yang dikehendaki dengan panjang fragmen sesuai dengan primer spesifik yang digunakan. Amplifikasi DNA pada PCR dapat dicapai bila menggunakan primer oligonukleotida yang disebut amplimers. Primer DNA suatu sekuens oligonukleotida pendek yang berfungsi mengawali sintesis rantai DNA. PCR memungkinkan dilakukannya pelipatgandaan suatu fragmen DNA. Umumnya primer yang digunakan pada PCR terdiri dari 20-30 nukleotida.

Setiap urutan basa nukleotida yang diamplifikasi akan menjadi dua kali jumlahnya. Pada setiap  $n$  siklus PCR akan diperoleh  $2^n$  kali banyaknya DNA target. Kunci utama pengembangan PCR adalah menemukan bagaimana cara amplifikasi hanya pada urutan DNA target dan meminimalkan amplifikasi urutan non target.

Proses PCR merupakan proses siklus yang berulang meliputi denaturasi, annealing, dan ekstensi oleh enzim DNA polimerase. Sepasang primer oligonukleotida

yang spesifik digunakan untuk membuat hibrid dengan ujung -5' menuju -3' untai DNA target dan mengamplifikasi untuk urutan yang diinginkan.

Dasar siklus PCR ada 30-35 siklus meliputi :

- Denaturasi (95<sup>0</sup>C) 30 detik
- Annealing (55-60<sup>0</sup>C) 30 detik
- Extension (72<sup>0</sup>C), waktu tergantung panjang pendeknya ukuran DNA yang diinginkan sebagai produk amplifikasi.

Peningkatan jumlah siklus PCR diatas 35 siklus tidak memberikan efek yang positif.

d. Purifikasi hasil amplifikasi dengan PCR.

Tujuan dari purifikasi adalah untuk membersihkan DNA hasil amplifikasi terhadap kontaminan yang lain seperti protein, RNA. DNA yang sudah dipurifikasi akan digunakan untuk proses sequencing. Pada larutan tersebut kemudian diberikan RNase dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 65°C. Hal tersebut bertujuan untuk mengoptimalkan kerja enzim yang sangat dipengaruhi oleh temperatur. Penambahan RNase berguna untuk menyingkirkan kontaminasi RNA sehingga DNA dapat diisolasi secara utuh.

e. Sekuensing.

Sekuensing bertujuan membaca urutan basa DNA adenin, timin, guanisin, dan sitosin pada fragmen yang teramplifikasi. Sekuensing DNA dapat digunakan untuk mendeteksi gen yang terkait dengan beberapa faktor keturunan atau penyakit yang diperoleh. Para ilmuwan menggunakan teknik yang berbeda dari rekayasa genetika seperti terapi gen untuk mengidentifikasi gen yang cacat dan menggantinya dengan

yang sehat berguna. Hasil sekuensing juga berguna untuk pemilihan gen sesuai kebutuhan misalnya meningkatkan produksi ternak dengan peningkatan kualitas daging dan susu. Urutan DNA ini akan menjadi DNA *barcode*.

f. Analisis data hasil sekuensing.

Hasil sekuensing akan dianalisis diantaranya dengan assembling, editing dan alignment pendahuluan dengan software MEGA (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*). Sekuen juga di input ke GeneBank untuk melihat kemungkinan adanya kontaminasi.

Data hasil sekuensing berupa elektroferogram dalam bentuk *ABI file*. Setelah menggabungkan sekuen *forward* dan *reverse*, dilakukan pemotongan sekuen sesuai dengan posisi primer yang telah ditentukan. Sekuen referensi yang digunakan sebagai patokan diletakkan pada bagian paling atas kemudian diikuti dengan sampel. Analisis *Reference* sekuen dan sekuen hasil menggunakan software MEGA versi 11 (Tamura *et al.*, 2021).

#### 2.3.4 Prinsip dan Aplikasi Analisis Fenetik dan Filogenetik

Studi terkait tingkat kekerabatan ternak dan prediksi nenek moyangnya perlu dilakukan, untuk mendukung usaha konservasi suatu bangsa ternak maupun untuk kepentingan pengembangan pemuliaan ternak tersebut. Salah satu teknik yang berkembang untuk mengetahui tingkat kekerabatan suatu organisme ialah teknik perbandingan materi genetik, dengan pemahaman bahwa adanya laju evolusi serta spesialisasi suatu populasi, pembuatan pohon filogenetik berdasarkan materi genetik dapat merekonstruksi hubungan kekerabatan, dan metode Maximum likelihood.

Sistematika secara fundamental bertujuan untuk memahami dan mendeskripsikan keanekaragaman suatu organisme dan mengkonstruksi hubungan kekerabatannya terhadap organisme lainnya, dan juga mendokumentasikan perubahan-perubahan yang terjadi di dalam masing-masing spesies. Terdapat dua macam metode dalam rekonstruksi hubungan kekerabatan antar organisme, yaitu metode fenetik dan filogenetik. Analisis fenetik merupakan salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk menentukan kekerabatan suatu tumbuhan atau hewan yang didasarkan pada kesamaan karakter atau ciri morfologi.

Pendekatan fenetik disusun berdasarkan seluruh similaritas (kesamaan) pada seluruh karakter yang ada. Semakin besar kesamaan yang dimiliki, maka semakin dekat hubungan kekerabatannya, tanpa membandingkan karakter yang bersifat homologi dan homoplasi, yang digambarkan dalam bentuk dendogram. Karakter homolog yakni karakter yang diwariskan dari nenek moyang kepada keturunannya, sedangkan karakter homoplasi merupakan karakter yang diperoleh akibat dari proses adaptasi terhadap lingkungan yang sama (Dharyamanti, 2011).

Pendekatan filogenetik merupakan klasifikasi yang disusun dengan mempertimbangkan jalur evolusi setiap organisme yang dikaji. Hal ini berbeda dengan klasifikasi fenetik yang hanya melihat hubungan antar organisme berdasarkan karakter yang ada pada saat ini. Penelusuran hubungan kekerabatan secara filogenetik dapat menggunakan data berupa urutan (sekuens) nukleotida pada DNA atau karakter morfologis, dengan catatan karakter tersebut merupakan karakter yang bersifat homolog. Namun pada kenyatannya, untuk menentukan karakter homolog berdasarkan

data morfologis relatif sangat sulit. Sekuen DNA yang digunakan dalam klasifikasi molekular filogenetik harus merupakan sekuen yang diwariskan langsung oleh nenek moyang (homolog) serta memiliki kesamaan sejarah evolusi. Sekuen DNA yang digunakan sebagai marka dalam rekonstruksi filogenetik harus memenuhi persyaratan yaitu, bersifat homolog, memiliki daerah *conserved* dan *variable*, dan terdistribusi pada seluruh organisme.

Terdapat tiga tahapan utama dalam konstruksi hubungan kekerabatan organisme berdasarkan karakter molekuler yakni pensejajaran sekuens, mengkonstruksi pohon filogenetik, dan evaluasi pohon filogenetik. Proses pensejajaran sekuens bertujuan mensejajarkan sekuen DNA yang panjangnya berbeda berdasarkan posisi homolog.

Proses pensejajaran yang benar akan menghasilkan pohon yang benar. Proses ini memiliki asumsi bahwa suatu urutan DNA yang diwariskan dari nenek moyang pada keturunannya seharusnya tidak berbeda jauh dan mirip apabila dibandingkan antar satu turunan dengan lainnya (Dharyamanti, 2011). Konstruksi pohon filogenetik disusun dengan membandingkan urutan gen, jarak genetik, clade, taksa, dan hubungan antar spesies dalam pohon berdasarkan algoritme dan model evolusi tertentu (Gupta, 2022). Analisis hubungan kekerabatan dapat dilihat dari jarak genetik di antara masing-masing individu (Yuliani *et al.*, 2017). Jarak genetik adalah tingkat perbedaan gen (perbedaan genomik) yang diukur melalui ukuran numerik pada suatu populasi atau spesies tertentu. Jarak genetik yang kecil menunjukkan hubungan genetik yang dekat dan sebaliknya, jarak genetik yang besar menunjukkan hubungan genetik yang jauh

(Pinem *et al*, 2015). Hasil jarak genetik dapat digunakan untuk mengetahui pohon dendrogram. Pohon dendrogram yaitu diagram cabang yang menggambarkan suatu susunan hubungan genetik pada suatu populasi atau kelompok tertentu.

Setiap algoritme memiliki asumsi yang berbeda sehingga akan memberikan hasil pohon yang berbeda. Selain itu pemilihan outgrup juga penting untuk konstruksi pohon filogenetik. Penambahan outgroup bertujuan untuk membuat *root* pada konstruksi pohon filogenetik. Tujuan utama proses tersebut untuk melihat proses evolusi sejak mulai *divergensi* dari nenek moyang bersama. Syarat pemilihan outgroup yang baik dalam proses *rooting* yaitu taksa yang berada diluar ingroup, tetapi memiliki hubungan kekerabatan yang paling dekat dengan ingroup.

Proses *root* memberikan kontribusi dalam *branch length* yang terbentuk. *Branch length* menggambarkan seberapa jauh atau dekat hubungan kekerabatan antar organisme, semakin panjang *branch length* maka hubungan kekerabatan semakin jauh dan berlaku sebaliknya. Metode algoritme konstruksi filogenetik dikelompokkan menjadi dua, yakni metode “distance-matrix” dan metode “character-based”.

#### 1. Metode Distance Matrix

Metode Distance Matrix merupakan suatu metode rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan dasar nilai “*pairwise distance*” atau “*p-distance*”. Metode ini memberikan nilai dekat atau jauhnya hubungan kekerabatan antar organisme pada pohon berdasarkan nilai *p-distance*. Semakin besar nilai *p-distance* maka semakin jauh hubungan kekerabatan antar organisme dan begitu sebaliknya. Metode *distance matrix* yang umum dikenal meliputi: *Unweighted-Pair Group Method with Arithmetic Means*

(UPGMA), *Minimum Evolution* (ME), dan *Neighbor-Joining* (NJ). Metode UPGMA merupakan metode tertua dan pertama kali digunakan dalam rekonstruksi pohon filogeni. Logikanya adalah indeks nilai *p-distance* terkecil antar pasangan organisme digunakan untuk menggabungkan kedua organisme tersebut dalam 1 kelompok (*clade*). Metode ini menghasilkan pohon *ultrametik*, yakni pohon yang semua organismenya memiliki jarak yang sejajar satu sama lain jika ditelusuri dari akar (*root*), berlaku dengan asumsi, yakni jika laju evolusi antar organisme yang dibandingkan sama. Fakta menunjukkan bahwa laju evolusi antar organisme untuk gen yang sama tidaklah sama. Metode ME dan NJ dikembangkan untuk melengkapi metode UPGMA. Kedua metode tersebut tidak menghasilkan pohon *ultrametik*, karena mengasumsikan laju evolusi yang berbeda antar organisme.

Kekerabatan antar organisme pada suatu pohon adalah sebesar total *branch length* yang menghubungkan keduanya. Konsep ini membolehkan panjang *branch length* yang tidak sejajar antar organisme. Metode ME akan mencari pohon yang memiliki nilai *tree length* terkecil. *Tree length* yaitu panjang total pohon yang merupakan jumlah total dari semua *branch length*. Metode ME akan mengevaluasi setiap pohon berdasarkan nilai *tree length* untuk mencari pohon terbaik.

Rekonstruksi pohon filogenetik dengan metode Neighbor-Joining dilakukan untuk mendapatkan estimasi terbaik dari panjang cabang yang paling dekat, merefleksikan jarak yang nyata di antara DNA yang dianalisis (Suriana *et al.*, 2019). Metode NJ menggunakan asumsi yang hampir sama dengan UPGMA dengan sedikit modifikasi menghilangkan ultrametisitas. Metode ini mencari pohon terbaik

berdasarkan nilai *tree length* terkecil. Metode ini memiliki asumsi bahwa nilai *tree length* terkecil dari suatu pohon dapat dicapai dengan *branch length* terkecil, sehingga sedikit berbeda dengan metode ME. Keuntungan metode NJ waktu komputasi yang lebih cepat, sehingga direkomendasikan untuk menganalisis organisme dalam jumlah yang banyak.

## 2. Metode Character-Based

Metode Character-Based menggunakan urutan nukleotida secara langsung dalam konstruksi pohonnya. Kelompok metode ini mencakup metode *Maximum-Parsimony* (MP) dan *Maximum Likelihood* (ML). Metode MP mengasumsikan evolusi yang berjalan efisien. Pohon terbaik yang dipilih dalam metode ini yakni pohon yang memiliki paling sedikit perubahan evolusi. Sehingga, apabila terdapat sejumlah cara untuk menghasilkan keadaan seperti sekarang, maka cara yang paling singkat yang akan dipilih. Asumsinya bahwa pohon yang paling bisa menggambarkan keadaan evolusi suatu organisme adalah pohon yang dikonstruksi telah memiliki jumlah mutasi yang paling sedikit untuk mengubah satu sekuens ke sekuens yang lain. Pohon terbaik yang dihasilkan dari algoritme ini adalah pohon yang bersifat paling *parsimonious*. Algoritme *maximum parsimony* dapat menyimpulkan adanya perubahan karakter yang kecil dari satu sekuens. Konsep metode ML yakni pencarian pola evolusi yang paling mendekati dengan keadaan sesungguhnya. Metode ini tidak mempertahankan pohon dengan langkah evolusi terpendek. Setiap pohon yang terbentuk dihitung untuk kemungkinan yang merefleksikan setiap posisi dari sekuens data dan perhitungan diulang untuk semua situs nukleotida. Algoritme ML menggunakan perhitungan



probabilitas kombinasi seluruh karakter dari ancestor, sehingga metode ini lebih kompleks daripada ME dan MP.

Pohon dengan probabilitas terbaik ditampilkan sebagai kemungkinan pohon biasanya hanya pohon tetap. Kelemahan dari kelompok metode berdasarkan *character-based* yakni pencarian satu pohon terbaik diantara jutaan pohon, sehingga waktu komputasi yang diperlukan lebih lama. Selain algoritme dalam konstruksi filogenetik juga menggunakan model evolusi. Terdapat berbagai macam model evolusi yang memiliki asumsi berbeda meliputi Jukes-Cantor one-parameter (JC69), kimura 2-parameter (K80), Felsenstein model (F81 & F84), Hasegawa-Kishino-Yano (HKY85), Tamura-Nei (TN93), dan General Time Reversible (GTR). Perbedaan yang mendasari model evolusi tersebut yakni frekuensi setiap jenis nukleotida, laju rerata substitusi dari 1 jenis nukleotida ke nukleotida yang lain, dan frekuensi seberapa sering perubahan dari nukleotida satu ke lainnya dibandingkan dengan perubahan dengan nukleotida yang lain. Model evolusi JC69 mengamsusikan semua laju perubahan rerata yang sama terhadap semua jenis nukleotida ( $1/4$  untuk setiap jenis nukleotida). Selanjutnya K80 berdasarkan bahwa laju transversi (A T dan C G) lebih rendah dibandingkan laju transisi (A G dan C T).

Model tersebut lebih menekankan pada perubahan nilai substitusi berupa transvesi dan transisi. Sedangkan F81 & F84 mengamsusikan laju transisi dan transversi sama, tetapi laju rerata substitusi dari satu jenis nukleotida ke nukleotida lainnya berbeda. Model HKY, mengakomodir dari kedua model sebelumnya, dengan mempertimbangkan adanya perbedaan laju transisi dan transversi serta laju

substitusinya. Perbedaan antar laju dari setiap jenis transisi dan trasversi menjadi dasar model TN93. Selanjutnya model evolusi yang paling kompleks, yakni GTR. Model ini mempertimbangkan adanya perbedaan dalam setiap jenis perubahan nukleotida baik dalam hal laju rerata dan perubahan relatif (Tamura, dkk 2013; Hasanuddin dan Fitriana. 2014).

Metode *Neighbor-Joining* (NJ) merupakan salah satu metode berbasis jarak dalam merekonstruksi pohon filogenetik, metode ini berfokus pada jumlah perubahan basa nukleotida diantara masing-masing pasangan dalam kelompok untuk menkonstruksi pohon filogenetik dalam kelompok. Selain itu, metode NJ sangat cocok untuk nilai rata-rata evolusi dari pemisahan *lineage* berada di bawah pertimbangan yang berbeda-beda. Metode *Neighbor-Joining* (NJ) memilih sekuen, jika digabungkan akan memberikan estimasi terbaik dari panjang cabang yang paling dekat merefleksikan jarak yang nyata diantara sekuen sehingga metode ini merupakan metode yang paling cocok untuk memprediksi pohon filogenetik dengan benar (SAITOU dan NEI,1987).

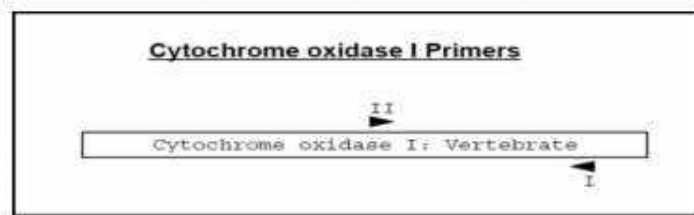
## 2.4 Gen COI

Penanda Barcoding pada hewan yang sering digunakan adalah sekuen *barcode gen cytochrome-c oxidase I* (COI) dengan panjang sekitar 648 bp. COI memberikan peluang yang sangat cepat dan akurat sebagai marker untuk identifikasi berbagai variasi taksa dan mengungkapkan beberapa kelompok hewan yang belum diketahui tingkat taksonominya. Gen COI merupakan potongan DNA yang terdapat di dalam

membran mitokondria, serta berfungsi untuk mengatur proses pernafasan di dalam sel dengan cara mengkatalis reduksi O<sub>2</sub> dan memompa proton melalui membran secara simultan. Gen COI memiliki 2 keuntungan yang penting, (1) primer-primer universal untuk gen ini memiliki kemampuan sangat kuat, yaitu mampu mencakup ujung 5' dari sebagian besar atau keseluruhan filum hewan, (2) gen COI memiliki rentangan sinyal filogenetik yang lebih besar dibandingkan dengan gen mitokondrial lainnya. Gen *Cytochrome oxidase subunit I* (COI) diketahui banyak digunakan sebagai gen penanda untuk mengidentifikasi berbagai spesies hewan (Hebert *et al.* 2003; Chao *et al.* 2014), dan studi evolusi untuk merekonstruksi filogenetik spesies hewan (Gabaldón 2005; Cai and Ma 2016).

Evolusi pada gen ini cukup cepat untuk menunjukkan perbedaan tidak hanya untuk spesies yang berkerabat dekat, tetapi juga antara kelompok *phylogeographic* dalam spesies tunggal (Porter TM,dkk 2018; Xu Y,dkk 2019). Gen COI memberikan pandangan filogenetik yang lebih mendalam dibandingkan gen mitokondrial lainnya seperti Cyt-b, karena perubahan sekuen asam amino terjadi lebih lambat. Selain itu, tidak ditemukan adanya insersi, delesi maupun stop kodon, sehingga mendukung standart identifikasi spesies hewan. Analisis *polimorfisme* dengan menggunakan sekuen DNA memanfaatkan adanya “primer universal” pada daerah genom mitokondria (mtDNA). Daerah ini menyediakan resolusi yang besar terhadap variabilitas genetik dan memiliki kemampuan yang dalam dibidang sistematika molekuler (Souza HV,dkk 2016;Rennstam,dkk 2018).

Gen COI memiliki primer universal yang sangat kuat untuk mengamplifikasi ujung 5' dari sebagian besar atau keseluruhan filum hewan yang menjadikan target spesifik dalam taksonomi. Primer spesifik tersebut telah di rancang dengan susunan basa COIf (5'-CCTGCAGGAGGAGGA GAYCC-3') dan COIr (5'-CCAGAATTAGAGGGAATCAGTG-3').



Gambar 2.14. Daerah spesifik gen COI sebagai standar identifikasi hewan

Kode I dan II adalah daerah primer spesifik untuk mengamplifikasi Barcode gen COI.

Kelebihan gen COI dibandingkan gen lainnya:

1. Panjang sekuen gen ini relatif pendek, sekitar 648 bp yang mampu membedakan variasi intraspecies maupun interspecies.
2. Relatif stabil, tidak mudah mengalami perubahan bila dibandingkan dengan gen yang lain.
3. Gen ini sangat cocok digunakan untuk menentukan identitas spesies, karena mempunyai tingkat variabilitas yang rendah (1-2%), bahkan untuk suatu kelompok spesies yang memiliki tingkat kekerabatan sangat dekat hanya memiliki perbedaan beberapa persen saja.
4. Memiliki jumlah kopi yang banyak, sehingga mudah di amplifikasi di bandingkan gen yang berasal dari inti. Berdasarkan karakter *barcode* gen COI tersebut, sekarang

gen ini menjadi marka yang penting untuk identifikasi spesies; menyediakan tingkat efektifitas yang tinggi untuk identifikasi kupu-kupu, burung, ikan, lalat, dan kelompok hewan lainnya, mengukur tingkat keanekaragaman global, memiliki potensi untuk memperbaiki keanekaragaman hewan liar dan membedakan spesies yang belum jelas kedudukannya.

Gen COI relatif tetap (*conserved*) pada ikan, menunjukkan level yang rendah terhadap variasi intraspesies, dan sebagai indikator yang baik untuk menelusuri hubungan genetik. Tahun 2005, perikanan dipilih sebagai target utama untuk cakupan *barcode* dunia terkait kepentingan sosial ekonomi, sehingga saat ini lebih dari 5000 spesies telah berhasil diidentifikasi. Hal ini mencakup baik ikan air tawar maupun ikan laut, sehingga teknik DNA *barcoding* memainkan peranan yang sangat penting sebagai alat bantu taksonomi untuk mengungkap secara genetik spesies yang berbeda dan terpisah secara cepat dan akurat. Gen COI ini sudah digunakan untuk identifikasi ikan air tawar di Kanada, ikan laut di Australia termasuk didalamnya kelompok ikan teleostei, hiu dan pari, dan ikan air tawar dari Meksiko dan Guatemala. Selain itu, gen tersebut juga digunakan untuk identifikasi larva ikan yang tinggal di perairan Australia, dan identifikasi ikan sebelum tahap dewasa yang mencakup perkembangan mulai dari telur sampai tahap dewasa dan mampu membedakan *Tor duoronensis* dan *Tor tibraides* di Sarawak sebagai spesies yang berbeda, yang ditunjang dengan pembentukan *clade* tunggal yang tidak saling tumpang tindih. Selain untuk identifikasi spesies, sekuen barcode gen COI juga membantu penemuan spesies baru, analisis

biodiversitas, konservasi, identifikasi hama, analisis filogenetik (Ribak, 2010), *forensic engineering* dan ekologi dari komunitas yang belum jelas. Sekuen *barcode* gen COI untuk mengkonstruksi pohon filogenetik dari beberapa taksa ikan. Penelitian yang dilakukan oleh Maralit *et al.* (2013) membuktikan bahwa ikan yang dikaji “Pigeek” dan “Bulidao” merupakan spesies yang sama yaitu *Mesopristes cancellatus* yang ditunjukkan dari hasil topologi pohon filogenetik bahwa keduanya membentuk clade yang sama. Metode DNA *barcoding* memiliki keunggulan lebih murah dan lebih cepat mendapatkan hasil dibandingkan metode berbasis DNA yang lainnya). Diantara seluruh keuntungan tersebut metode ini sangat berharga dengan kecepatannya dan keandalannya dalam proses autentikasi produk komersial (Rahman, 2011). Kelebihan lain dari penggunaan sekuen *barcode* gen COI adalah adanya data base yang disebut *The Barcode of Life Data System*. Data base ini menyimpan dan memberikan informasi data berupa hasil sekuen barcode gen COI, data spesimen, tingkatan taksonomi spesies, primer yang digunakan, penelusuran kekerabatan, dan barcode dari gen tersebut. Peneliti dari seluruh belahan dunia dapat dengan mudah mengakses maupun memasukkan data hasil penelitiannya. The Barcode of Life Data System juga memiliki klasifikasi dari masing-masing proyek barcoding seperti Barcoding of Fish (FishBol), Barcoding of Birds, Barcoding of Earthworms, dan Barcoding of Mamals of the Word ([www.barcodinglife.org](http://www.barcodinglife.org)). The Barcode of Life Data Sistem memberikan interpretasi sekuen gen yang terdapat dalam BOLD system dalam bentuk barcode (Rodrigues MS,dkk 2018).

Filogenetik *bootstrap* (BS) adalah teknik standar untuk menyimpulkan nilai kepercayaan pada pohon filogenetik yang didasarkan pada konstruksi banyak pohon dari variasi kecil dari data input yang disebut ulangan. BS digunakan dengan semua pendekatan konstruksi filogenetik. *Bootstrapping* digunakan untuk mengukur reliabilitas sekuen hubungan kekerabatan. Nilai *bootstrap* pohon filogenetik menggambarkan berapa kali cabang yang sama diamati ketika mengulangi generasi pohon filogenetik pada kumpulan data yang disampel ulang. Jika nilai 95 dari 100 ulangan pada cabang pohon maka nilai bootstrap 95%. Nilai bootstrap kurang dari 50% tidak diperhitungkan untuk konstruksi pohon (Huang *et al.*, 2021)

## 2.5 *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)

*Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), atau *Single Nucleotide Variation* (SNV) adalah polimorfisme urutan DNA yang disebabkan oleh perubahan nukleotida tunggal dalam posisi tertentu pada tingkat genomik. Perubahan basa nukleotida tunggal dapat berupa transisi, transversi, penyisipan/ insersi, atau penghapusan/ delesi. Dalam genom, SNP yang muncul dapat digunakan sebagai penanda genetik. SNP merupakan generasi ketiga penanda (marker) genetik, yang telah disempurnakan dari generasi pertama *Restriction Fragment Length Polymorphism* dan generasi kedua polimorfisme *mikrosatellite*. Urutan asam amino protein dapat dimodifikasi dengan variasi urutan di daerah pengkodean, yang kadang-kadang mempengaruhi performan fisik atau struktur protein yang relevan. SNP dapat dijadikan indikator diagnosis klinis dan prognosis, dan dapat diterapkan untuk menyelidiki perbedaan antarindividu dalam aspek-aspek

seperti resistensi antimikroba, evolusi epidemiologi molekuler (Kim *et al.*, 2007 ; Jian *et al.*, 2021).

Metode PCR khususnya real-time PCR telah banyak digunakan untuk mendeteksi SNP dan mutasi gen. *Allele-specific* PCR (ASPCR) adalah teknik spesifik amplikasi sekuen menggunakan PCR untuk mendeteksi adanya perubahan atau mutasi terhadap SNP yang telah diketahui (Bergallo *et al.*, 2015). Primer atau *probe* yang digunakan pada ASPCR adalah spesifik untuk mutasi / SNP yang akan dideteksi, ampikon produk PCR digunakan untuk mengidentifikasi SNP/ mutasi. needed to identify this SNP/mutation. Design primer / *probe* yang tepat sangat menentukan keberhasilan ASPCR. Analisis *high-resolution melting curve* (HRM) diketahui banyak juga digunakan untuk mendeteksi SNP / mutasi. Analisis HRM mampu mendeteksi SNP yang diketahui dan tidak diketahui. Berdasarkan variasi fluorescence DNA yang diwarnai, pada konversi *double-stranded* DNA menjadi *single-stranded DNA* dan perubahan temperatur, analisis HRM dapat mendeteksi keberadaan SNP / mutasi dan mengkonfirmasi jenis substitusi nukleotidanya (Gomes *et al.*, 2018)

## **2.6 *Multidimensional Scaling (MDS)***

Analisis multivariat dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu analisis dependensi dan analisis interdependensi. Analisis dependensi adalah analisis untuk mengetahui hubungan antara variabel independen (bebas) dan variabel dependen (terikat), sedangkan analisis interdependensi adalah analisis untuk mengetahui hubungan antar variabel independen (Mattjik dan Sumertajaya, 2011). Terdapat



beberapa jenis analisis interdependensi salah satunya adalah analisis *Multidimensional Scaling (MDS)*

Analisis *Multidimensional Scaling* merupakan salah satu metode statistik dan analisis data multivariat yang dapat digunakan untuk menganalisis pengaruh beberapa variabel terhadap variabel lainnya dalam waktu bersamaan (Agung, 2017). Analisis *multidimensional scaling* dapat digunakan untuk menampilkan objek dan variabel secara simultan (sekaligus) dalam ruang multidimensi dan membandingkan antara objek dengan objek lainnya berdasarkan kemiripan dan ketidakmiripan pada peta geometri/grafik yang memberi informasi yang lebih mudah untuk dipahami. *Multidimensional Scaling* berhubungan dengan pembuatan peta untuk menggambarkan posisi sebuah obyek dengan obyek lainnya berdasarkan kemiripan obyek-obyek tersebut. MDS juga merupakan teknik yang bisa membantu peneliti untuk mengenali (mengidentifikasi) dimensi kunci yang mendasari evaluasi objek dari responden. Analisis MDS dibedakan menjadi dua, yaitu *Metric Multidimensional Scaling* atau Penskalaan Multidimensi Metrik dan *Nonmetric Multidimensional Scaling* (Nonmetrik MDS) atau Penskalaan Multidimensi Nonmetrik. Menurut Mattjik dan Sumertajaya (2011) MDS terbagi menjadi dua jenis, yaitu MDS metrik jika data berskala interval atau rasio dan MDS non metrik jika data berskala nominal atau ordinal.

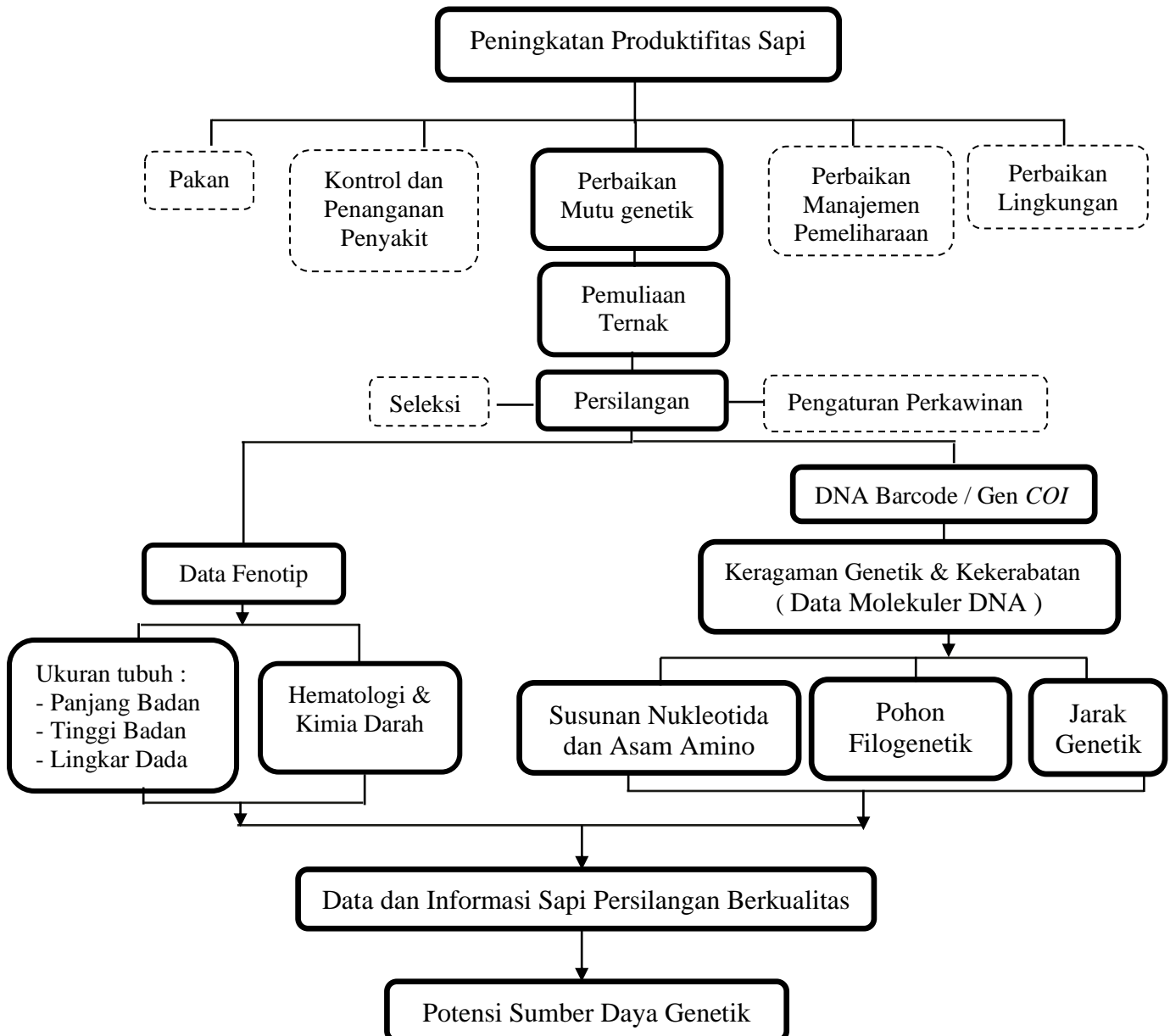
Kemiripan antar objek dapat diukur dengan menggunakan ukuran jarak. Menentukan nilai kemiripan antar objek pada analisis MDS menggunakan rumus jarak *euclidean*. Perhitungan jarak euclidean menggunakan rumus sebagai berikut :

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_{k=1}^p (x_{ik} - x_{jk})^2}$$

Koordinat stimulus merupakan titik-titik koordinat nilai hematologi dan kimia darah yang selanjutnya digambarkan melalui peta atau bidang koordinasi. Koordinat stimulus 2 dimensi memiliki arti terdapat 2 dimensi pada bidang koordinat yaitu sumbu x dan sumbu y. Berdasarkan koordinat stimulus tersebut selanjutnya dibentuk peta persepsi. Langkah selanjutnya pada analisis *multidimensional scaling* adalah menentukan nilai stress atau  $R^2$  untuk mengetahui ketepatan jarak dari peta persepsi yang terbentuk.

## BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

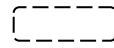
### 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan :



: Aspek yang diteliti



: Aspek yang tidak diteliti

Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual

### 3.2. Penjelasan Kerangka Konseptual

Produktivitas ternak Indonesia khususnya sapi lokal masih tergolong rendah dan merupakan masalah utama yang harus segera diselesaikan karena belum optimalnya program peningkatan populasi sapi lokal berkaitan dengan sistem pemeliharaan yang ekstensif tradisional, tingginya pemotongan ternak produktif, keterbatasan pakan, penyusutan luas padang penggembalaan, dan penurunan mutu genetik. Salah satu upaya perbaikan produktivitas sapi potong di Indonesia dapat dilakukan melalui program seleksi bibit. Pengukuran karakteristik fenotip dapat membantu untuk memfasilitasi seleksi dan persilangan antara berbagai bangsa ternak tergantung keragaman genetik (Kurnianto *et al.* 2013). Seleksi bibit umumnya menghasilkan peningkatan performan produksi ketika pakan yang diberikan berkualitas baik dan lingkungan mendukung.

Keberhasilan peningkatan produktivitas peternakan ditentukan oleh faktor bibit, pakan dan pengelolaan, sedangkan komponen terbesar yaitu sebesar 70 % berasal dari faktor pakan (Suharto, Indrarosa, dan Andajani 2015). Sistem pemberian pakan peternak umumnya hanya mengutamakan ketersediaan (jumlah dan kontinuitas) tanpa memperhitungkan kebutuhan dan kualitas pakan. Kualitas pakan yang diberikan musim kemarau sebagian besar berupa rumput kering yang kadar nutrisinya seperti energi, protein, dan mineral sangat rendah (Setyawan *et al.*, 2016). Hijauan berkualitas rendah juga rendah tingkat kecernaannya, sehingga terjadi defisiensi gizi. Yasa *et al.* (2013) dan Budiari *et al.* (2014) melaporkan bahwa sapi yang diberikan pakan rumput kering dan semak-semak menghasilkan

pertambahan berat badan 0,15 kg/hari–0,32 kg/hari. Komposisi pakan beserta kebutuhan kandungan nutrisi pakan sapi harus memiliki kualitas yang baik untuk menghasilkan komposisi pakan yang optimum dengan biaya yang efisien (Taufiq dkk, 2017). Sapi membutuhkan pakan terdiri dari beberapa jenis yaitu hijauan setiap harinya sekitar 10% dari bobot badan hewan ternak itu sendiri, dan sekitar 1-2% dari bobot badannya harus diberikan pakan tambahan. Kemampuan produksi sapi potong diekspresikan dengan pertumbuhan bobot badan dan ukuran tubuh sejalan dengan pertambahan umur (Ali dan Sodik, 2016). Pola pemeliharaan sapi lokal umumnya dilakukan secara ekstensif yaitu sapi dibiarkan berkeliaran atau diikat di sekitar rumah. Model pemeliharaan seperti ini menyebabkan produktivitas sapi tidak maksimal. Sapi yang dibiarkan berkeliaran akan makan rumput dan pakan seadanya atau diikat memiliki areal jelajah terbatas hanya mengkonsumsi hijauan yang ada di tempat dimana ternak sapi diikat dan tidak pernah mendapat makanan tambahan sebagai asupan gizi. Yuliani *et al.* (2016) melaporkan bahwa ternak sapi yang diberikan pakan seadanya dan dengan pola pemeliharaan yang masih tradisional menghasilkan pertambahan bobot badan sapi rata-rata sekitar 290 gram/ekor/hari. Ternak sapi mudah terserang penyakit cacingan dan sistem perkawinan yang tidak terkontrol (Supriyantono dkk, 2020).

Manajemen kesehatan hewan berhubungan erat dengan usaha pencegahan ternak terinfeksi agen-agen penyakit melalui upaya menjaga biosekuriti, higienitas dan sanitasi kandang, manajemen pakan yang baik, dan peningkatan daya tahan tubuh ternak melalui pemberian obat cacing dan multivitamin (LeBlanc *et al.* 2006;

Lestari *et al.* 2020). Lestari *et al.* (2020) mengungkapkan bahwa biosekuriti ketat melalui pelaksanaan higienitas dan sanitasi kandang merupakan aspek penting Keberhasilan usaha sapi potong, baik penghasil bibit (*breeding*) maupun penggemukan (*fattening*), sangat tergantung dari kesehatan ternak, meliputi penanganan, pengendalian dan pencegahan penyakit-penyakit organik, infeksi bakteri, virus, jamur, serta parasit. Status kesehatan yang kurang baik akan berakibat rendahnya pertambahan berat badan harian, emasi/kurus, rentan terhadap penyakit, kematian ternak maupun pedetnya, gangguan status reproduksi, rendahnya reproduktifitas. Penyakit hewan strategis yang berdampak terhadap produktifitas sapi potong antara lain Brucellosis, Anthraks, *Septichaemia epizootica* (SE), *Infectious bovine rhinotracheitis* (IBR), *Bovine viral diarrhea* (BVD), Jembrana dan Penyakit Mulut dan Kuku (PMK).

Kondisi lingkungan seperti iklim ekstrem, kondisi tanah yang tidak subur akan berpengaruh terhadap vegetasi padang rumput diketahui menjadi faktor penghalang peningkatan produktivitas ternak di suatu daerah jika tidak diikuti perbaikan manajemen pemeliharaan ternak (Tamba *et al.*, 2016; Sanger *et al.*, 2016). Kondisi lingkungan lainnya yang mempengaruhi kualitas padang rumput sebagai reservoir dan sumber pakan ternak yaitu intensitas curah hujan, lamanya musim kemarau dan hujan, suhu dan kelembaban. Tamba *et al.* (2014), Siba *et al.* (2017) dan Putritamara *et al.* (2018) menyebutkan bahwa tekstur tanah mempengaruhi daya serap air dan kemampuan menahan air. Area padang rumput yang makin luas berhubungan dengan laju pertumbuhan sapi (Martha *et al.* 2012).

Sanderson *et al.* (2013) menyebutkan bahwa padang rumput yang dikelola akan meningkatkan produktifitas sapi karena memiliki struktur dan kesuburan tanah, mengendalikan hama secara ekologis, melindungi dan mendorong keanekaragaman hayati tanaman dan hewan serta meningkatkan kualitas dan produksi hijauan. Faktor lingkungan bersifat sementara, namun perbaikan mutu genetik bersifat permanen karena diwariskan.

Salah satu upaya perbaikan produktivitas sapi potong di Indonesia adalah melakukan manajemen reproduksi dengan kegiatan pemuliaan genetik, pengembangan teknik pembibitan (pemilihan dan seleksi bibit unggul dan berkualitas). Menurut Wahyu (2018) produktivitas sapi potong dapat ditingkatkan melalui perbaikan mutu genetik dan lingkungan, didalam aplikasinya dilakukan melalui program pemuliaan. Seleksi ternak selama ini berdasarkan sifat pertumbuhan dan kualitas daging telah dilakukan, tetapi hasilnya belum optimal karena masih berdasarkan data fenotipe. Seleksi berdasarkan data fenotipe menghasilkan peningkatan genetik yang lambat, terutama pada ternak yang interval generasinya lama, seperti sapi, kambing, dan domba (Sutikno dkk, 2020). Salah satu pendekatan seleksi dengan penggunaan penanda molekuler berbasis marka genetik diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu peningkatan dalam ketepatan seleksi (Meuwissen *et al.*, 2001). Seleksi bibit umumnya menghasilkan peningkatan performan produksi ketika pakan yang diberikan berkualitas baik dan lingkungan mendukung.

Pemetaan genom (DNA) melalui pendekatan *single nucleotide polymorphism* (SNP) pada sapi dapat dijadikan pendekatan (*tool*) dalam mengetahui keterkaitan antara sifat kuantitatif dan variasi DNA yang memungkinkan seleksi ternak berdasarkan marka genetik atau disebut *marker assisted selection* (MAS) (Matukumalli *et al.* 2009). SNP adalah bentuk ragam genetik berupa basa nucleotida dan ditemukan dalam rangkaian basa DNA di daerah *coding* atau *non-coding*. Perubahan dan mutasi SNP yang terjadi di daerah *coding* memiliki potensi merubah asam amino dan struktur protein di dalam tubuh.

Pemuliaan sapi potong yaitu suatu usaha untuk meningkatkan rata-rata produksi sapi melalui perbaikan mutu genetik dalam populasi dengan cara seleksi dan pengaturan perkawinan. Sistem perkawinan yang telah lama digunakan untuk meningkatkan produktivitas sapi potong adalah persilangan seperti halnya persilangan sapi Bali dengan Simmental (Simbal) (Syaiful, dkk. 2020). Populasi sapi persilangan di Pulau Jawa yang ada sekarang antara lain persilangan Simmental dengan PO (SIMPO), persilangan Limousin dengan PO (LIMPO), Brangus dan Madura, tetapi jumlah masing-masing bangsa sapi dan struktur populasinya tidak diketahui (Wahyu, 2018). Populasi sapi di Sulawesi Selatan masih didominasi sapi Bali walaupun beberapa Kabupaten telah mengembangkan sapi persilangan Bali dengan Limousin (LIMBAL), Bali dengan Simmental (SIMBAL), Bali dengan Madura, Bali dengan Brahman. Adanya persilangan antar bangsa sapi lokal tersebut menyebabkan kemungkinan adanya keragaman genetik.



Keragaman genetik ini pada pemuliaan ternak diperlukan untuk melakukan seleksi. Kunci pengelolaan optimal terhadap sumberdaya genetik ternak salah satunya ialah keragaman genetik (Chamdi, 2005).

Peternak saat ini banyak memilih memelihara sapi hasil persilangan antara sapi betina lokal dengan pejantan Simmental dan Limousin, dengan tujuan untuk mendapatkan sapi yang lebih besar dan meningkatkan pendapatan. Peternak memilih sapi-sapi hasil persilangan tersebut karena dianggap mempunyai keunggulan dalam produksi dan kecepatan pertumbuhan badannya dibandingkan sapi lokal, tetapi diasumsikan kemampuan adaptasi terhadap lingkungan tropis, ketahanannya terhadap penyakit tertentu masih kalah dengan sapi lokal (Sharma *et al.* 2011). Memahami dan mempertahankan keragaman genetik suatu populasi sangat penting dalam konservasi. Keragaman genetik tinggi akan sangat membantu suatu populasi beradaptasi terhadap perubahan yang terjadi di lingkungan sekitarnya, termasuk mampu beradaptasi terhadap penyakit-penyakit di alam. Diketuinya status genetik, maka dapat dirancang program konservasi untuk menghindari kepunahan spesies (Handayani, 2008). Faktor genetik ditentukan oleh susunan gen yang terdapat di dalam kromosom dan dalam suatu bangsa sapi potong memiliki jumlah kromosom dan pasangan gen yang sama tetapi memiliki gen yang berbeda. Hal ini menyebabkan kemampuan sapi dalam produksi dan reproduksi juga berbeda sehingga mengakibatkan adanya keragaman pada produktivitasnya. Data keragaman dan kekerabatan ternak sapi lokal dan sapi persilangan di Indonesia dan prediksi nenek moyangnya diperlukan untuk mendukung usaha konservasi

suatu bangsa ternak maupun untuk kepentingan pengembangan pemuliaan ternak tersebut (Prihandini *et al.* 2020).

Berkembangnya teknologi molekuler telah memberikan harapan untuk melakukan seleksi pada tingkat genom (*genomic selection*). Secara genetika, variasi sifat antar ternak merupakan pencerminan keragaman pada DNA. Teknologi biologi molekuler yang semakin maju, menjadikan peluang memetakan gen atau lokus yang mengekspresi karakter kuantitatif tertentu semakin tinggi. Berbagai penelitian yang mengkaji marka molekuler dikaitkan dengan sifat atau karakter yang bernilai ekonomi pada ternak telah dilakukan (Koopaei & Koshkoiyeh, 2011), selain itu tingkat keragaman genetik pada tingkat DNA dapat digunakan untuk mengetahui potensi genetik dari ternak (Ribeca *et al.*, 2014). Deteksi dini potensi genetik ternak dengan memanfaatkan teknologi DNA melalui identifikasi genotip gen-gen tertentu yang mengontrol kemampuan produksi ternak atau sifat-sifat yang bernilai ekonomi merupakan hal yang perlu dilakukan dalam upaya menghasilkan bibit unggul melalui proses seleksi dan persilangan terarah (Gill *et al.*, 2010).

DNA *barcode* merupakan suatu teknik identifikasi menggunakan sekuen DNA berukuran pendek, yang digunakan untuk mempercepat dan mempermudah identifikasi suatu spesies secara tepat, cepat, dan akurat. Urutan sekuen pendek DNA yang telah terstandarisasi bermanfaat untuk identifikasi spesies secara cepat dan menunjukkan variasi genetik di dalam setiap spesies, juga diantara spesies. Casiraghi *et al.* (2010) menjelaskan bahwa DNA *barcode* adalah alat molekuler dan

bioinformatika untuk identifikasi spesies biologi. Identifikasi dengan DNA *barcode* dapat dilakukan dalam mengidentifikasi spesies dengan tingkat akurasi yang tinggi, dan dapat menjawab tantangan dalam identifikasi secara cepat dan akurat, tetapi hal tersebut juga bergantung pada database yang baik dan lengkap (Bingpeng et al., 2018; Saleky & Dailami, 2021). Identifikasi organisme yang pada awalnya hanya berdasarkan karakter morfologi saat ini telah berkembang kearah taksonomi molekular, dimana pengelompokan dilakukan berdasarkan kemiripan gen yang dimiliki organisme. Analisis molekular diperlukan untuk memperkuat dan mendukung identifikasi spesies secara morfologi. Hal ini dikarenakan karakter molekular lebih stabil terhadap pengaruh lingkungan. Pemilihan jenis DNA *barcode* dalam studi taksonomi harus memperhatikan beberapa hal yaitu harus ada dalam semua taksa yang dibandingkan, memiliki pengetahuan tentang gen atau wilayah genom lainnya untuk mengembangkan primer, tingkat evolusi gen harus sesuai dengan tingkat takson yang diteliti, mudah dilakukan alignment, dan bersifat homolog (Kress et al, 2005; Virgilio, 2012).

Kemajuan teknologi terbaru dalam seleksi genomik berdasarkan keragaman genetik telah banyak diteliti dengan identifikasi *Single Nucleotide Polymorfism* (SNP). Keragaman SNP yang tinggi memiliki cakupan genom yang lebih besar dan berguna untuk identifikasi daerah genom yang dilestarikan. SNP adalah setiap perubahan basa/ genotip pada nukleotida di posisi tertentu dalam urutan DNA (Sudrajad *et al.* 2016). SNP banyak ditemukan dan tersebar pada genom, sehingga keragaman genetik dapat diidentifikasi berdasarkan jumlah situs polimorfik, jumlah

haplotipe, keragaman haplotipe, keragaman nukleotida dan jarak genetik. Penelitian Urbinati *et al.* (2016) mengidentifikasi 11 SNP dan 13 SNP pada lokus BTA5 yang berkorelasi dengan resistensi /ketahanan ternak terhadap parasit, ketebalan daging, komposisi lemak daging, berat lahir sapi, berat sapih dan rata-rata pertambahan berat badan harian. SNP juga diketahui berhubungan dengan kualitas daging (*marbling*), kadar lemak subkutan pada sapi persilangan Wagyu×Limousin dan lemak intramuscular sapi persilangan *Bos taurus* (Pannier *et al.* 2010).

Penciri genetik / DNA *barcode* yang umumnya digunakan untuk studi keragaman adalah gen *cytochrome oxidase* subunit I (COI). Gen COI memiliki banyak kelebihan untuk mempelajari karakteristik genetik karena sedikit sekali mengalami delesi dan insersi pada sekuennya, serta banyak bagian yang bersifat *conserve* (struktur yang tetap) sehingga dapat digunakan sebagai DNA *barcode* pada sebagian besar spesies. Gen COI juga dapat digunakan untuk merekonstruksi filogenetik pada cabang evolusi tingkat spesies. Selain itu susunan asam amino dari protein yang disandi gen COI jarang mengalami substitusi sehingga gen COI bersifat stabil dan dapat digunakan sebagai penanda analisis filogeni, namun basa basa pada *triple* kodonnya masih berubah dan bersifat *silent* yaitu perubahan basa yang tidak mengubah jenis asam amino.

Salah satu teknik yang berkembang untuk mengetahui tingkat kekerabatan suatu organisme ialah teknik perbandingan materi genetik, dengan pemahaman bahwa adanya laju evolusi serta spesialisasi suatu populasi, pembuatan pohon

filogenetik berdasarkan materi genetik dapat merekonstruksi hubungan kekerabatan, dan metode *maximum likelihood* sesuai digunakan dalam konteks keilmuan saat ini (Aprilanto dan Sembiring, 2016). Tiga tahapan utama dalam rekonstruksi hubungan kekerabatan organisme berdasarkan karakter molekuler, yakni *sequence alignment*, rekonstruksi pohon filogenetik, dan evaluasi pohon filogenetik. Proses *sequence alignment* bertujuan pensejajaran sekuen DNA yang panjangnya berbeda berdasarkan posisi homolog. Proses alignment yang benar akan menghasilkan pohon yang benar. Proses ini memiliki asumsi bahwa suatu urutan DNA yang diwariskan dari nenek moyang pada keturunannya seharusnya tidak berbeda jauh dan mirip apabila dibandingkan antar satu turunan dengan lainnya (Rahayu dan Jannah, 2019).

Kemampuan produksi sapi potong diekspresikan dengan pertumbuhan bobot badan dan ukuran tubuh sejalan dengan penambahan umur (Ali dan Sodik, 2016). Ukuran tubuh merupakan ukuran penting dalam menilai sifat kuantitatif ternak yang dapat digunakan untuk program seleksi bibit. Penampilan sapi jantan yang baik dapat diukur dengan pengukuran dimensi tubuhnya berupa pengukuran bobot badan, tinggi badan, panjang badan dan lingkar dada (Rianto dan Endang, 2011). Lingkar dada memberikan kontribusi yang paling besar terhadap persamaan ukuran. Hal ini sesuai dengan pendapat Hikmawati *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa lingkar dada merupakan faktor penentu bentuk sapi Bali dan berkorelasi positif dan tertinggi dibandingkan ukuran tubuh lainnya (Hikmawati *et al.*, 2018; Mahmudi *et al.*, 2019).

Kondisi fisiologis hewan dapat dilihat atau ditentukan dari pemeriksaan hematologi. Adanya gangguan metabolisme, penyakit, kerusakan struktur atau fungsi organ, pengaruh agen/obat, dan stress dapat diketahui dari perubahan profil darah (Iheidioha *et al.* 2012). Ayadi *et al.* (2017) menyatakan bahwa darah merupakan jaringan cair yang terdiri atas dua bagian yaitu plasma darah dan sel darah. Sel darah terdiri dari tiga jenis yaitu trombosit, leukosit dan eritrosit. Studi tentang morfologi sel darah merah, sel darah putih dan trombosit bermanfaat dalam identifikasi jenis sapi (Adili *et al.* 2016). Menurut Syam dkk (2016), peran utama darah adalah sebagai media transportasi untuk membawa oksigen dari paru-paru ke sel-sel jaringan tubuh, membawa bahan makanan dari usus ke sel-sel tubuh, mengangkut zat-zat tak terpakai sebagai hasil metabolisme untuk dikeluarkan dari tubuh, mentransfer enzim-enzim dan hormon, mengatur suhu tubuh, keseimbangan cairan asam-basa, pertahanan tubuh terhadap infiltrasi benda-benda asing dan mikroorganisme serta ikut berperan dalam mempertahankan keseimbangan air serta penggumpalan (pembekuan darah), untuk mencegah terjadinya kehilangan darah yang berlebihan pada waktu luka.

Pemeriksaan hematologi yang sering digunakan untuk mengukur derajat kesehatan hewan adalah jumlah sel darah merah/eritrosit (RBC), profil kadar hemoglobin (Hb), presentase hematokrit (PCV), jumlah sel darah putih (WBC). Nilai hematokrit sering disebut sebagai PCV. Hematokrit merupakan perbandingan presentase eritrosit di dalam volume darah utuh (Siswanto 2011 ; Weiss & Wardrop, 2010).

## BAB 4

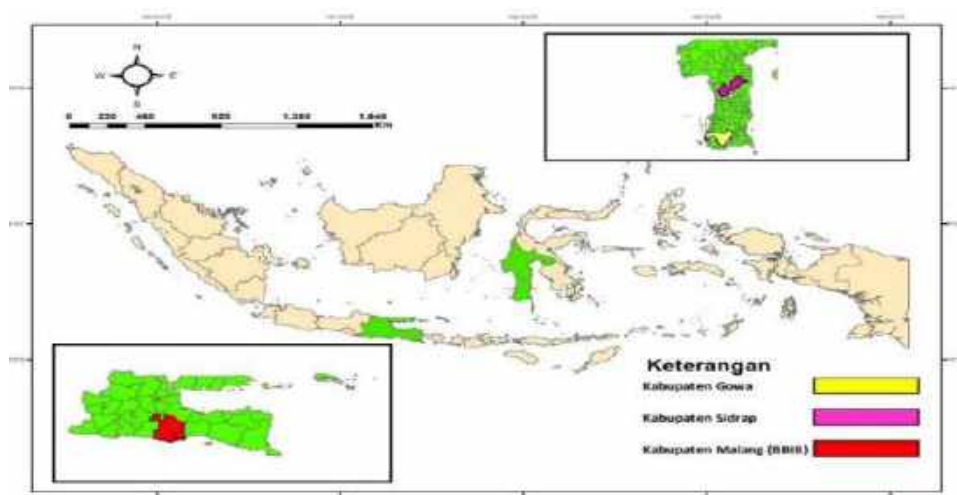
### MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan rancangan penelitian

##### 4.1.1 Tahap Pertama

##### 4.1.1.1 Koleksi sampel

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap. Tahap pertama dimulai dengan koleksi /pengumpulan sampel sebanyak dua puluh (20) sampel sapi di tiga lokasi (Gambar 4.1) yaitu sapi persilangan di Kabupaten Gowa sebanyak empat (4) sampel dan Kabupaten Sidrap Propinsi Sulawesi Selatan sebanyak sembilan (9) sampel serta sapi *purebred* milik BBIB Singosari Malang Jawa Timur sebanyak tujuh (7) sampel. Sampel sapi persilangan di Kabupaten Gowa diambil di Rumah Sapi D' Reppa merupakan program 1000 sapi Kementerian Pertanian terdiri dari sapi bakalan umur 3-4 tahun, berat badan rata-rata 300 kg, bebas cacat, dan dinyatakan sehat. Sampel sapi persilangan di Kabupaten Sidrap adalah sapi yang dipelihara masyarakat di desa Bulu rata-rata berumur 3-4 tahun. Sampel sapi pembandingan digunakan sapi *purebred* milik BBIB Singosari Malang.



Gambar 4.1 Lokasi Pengambilan sampel



#### 4.1.1.2 Ukuran Tubuh

Performan fisik sapi sampel diamati berdasarkan ukuran linier tubuh meliputi lingkaran dada, tinggi badan, dan panjang tubuh.

#### 4.1.1.3 Profil Hematologi dan Kimia Darah

Pengambilan sampel darah utuh (*whole blood*) untuk mengetahui profil darah/hematologi dan serum untuk pemeriksaan kimia darah sapi. Pengambilan sampel *whole blood* juga untuk analisis performan genetik sapi.

#### 4.1.2 Tahap kedua

Tahap kedua penelitian adalah melakukan isolasi dan analisis DNA sampel sapi untuk analisis performan genetik. Isolasi DNA dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Prinsip utama dalam isolasi DNA ada tiga yakni penghancuran (lisis), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Corkill & Rapley, 2008).

#### 4.1.3 Tahap ketiga

Tahap ketiga penelitian yaitu melakukan analisis hasil sekuensing untuk mengetahui keragaman genetik dan filogenetik sapi sampel. Keragaman genetik yang diamati meliputi komposisi nukleotida, jumlah SNP dan jenis mutasi nukleotida, jumlah nukleotida spesifik, jumlah dan jenis mutasi asinonim / *missense mutation*.

Data *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) nukleotida dan asam amino sapi sampel diamati korelasinya dengan profil hematologi serta kimia darahnya.

## 4.2 Jenis dan Jumlah Sampel

### 4.2.1 Pengujian Hematologi dan Kimia Darah

Sebanyak dua puluh ekor sapi diambil sampel darah utuh (*whole blood*) untuk pengukuran profil hematologi dan serumnya untuk pengukuran nilai kimia darah. Berdasarkan *International Committee for standardization in hematology* untuk memperoleh hasil yang akurat beberapa parameter maka proses pengambilan, transportasi dan penyimpanan sampel *whole blood* dalam EDTA sesuai dengan ketentuan dan sebaiknya segera diproses 4-8 jam setelah koleksi.

### 4.2.2 Isolasi dan Analisa DNA

Isolasi DNA adalah proses untuk mendapatkan DNA murni yang bebas dari RNA maupun protein lainnya, perbedaan berat molekul akan menyebabkan DNA naik ke atas dan yang lainnya di bawah (proses sentrifugasi). Isolasi DNA terhadap 20 buah sampel darah utuh (*whole blood*) sapi persilangan dan *purebred* menggunakan *ZymoBIOMICS™ lysis* dan *proteinase K*.

## 4.3 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. *DNA barcode* adalah teknik yang dirancang untuk memudahkan identifikasi dan mengkarakterisasi makhluk hidup secara cepat dan akurat karena menggunakan sekuen gen pendek dan telah terstandarisasi.
2. Keragaman genetik adalah suatu tingkatan biodiversitas yang merujuk pada jumlah total variasi genetik dalam keseluruhan spesies pada satu tempat tertentu.
3. Sapi Persilangan adalah hasil perkawinan dua jenis sapi yang berbeda.

4. Mutasi adalah perubahan pada basa nukleotida dapat berupa substitusi, insersi dan delesi satu nukleotida atau lebih.
5. Darah lengkap (*whole blood*) adalah darah yang diambil dari donor dengan menggunakan tabung vacutainer yang mengandung antikoagulan steril dan bebas pyrogen. Darah lengkap berisi sel darah merah, leukosit, trombosit, dan plasma, kemudian dilakukan penyimpanan pada suhu 2-8°C agar tetap stabil sebelum dilakukan pemeriksaan lebih lanjut.
6. Serum adalah bagian cair darah yang tidak mengandung sel-sel darah dan faktor pembekuan darah. Pemisahan serum paling lambat dilakukan 2 jam setelah pengambilan spesimen dan disimpan dalam keadaan terpisah dari sel eritrosit pada suhu 2-8°C agar tetap stabil sebelum dilakukan pemeriksaan lebih lanjut.
7. *Whole blood* / darah utuh adalah darah yang diperoleh dari donor darah standar dan mengandung plasma, sel darah putih, dan sel darah merah diambil menggunakan container atau kantong darah dengan antikoagulan yang steril dan bebas *pyrogen*.
8. Analisis filogenetik bertujuan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antara sekuen nukleotida sapi silangan dengan sekuen pembanding yang didapatkan dari *Genbank* berdasarkan gen COI (*Cytochrome C Oxidase I*).
9. Jarak genetik/evolusi bertujuan untuk mengetahui tingkat perbedaan nukleotida yang terjadi antara sekuen nukleotida sapi silangan dengan sekuen pembanding yang didapatkan dari *Genbank* berdasarkan gen COI (*Cytochrome C Oxidase I*) karena mutasi yang akan menyebabkan terjadinya evolusi.

10. Seleksi adalah suatu tindakan untuk memilih ternak yang dianggap mempunyai mutu genetik baik untuk dikembangkan lebih lanjut, ternak kurang baik tidak dikembangkan.
11. Polimorfisme nukleotida tunggal atau *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP, biasa dibaca "snip") adalah salah satu bentuk variasi materi genetik yang ditunjukkan oleh perbedaan nukleotida tunggal (adenin, timin, guanin, sitosin) di dalam susunan rangkaian basa DNA.
12. Pohon filogenetika atau pohon evolusi adalah diagram percabangan atau "pohon" yang menunjukkan hubungan evolusi antara berbagai spesies makhluk hidup berdasarkan kemiripan dan perbedaan karakteristik fisik dan/atau genetik.
13. Jarak genetik adalah jarak yang memisahkan dua gen dalam kromosom yang sama. Jarak genetik diukur dengan berbagai parameter. Jarak genetik yang kecil menunjukkan hubungan genetik yang dekat dan sebaliknya, jarak genetik yang besar menunjukkan hubungan genetik yang jauh.
14. Analisis *Multidimensional scale/perceptual mapping* adalah suatu prosedur yang memungkinkan seorang peneliti menentukan citra relatif yang dilihat pada seperangkat objek. Perbedaan persepsi di antara semua objek direfleksikan di dalam jarak relatif di antara objek-objek tersebut di dalam suatu ruangan multidimensi.

#### **4.4 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2021 – September 2022. Pengambilan sampel di Kabupaten Gowa dan Kabupaten Sidrap Sulawesi Selatan

dan Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Malang. Pengujian sampel untuk hematologi dan kimia darah di Laboratorium Padia (PNF *Animal Diagnostic Laboratory*). Isolasi DNA dan analisis sekuen dilakukan di Laboratorium Molekuler Professor Nidom Foundation Surabaya.

#### **4.5 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **4.5.1 Alat Penelitian**

Performan fisik lingkar dada sapi diukur dengan pita ukur, tongkat ukur yang digunakan untuk mengukur panjang badan dan tinggi badan.

Alat yang digunakan pemeriksaan profil hematologi adalah *Hematology Analyzer* yang merupakan alat pemeriksa darah otomatis multi fungsi (XS-800i Sysmex Europe GmbH, Germany). Pemeriksaan kimia darah menggunakan alat Chemistry analyzer, *Venoject*, *Vacutainer*.

Alat yang digunakan untuk ekstraksi DNA antara lain: Kit DNA Ekstraksi (*ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep KIT*), tabung *venoject*, *microtube*, *micropipet*, *multichannel pipet*, *yellowtip*, *white tip*, *centrifuge*, rak tabung, spuit tuberculin, pipet 10 ml, *thermal cycler PCR* (Biorad), tray dan *comb* untuk pembuatan gel agarose, *gel electrophoresis apparatus* (Merks), *sequencer ABI 310xL GENETIC ANALYSER* (Applied Biosystem).

##### **4.5.2 Bahan Penelitian**

Bahan utama yaitu sampel darah utuh (*whole blood*) dan serum sapi persilangan dan *purebred*. Bahan-bahan pendukung untuk ekstraksi DNA antara lain: Primer (Primer gen COI), Bahan Ekstraksi DNA (*Proteinase K*,

ZymoBIOMICS™ lysis buffer, ZymoBIOMICS™ DNA wash buffer 1 dan 2), Bahan PCR (PCR grade water, KOD One™ PCR Master Mix), Bahan Elektroforesis (*Triss Base, boric acid, agarose, Na2 EDTA, Ethidium bromide, Mark er DNA, DNA Loading dye*) (QIAGEN), gel agarose (invitrogen), tissue dan kertas parafilm.

#### **4.6 Metode Penelitian**

##### **4.6.1 Ukuran Tubuh.**

Ukuran tubuh yang diamati pada penelitian ini adalah lingkaran dada, panjang badan, dan tinggi badan yang pengukurannya menurut Awaluddin dan Panjaitan (2010) sebagai berikut :

1. Panjang badan, diukur dengan membentangkan tongkat ukur dari siku (*Humerus*) sampai benjolan yang terdapat pada tulang tapis (*Tuber ischii*) (cm).
2. Tinggi badan, jarak dari permukaan yang rata sampai bagian tertinggi pundak melewati bagian scapula secara tegak lurus, sedangkan alat ukur yang digunakan adalah tongkat ukur (cm).
3. Lingkaran dada, pengukuran dilakukan dengan pita ukur (cm) pada sekeliling rongga dada yang terdapat pada belakang punuk dan dibelakang sendi bahu (*Os scapula*).

##### **4.6.2 Pengambilan Sampel Penelitian**

Sebanyak dua puluh sampel darah utuh (*whole blood*) diambil sekitar 5 ml melalui *vena jugularis* yakni pada bagian satu per tiga proksimal dari kepala, satu per tiga ventral dari sulkus jugularis dengan menggunakan *venoject* dengan tabung

*vacuttainer* yang berisi EDTA dan kemudian disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam. Volume darah yang kurang atau berlebih menyebabkan perbandingan darah dan antikoagulan yang tidak sesuai, sehingga dapat mempengaruhi / mengganggu hasil pemeriksaan. Mencampur darah dan antikoagulan dengan cara membolak-balikan tabung perlahan-lahan sebanyak 8 kali. Proses pencampuran ini harus dilakukan dengan segera dan sempurna karena jika tidak akan menyebabkan darah beku sebagian atau trombosit bergerombol (hanya tampak secara mikroskopik). Hal seperti ini akan menyebabkan hitung jumlah trombosit menjadi rendah palsu. Spesimen darah (*whole blood*) dihindarkan kontak langsung dengan *ice gel* untuk meminimalkan resiko hemolisis dengan cara membungkus tabung dengan tissue yang cukup tebal, kemudian masukkan ke dalam plastik baru dan letakkan *ice gel* di sekitar spesimen. Spesimen disimpan pada suhu ruang atau pada suhu 2-8° C (lemari es) sebelum spesimen dikirim ke Laboratorium.

Serum sebanyak dua puluh sampel diambil melalui vena jugularis dan *vena coccigea* (pada bagian ekor) dengan menggunakan *venoject*. Sampel dimasukkan dalam tabung *vacuttainer* dan diberi label, kemudian dimiringkan agar serum terpisah. Serum didapatkan setelah sampel darah didiamkan selama 3-4 jam. Serum kemudian dipindahkan ke dalam *microtube* dan diberi label, selanjutnya disentrifus 3500 rpm selama 10 menit dan disimpan pada suhu -20 °C untuk pemeriksaan kimia darah. Hemolisis merupakan kejadian umum yang terjadi dalam sampel serum sehingga dapat mengganggu uji parameter laboratorium. Hemolisis dapat terjadi dari dua sumber, yaitu *in-vivo* hemolisis karena kondisi patologis dan *in-vitro* hemolisis oleh karena perlakuan terhadap spesimen yang tidak tepat dan

pengolahan spesimen. Darah yang tidak lisis ditandai dengan warna jernih pada serum.

#### 4.6.3. Pemeriksaan Hematologi dan Kimia Darah

Pemeriksaan hematologi dan kimia darah dilakukan di Laboratorium PADIA (*PNF Animal Diagnostic Laboratory*). Prosedur pemeriksaan hematologi dilakukan dengan menggunakan alat *hematology analyzer*. Sampel darah harus sudah homogen dengan antikoagulan. Kemudian memilih tombol *whole blood* “WB” pada layar monitor dan menuliskan nomor sampel yang akan digunakan pada komputer, selanjutnya menekan enter dan menekan bagian atas dari tempat sampel serta letakkan sampel ke dalam adaptor. Kemudian menutup tempat sampel hingga rapat dan menekan “RUN”. Setelah itu, secara otomatis hasil akan muncul pada layar.

Prosedur pemeriksaan kimia darah dilakukan dengan menggunakan alat *chemistry analyzer*. Setelah alat dinyalakan, kemudian menunggu proses “Start up” selama 15 menit, kemudian melakukan setting data dan parameter uji dalam display. Selanjutnya memasukkan reagen dan serum darah sesuai dengan kolom pada setting yang diinginkan. Setelah itu lakukan running dan menunggu sekitar 5 untuk dapat melihat hasilnya. Hasil pemeriksaan akan ditampilkan pada layar alat dalam bentuk nilai absorbansi dan juga parameter hasil pemeriksaan darah.

#### 4.6.4 Ekstraksi DNA

Darah 5 ml dilisiskan dalam *ependorf tube* steril yang ditambahkan 750 uL ZymoBIOMICS™ lysis dan 20 uL Proteinase K yang kemudian diinkubasi pada suhu 55°C selama 30 menit. Semua campuran diatas dimasukkan ke dalam *bead*



*beater* yang disangga oleh *tube* 2 ml, lalu *centrifuge* 10.000 rpm selama 1 menit. Pindahkan 400 uL supernatan ke dalam Filter Zymo-Spin™ III-F *tube* lalu *centrifuge* 8000 rpm selama 1 menit dan buang Filter Zymo-Spin™ III-F. Kemudian tambahkan 1200 uL binding buffer DNA ZymoBIOMICS™ ke dalam *tube* lalu dihomogenkan. Pindahkan 800 uL ke *tube* Zymo-Spin™ IICR Column yang baru, lalu *centrifuge* 10.000 rpm selama 1 menit, buang aliran dari tabung yang dipakai sebagai pengumpul. Kemudian tambahkan 400 uL ZymoBIOMICS™ DNA *wash buffer* 1 ke dalam *tube* yang baru lalu *centrifuge* 10.000 rpm selama 1 menit, buang aliran dari tabung yang dipakai sebagai pengumpul. Tambahkan 700 uL ZymoBIOMICS™ DNA *wash buffer* 2 ke dalam *tube* yang baru lalu *centrifuge* 10.000 rpm selama 1 menit, buang aliran dari tabung yang dipakai sebagai pengumpul dan tambahkan 200 uL ZymoBIOMICS™ DNA *wash buffer* 2 ke dalam *tube* yang baru lalu *centrifuge* 10.000 rpm selama 1 menit. Pindahkan *tube* Zymo-Spin™ IICR Column ke *tube microcentrifuge* 1,5 ml dan tambahkan 100 uL ZymoBIOMICS™ DNase free water lalu diinkubasi selama 1 menit dan *centrifuge* 10.000 rpm selama 1 menit untuk melulusi DNA. Tempatkan Filter Zymo-Spin™ III-HRC ke dalam *tube* baru dan tambahkan 600 uL HRC ZymoBIOMICS™ lalu *centrifuge* 8.000 rpm selama 3 menit. Pindahkan DNA yang telah dielusasi ke dalam *tube* Filter Zymo-Spin™ III-HRC yang baru dan *centrifuge* 16.000 rpm selama 3 menit dan DNA yang telah difilter bisa digunakan untuk PCR.

#### 4.6.5 Uji kuantitas dan kualitas DNA

##### 4.6.5.1 Uji kuantitas DNA

Uji kuantitas DNA hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan mesin *AE-Nano200 Nucleic Acid Analyzer*<sup>®</sup>. Blanko yang digunakan adalah ddH<sub>2</sub>O. ddH<sub>2</sub>O diteteskan langsung diatas *pedestal submicroliter cell* sebanyak 1µL, selanjutnya absorbansi blanko diukur dengan menekan tombol *blank* setelah *lid* (penutup) ditutupkan. Panjang gelombang yang digunakan adalah 260 nm dan 280 nm. Sebanyak 1 µL sampel diteteskan diatas pedestal *submicroliter cell* yang telah dibersihkan. *Lid* ditutup diatas sampel yang telah diteteskan dan ditekan tombol *sample* kemudian ditunggu hingga hasilnya keluar di layar monitor.

##### 4.6.5.2 Uji Kualitas DNA

Uji kualitas isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan gel elektroforesis *agarose* 1% dengan tujuan untuk mengetahui regio DNA target. Uji kualitas DNA dilakukan dengan menggunakan mesin *PowerPac Basic Power Supply* dan menggunakan gel *agarose* 1%. Gel dengan sumuran yang telah terbentuk kemudian dimasukkan ke dalam *chamber Bio Rad - wide Mini-Sub cell GT DNA electrophoresis*. Hasil deteksi diamati pada *UV-transilluminator gel doc* dan diamati hasilnya. Hasil tervisualiasasi pada *Bio-Rad Ez Gel Imager* dan dilakukan analisis.

#### 4.6.6 Amplifikasi DNA

Hasil ekstraksi DNA dilanjutkan ke tahap berikutnya yaitu amplifikasi. Amplifikasi dilakukan menggunakan satu pasang primer. Primer yang digunakan untuk amplifikasi sesuai dengan Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Primer gen COI (*Cytochrome C Oxidase I*) HCO 2198 dan LCO 1490

Primer	Sekuen 5'-3'	Produk	Acuan
<i>Forward</i>	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'	709bp	Folmer <i>et al.</i> , 1994
<i>Reverse</i>	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'		

Amplifikasi gen COI (*Cytochrome C Oxidase I*) dilakukan dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *Master mix* pada *microcentrifuge tube* 0.5 ml steril terdiri dari *PCR grade water* 12  $\mu$ L, *KOD One<sup>TM</sup> PCR Master Mix* 25  $\mu$ l, 1,5  $\mu$ l *primer forward* 10  $\mu$ mol, 1,5  $\mu$ l *primer reverse* 10  $\mu$ mol, dan 10  $\mu$ l sampel DNA sehingga total larutan didapatkan 50  $\mu$ l. Amplifikasi *in vitro* dengan mesin *thermal cycler* dilakukan dengan kondisi denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada suhu 95°C selama 45 detik, penempelan primer pada suhu 60°C selama 45 detik dan pemanjangan DNA baru pada suhu 72°C selama 1 menit dan pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 5 menit.

#### 4.6.7 Elektroforesis

DNA dapat dilihat dengan menggunakan metode elektroforesis secara horisontal dengan 1,5% gel agarosa. Gel agarosa dibuat dengan mencampur agarosa ke penyangga 1 X TAE yang telah dididihkan di microwave selama 30 detik kemudian ditunggu sampai dengan suhu menjadi 60°C dan menambahkan 0,12 ml / ml *ethidium bromide* sehingga DNA dapat dilihat di bawah sinar ultra violet. Menuangkan cairan agarosa ke dalam wadah elektroforesis, kemudian didiamkan selama 15 – 20 menit. Melakukan elektroforesis selama 90 menit (tergantung pada konsentrasi gel dan voltase), 55 volt. DNA bisa dilihat menggunakan UV transluminar.

#### 4.6.8 Sekuensing

##### 4.6.8.1 Purifikasi hasil PCR

Produk PCR yang dihasilkan harus dipurifikasi terlebih dahulu untuk persiapan sekuensing. Fragmen DNA hasil PCR dipurifikasi dengan menggunakan *Low melting Agarose* yang mengandung *ethidium bromide* dilihat pada *UV short wave*. *Band* yang diinginkan diambil dengan pemotongan menggunakan cutter. Setelah dipotong, DNA tersebut diproses sesuai petunjuk pada *QIAquick Gel extraction Kit* (Qiagen). DNA yang sudah murni selanjutnya digunakan untuk bahan sekuensing DNA.

##### 4.6.8.2 Sekuensing DNA

Sekuensing nukleotida ini dilakukan tiga tahap, tahap pertama adalah melakukan tahap *labelling* yaitu DNA yang sudah murni dilabel dengan *Big Dye Terminator* kit versi 3.1. Penambahan reagen ini bertujuan untuk memberikan *fluoresensi* yang digunakan untuk membedakan urutan nukleotida. Pada tahap ini mesin *thermocycler* diprogram dalam keadaan suhu *initial denaturation* 96 °C selama 1 menit, kemudian sebanyak 5 siklus pada suhu 96 °C selama 10 detik, 50 °C selama 5 detik dan 60 °C selama 4 menit. Tahap kedua yaitu melakukan purifikasi *cycle sequencing* menggunakan *Big Dye X Terminator* yang bertujuan untuk memurnikan nukleotida dan menghilangkan *Big Dye Label* yang tersisa. Setelah itu, tahap terakhir yaitu melakukan sekuensing dengan menggunakan mesin sequenser *ABI 310 xL GENETIC ANALYSER (Applied Biosystems, Inc)*.

## 4.7 Analisis Data

### 4.7.1 Data Performan Fisik dan *Single Nucleotida Polymorphism* / SNP

Analisis hasil pengamatan pada penelitian berupa ukuran linier tubuh, profil hematologi dan kimia darah dilakukan secara deskriptif.

### 4.7.2 Hasil Sekuensing

Data hasil sekuensing berupa *elektroferogram* dalam bentuk *ABI file*. Setelah menggabungkan sekuen *forward* dan *reverse*, dilakukan pemotongan sekuen sesuai dengan posisi *primer* yang telah ditentukan. Sekuen referensi yang digunakan sebagai patokan diletakkan pada bagian paling atas kemudian diikuti dengan sampel. Analisis *Reference* sekuen dan sekuen hasil menggunakan *software Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) versi 11 (Tamura *et al.*, 2021).

### 4.7.3 Analisis Filogenetik

Hasil pensejajaran *sekuen* menjadi acuan dalam penentuan jarak genetik menggunakan analisis perhitungan *Pairwise Distance Calculation* dengan model 2 Parameter Kimura, berdasarkan rata-rata “jarak genetik p” (*p-distance*) dilanjutkan dengan analisa menggunakan *construct/test neighbor joining tree* dengan *bootstrap* 1000 ulangan untuk melihat kedekatan antar isolat.

Penjajaran nukleotida dianalisis menggunakan program *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA) versi 21 untuk menggambarkan jarak genetik dan pohon filogeni. Konstruksi pohon filogeni *Neighbor-Joining* (NJ) dibuat berdasarkan urutan nukleotida sampel dan data *Genbank*. Homologi atau tingkat kemiripan dianalisis lebih lanjut dengan program *Basic Local Alignment*

*Search Tool (BLAST)*. Pohon filogeni digunakan untuk menunjukkan hubungan genetik sapi persilangan dalam populasi dan juga diluar populasi.

#### 4.7.4 Analisis korelasi bivariat (*Pearson Correlation*)

Analisis korelasi bivariat (*Pearson Correlation*) dilakukan untuk mengetahui adanya korelasi keragaman genetik (SNP) nukleotida dan asam amino sebagai variabel dependen dengan gambaran hematologi dan kimia darah sebagai variabel independennya. Korelasi positif bermakna bahwa hubungan kedua variabel berbanding lurus, sedangkan korelasi negatif bermakna bahwa hubungan kedua variabel berbanding terbalik. Kekuatan atau derajat korelasi parameter-parameter tersebut terhadap SNP dapat diukur dengan berpedoman pada kriteria berikut :

1. Nilai *Pearson Correlation* 0,00 s/d 0,20 = tidak ada korelasi atau sangat lemah.
2. Nilai *Pearson Correlation* 0,21 s/d 0,40 = korelasi lemah
3. Nilai *Pearson Correlation* 0,41 s/d 0,60 = korelasi sedang
4. Nilai *Pearson Correlation* 0,61 s/d 0,80 = korelasi kuat
5. Nilai *Pearson Correlation* 0,80 s/d 1,00 = korelasi sangat kuat atau sempurna

#### 4.7.5 Analisis *Multidimensional Scale* (MDS)

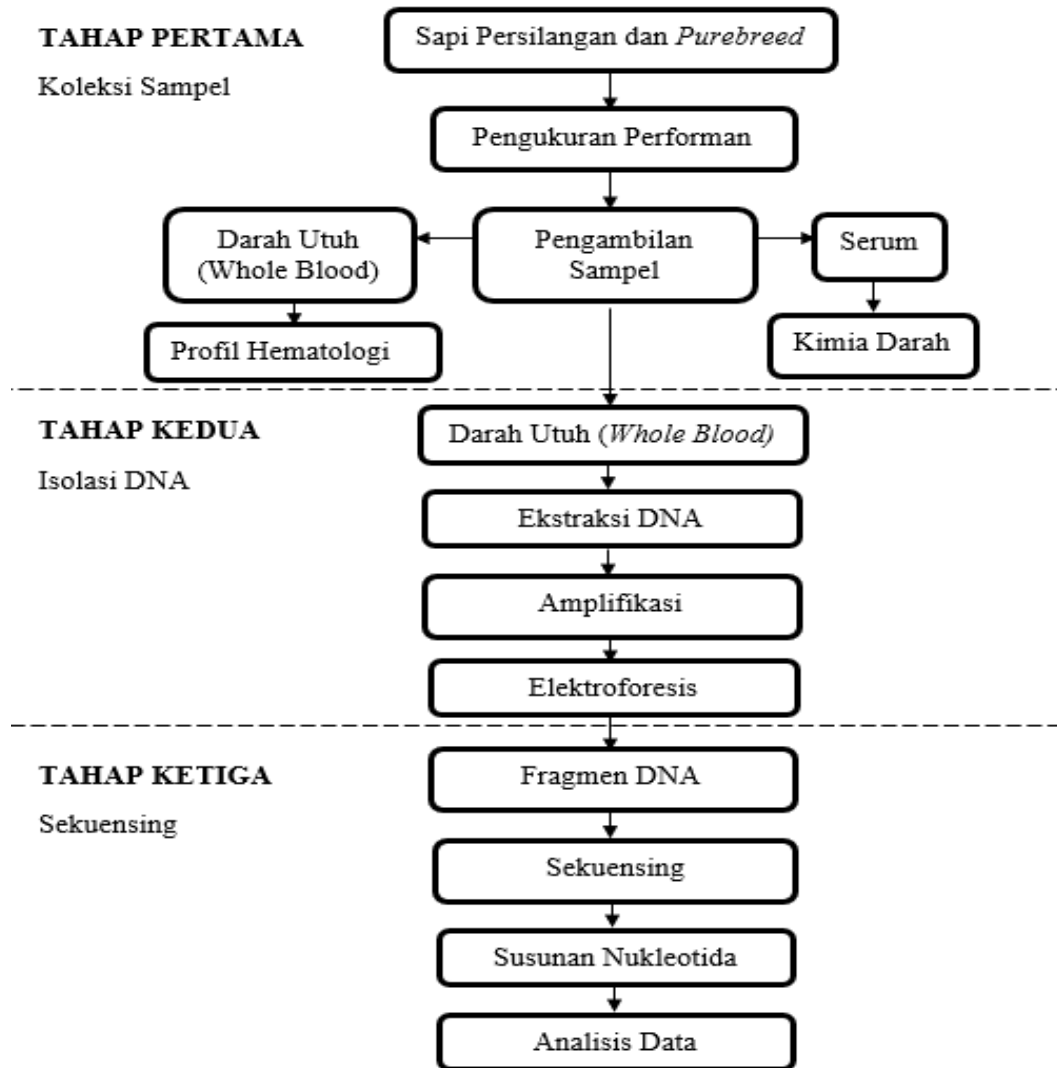
Analisis *Multidimensional Scale* untuk mengetahui kemiripan sapi sampel berdasarkan data keragaman genetik dengan gambaran hematologi dan kimia darahnya. Hasil analisis MDS dapat menggambarkan posisi kuadran sapi *purebred* dan persilangan berdasarkan kemiripan dalam bentuk grafik (*Map*). Hasil pengukuran validitas analisis MDS ditunjukkan dengan nilai  $R^2$  atau *Goodness of Fit*, dengan kriteria sebagaimana pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Kriteria Nilai Stress

Nilai Stress	Kriteria
>20%	Buruk
10% - 20%	Cukup
5.1% -10%	Baik
2.5% - 5%	Sangat baik
<2.5%	Sempurna

(Janssens, W., De Pelsmacker,P., Wijnen,K & Van Kenhove, 2008)

## 4.8 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 4.2 Kerangka Operasional Penelitian



## BAB 5

## HASIL PENELITIAN

## 5.1 Tahap Pertama

## 5.1.1 Koleksi Sampel

Tahap awal penelitian yang berjudul “DNA *Barcode* untuk mendeteksi Keragaman Genetik Sapi Persilangan Di Sulawesi Selatan” adalah melakukan koleksi sampel sapi persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap serta sampel sapi *purebred* milik Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Malang. Sebanyak dua puluh sampel (20) terdiri dari tujuh (7) jenis sapi *purebred* dan tiga belas (13) jenis sapi persilangan digunakan sebagai sampel. Data pemilik dan asal sapi persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap serta identitas sapi *purebred* milik BBIB Singosari dapat dilihat pada Lampiran 1. Identitas sapi *purebred* dan persilangan sebagai sampel sebagaimana pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Jenis Sapi dan Kode Sampel Sapi *Purebred* dan Persilangan

<i>Purebreed</i>	Sapi Persilangan Kab Gowa	Sapi Persilangan Kab Sidrap
S1 : Ongole	Sp A : Limousine - PO	Sp1 : Limousine - Bali
S2 : Bali	Sp B : Angus - PO	Sp2 : Simmental - Bali
S3 : Limousine	Sp E : Brahman - PO	Sp5 : Bali - Limousine - Limousine
S4 : Madura	Sp F : Simmental - PO	Sp6 : Bali - Limousine - Brahman
S5 : Angus		Sp7 : Bali - Brahman
S6 : Brahman		Sp8 : Bali - Limousine - Madura
S7 : Simmental		Sp9 : Bali - Brahman - Simmental
		Sp10 : Bali - Madura
		Sp11 : Bali - Simmental - Limousine

## 5.1.2 Ukuran Tubuh

Sapi sampel diamati performan fisiknya berdasarkan ukuran linier tubuh meliputi lingkar dada, tinggi badan dan panjang tubuhnya. Data ukuran tubuh sapi sampel dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Data Ukuran Linier Tubuh Sapi Persilangan dan *Purebred* umur 3-4 tahun

## a. Kabupaten Sidrap

No	Jenis Sapi Persilangan	LD(cm)	PB(cm)	TB(cm)
1	Sp1	160	125	120
2	Sp2	164	130	121
3	Sp5	188	132	130
4	Sp6	191	136	139
5	Sp7	170	120	123
6	Sp8	185	132	128
7	Sp9	190	134	134
8	Sp10	158	120	118
9	Sp11	172	129	124
	Mean	175±13,314	128±5,809	126±6,982

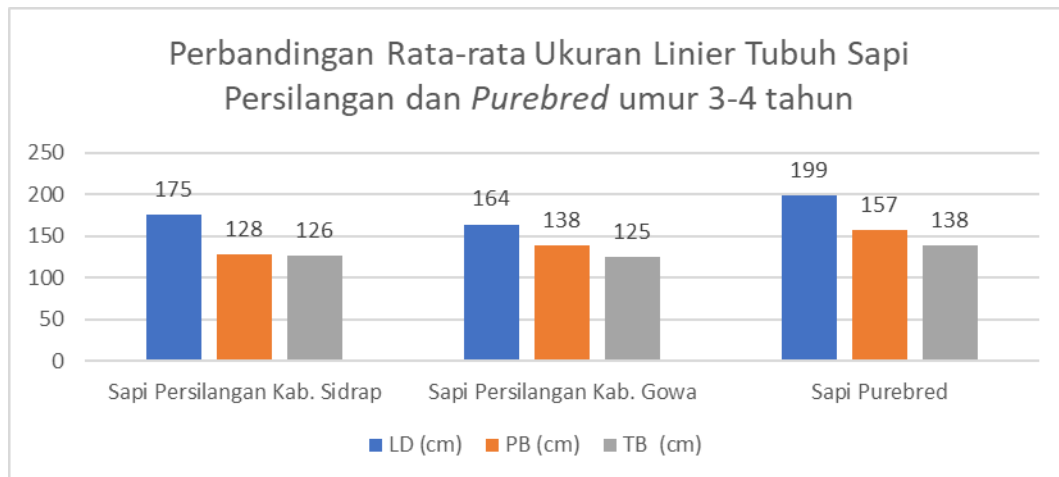
Keterangan : LD =Lingkar dada, PB= Panjang badan TG=Tinggi Badan

## b. Kabupaten Gowa

No	Jenis Sapi Persilangan	LD(cm)	PB(cm)	TB(cm)
1	SpA	168	148	124
2	SpB	168	130	124
3	SpE	156	134	123
4	SpF	164	141	129
	Mean	164±5,657	138±7,932	125±2,708

c. *Purebred* BBIB Singosari

No	Jenis Sapi Persilangan	LD(cm)	PB(cm)	TB(cm)
1	S1 / Ongole	175	139	133
2	S2 / Bali	179	133	134
3	S3 / Limousine	242	177	141
4	S4 / Madura	191	147	136
5	S5 / Angus	217	173	136
6	S6 / Brahman	168	145	142
7	S7/ Simmental	221	191	146
	Mean	199±27,863	157±22,177	138±4,786



Gambar 5.1 Perbandingan rata-rata ukuran linier tubuh sapi persilangan dan purebred umur 3-4 tahun

Berdasarkan Tabel 5.2 dan Gambar 5.1 diperoleh gambaran rata-rata hasil pengukuran linier tubuh yaitu lingkaran dada sapi persilangan yang ada di Kabupaten Sidrap sebesar  $175 \pm 13,314$ , di Kabupaten Gowa  $164 \pm 5,657$  cm, dan sapi *purebred*  $199 \pm 27,863$ . Rata-rata panjang badan sapi persilangan di Kabupaten Gowa  $138,25 \pm 7,932$  cm, di Kabupaten Sidrap  $128 \pm 5,809$  cm, dan sapi *purebred*  $157 \pm 22,177$ . Tinggi badan rata-rata sapi persilangan di Kabupaten Gowa  $125 \pm 2,708$  cm, dan di Kabupaten Sidrap  $126 \pm 6,982$  cm, sedangkan sapi *purebred* yaitu  $138 \pm 4,786$  cm.

### 5.1.3 Profil Hematologi dan Kimia Darah

Pengambilan sampel yang lain berupa darah utuh (*whole blood*) untuk pengujian hematologi dan serum darah untuk pengujian kimia darah. Profil darah berguna untuk mengetahui status kesehatan sapi dan sebagai penunjang diagnosa penyakit.

Pengujian hematologi dilakukan meliputi jumlah sel darah merah/RBC, sel darah putih/WBC, hemoglobin/ HGB, hematokrit/ HCT, trombosit/ PLT, *mean*

*corpuscular volume/MCV*, *mean corpuscular hemoglobin/MCH*, *mean corpuscular hemoglobin concentration/MCHC*, sedangkan kimia darah diuji kadar total protein, albumin, globulin, SGOT, SGPT, *alkaline fosfatase/ALP*, kolesterol total.

Hasil pemeriksaan profil hematologi sapi *purebred* dan sapi persilangan sebagaimana pada Tabel 5.3. Gambar 5.2 menggambarkan profil hematologi tertinggi dan terendah untuk masing-masing parameter hematologi dua puluh sampel (20) sapi persilangan dan *purebred*.

Profil hematologi menunjukkan bahwa rata-rata jumlah WBC sapi sampel relatif lebih tinggi ( $11,350 \pm 14,34 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) terhadap nilai normal ( $4.0-12.0 \times 10^3/\text{mm}^3$ ), dan nilai tertinggi pada sapi persilangan Angus-PO/SpB ( $68,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ ). Jumlah WBC yang relatif tinggi ditemukan juga pada sapi persilangan Simmental-PO/SpF ( $25 \times 10^3/\mu\text{l}$ ), Brahman-PO/SpE ( $18,1 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) dan persilangan Limousine-Bali/Sp1 ( $11 \times 10^3/\mu\text{l}$ ). Hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah total RBC sapi sampel diperoleh hasil yaitu ( $5,314 \pm 2,064 \times 10^6/\mu\text{l}$ ), nilai normal RBC adalah ( $5.0-10.0 \times 10^6/\text{mm}^3$ ).

Tabel 5.3 Data hasil pengujian Hematologi

NO	Jenis Sapi	Hematologi							
		WBC 4.0-12.0 (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	RBC 5.0-10.0 (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	HGB 8-15 g/dL	HCT 24-46 (%)	PLT 100-800 (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	MCV 40-60 μm <sup>3</sup>	MCH 11-17 pg	MCHC 30-36 g/dL
1	S1	4.8	2.86	5.0	17.1	390.0	60.0	17.6	29.4
2	S2	5.2	5.98	11.6	44.5	602.0	74.0	19.4	26.1
3	S3	7.4	8.27	11.1	39.1	163.0	47.0	13.4	28.3
4	S4	4.8	5.87	8.2	27.7	489.0	47.0	13.9	29.5
5	S5	7.0	7.07	12.0	37.3	324.0	53.0	53.0	32.3
6	S6	8.6	7.84	11.2	39.2	268.0	50.0	14.3	28.6
7	S7	5.7	9.37	11.4	40.9	246.0	44.0	27.9	27.9
8	SpA	3.0	4.58	6.5	23.8	210.0	52.0	14.2	27.3
9	SpB	68.5	0.59	7.6	3.8	1324.0	64.0	127.2	200.0
10	SpE	18.1	4.28	6.1	19.0	413.0	44.0	14.3	32.2
11	SpF	25.0	4.56	6.4	22.0	223.0	48.0	14.0	29.0
12	Sp1	11	3.1	7.7	11.5	4995.0	37.0	24.7	66.5
13	Sp2	7.8	4.06	8.5	15.9	2509.0	39.0	21.0	53.6
14	Sp5	8.6	5.11	8.3	19.8	1792.0	39.0	16.3	41.9
15	Sp6	5.4	5.3	8.7	22.6	1288.0	43.0	16.3	38.3
16	Sp7	6.9	5.5	8.8	24.0	667.0	44.0	16.0	36.6
17	Sp8	7.4	6.86	9.6	30.6	1141.0	45.0	14.0	31.4
18	Sp9	7.1	6.3	8.5	28.1	720.0	45.0	13.6	30.3
19	Sp10	8.0	5.42	8.8	22.0	1107.0	41.0	16.3	40.1
20	Sp11	6.7	3.96	7.40	15.8	1250.0	40.0	18.7	46.7
	Mean	11,350 ± 14,34	5,314 ± 2,064	8,670 ± 1,978	25,235 ± 10,718	47,8 ± 9,2	47,8 ± 9,2	24,305 ± 25,8	43,8 ± 38,15

Keterangan :

WBC : White Blood Cell

PLT : Platelet/ trombosit

RBC : Red Blood Cell

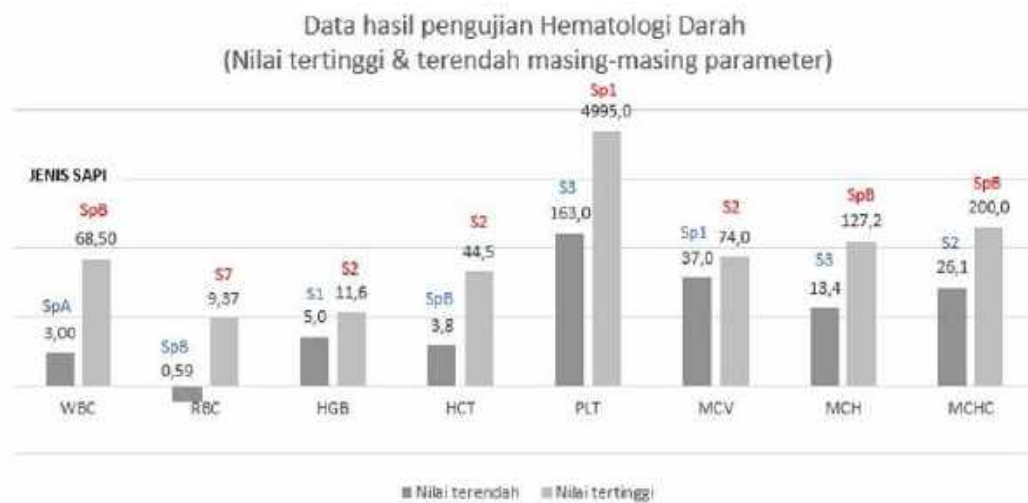
MCV : Mean corpuscular volume

HGB : Haemoglobin

MCH : Mean corpuscular hemoglobin

HCT : Hematocrit

MCHC : Mean corpuscular hemoglobin  
concentration



Keterangan : S2 : Sapi Bali. S3 : Limousine. Sp 1 : Persilangan Limousine – Bali.

S7 : Bali – Brahman. Sp B : Angus – PO

Gambar 5.2 Grafik Hasil Pengujian Hematologi Darah

Sapi *purebred* Simmental memiliki jumlah RBC tertinggi diantara *purebred* yang lain yaitu ( $9,37 \times 10^6/\mu\text{l}$ ) dan nilai RBC terendah ditemukan pada sapi persilangan Angus-PO ( $0,59 \times 10^6/\mu\text{l}$ ). Sapi Bali-Limousine-Madura memiliki jumlah RBC tertinggi diantara sapi persilangan lainnya ( $6,86 \times 10^6/\mu\text{l}$ ). Jumlah RBC mencakup jumlah total RBC, hematokrit (HCT), hemoglobin (HGB), indeks eritrosit meliputi lebar distribusi sel merah/ *red cell distribution width* (RDW). Indeks eritrosit termasuk *mean corpuscular volume* (MCV), *mean corpuscular hemoglobin* (MCH), dan konsentrasi *hemoglobin corpuscular mean* (MCHC) (Brockus, 2011).

Hemoglobin sebagai protein didalam sel darah merah berfungsi sebagai pengangkut oksigen dan mengedarkan ke seluruh jaringan tubuh, dan mengangkut karbondioksida ke paru-paru. Kadar hemoglobin rata-rata sapi sampel diperoleh

hasil yaitu  $8,670 \pm 1,978$  g/d, sedangkan nilai normal (8-15 g/dL). Sapi dengan hemoglobin tertinggi yaitu sapi Angus, Bali dan Bali-Limousine-Madura.

Hematokrit (*packed cell volume*/PCV) adalah pengukuran volume sel darah merah sebagai persentase dari seluruh darah. Nilai PCV dan total protein plasma sangat berharga untuk menilai defisit cairan dan memantau respons terhadap terapi cairan. Nilai hematokrit rata-rata sapi sampel yaitu ( $25,235 \pm 10,718$  %), nilai normalnya 24-46 %, dan nilai tertinggi berdasarkan hasil penelitian pada sapi Bali (44,5%), dan sapi persilangan Bali-Limousine-Madura (30,6%). Kisaran normal nilai PCV sapi bali hasil penelitian Diparayoga dkk (2014) adalah 31,5% -34,7%.

Fungsi utama trombosit atau platelet adalah sebagai faktor dalam pembekuan darah. Konsep dasar pembekuan darah merupakan suatu proses reaksi kimia yang melibatkan protein plasma, fosfolipid dan ion kalsium. Hasil penelitian menunjukkan jumlah rata-rata trombosit sapi sampel ( $1006,05 \pm 1122,97 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) lebih tinggi daripada nilai trombosit normal ( $100-800 \times 10^3/\text{mm}$ ). Sapi persilangan Limousine-Bali memiliki jumlah trombosit tertinggi. Sapi persilangan Simmental-Bali, Angus-PO, Bali-Limousin-Limousin dan Bali-Limousin-Brahman memiliki trombosit relatif tinggi dibanding sapi persilangan lainnya.

Nilai MCV, MCH, dan MCHC sering digunakan sebagai indeks kadar RBC berasal dari nilai hemoglobin, *packed cell volume* (PCV) atau hematokrit dan jumlah sel merah. Menurut Stockham dan Scott (2008) MCV menurun jika eritrosit lebih kecil dari normal (mikrositik), MCV meningkat jika eritrosit lebih besar dari normal (makrositik). MCH akan meningkat dalam keadaan

makrositosis (Nordenson, 2002 cit. Anggayasti, 2007). Makrositosis yaitu eritrosit yang berukuran lebih besar dari normal. Nilai MCHC yang lebih tinggi dari normal disebut hiperkromik atau konsentrasi Hb dalam darah lebih tinggi dari normal. Berdasarkan Gambar 4.2 dan 4.3 rata-rata nilai MCV sapi sampel yaitu  $(47,8 \pm 9,2)$  fl nilai standarnya adalah 40-60 fl. Hasil penelitian menunjukkan nilai MCV sampel tertinggi pada sapi *purebred* Bali, selain itu sapi *purebred* Ongole dan sapi persilangan Angus-PO juga tinggi. Menurut penelitian Diparayoga dkk (2014) nilai MCV normal sapi bali yaitu 39-50 fl. Nilai rata-rata MCH yang diperoleh pada sapi sampel yaitu  $(24,305 \pm 25,8)$  pg, sedangkan nilai normalnya 11-17 pg. Berdasarkan hasil penelitian, sapi persilangan Angus-PO memiliki nilai MCH tertinggi, sapi *purebred* Angus juga memiliki nilai MCH relatif tinggi. Menurut Diparayoga dkk (2014) nilai MCH normal sapi Bali hasil penelitiannya yaitu 11,6-15,2 pg. Hasil penelitian menunjukkan nilai MCHC rata-rata sapi sampel yaitu  $(43,8 \pm 38,15)$  g/dL, sedangkan nilai normalnya 30-36 g/dL

Pengujian profil metabolik menurut Nozad *et al.* (2012), dapat digunakan untuk memeriksa status nutrisi dan metabolik ternak secara individu maupun kelompok. Salah satu panel pemeriksaan profil metabolik adalah pemeriksaan protein total beserta fraksi utamanya (albumin dan globulin). Peningkatan atau penurunan konsentrasi protein total dianggap sebagai suatu abnormalitas. Peningkatan atau penurunannya dalam sirkulasi darah dipengaruhi oleh konsentrasi albumin atau globulin atau keduanya. Rata-rata nilai kimia darah sapi sampel terhadap nilai total protein, albumin, globulin, SGOT, SGPT, *alkaline fosfatase/ALP*, kolesterol total dapat dilihat pada Tabel 5.4.



Tabel 5.4 Data hasil pengujian Kimia Darah Sapi Persilangan dan *Purebred*

NO	Jenis Sapi	Kimia darah						Cholesterol Tot
		Tot Protein 6.7-7.5 g/dL	Albumin 2.5-3.8 g/dL	Globulin 3.0-3.5 g/dL	SGOT 60-125 U/L	SGPT 11-40 U/L	ALP 27-127 U/L	
1	S1	5.7	3.1	3.9	46.0	45.0	136.0	139.0
2	S2	6.8	3.5	3.3	72.0	34.0	47.0	86.0
3	S3	7.3	3.1	4.2	81.0	24.0	153.0	166.0
4	S4	8.2	3.8	4.4	94.0	28.0	115.0	128.0
5	S5	7.6	3.2	4.4	88.0	33.0	77.0	98.0
6	S6	7.0	3.1	3.9	46.0	45.0	136.0	139.0
7	S7	8.3	3.1	5.2	110.0	46.0	118.0	112.0
8	SpA	7.9	2.8	5.1	98.0	25.0	124.0	97.0
9	SpB	6.5	2.9	3.6	90.0	30.0	96.0	124.0
10	SpE	8.64	2.5	6.1	69.0	40.0	78.0	17.0
11	SpF	7.4	1.9	5.45	143.0	39.0	40.0	105.0
12	Sp1	6.4	3.0	2.6	129.0	29.0	84.0	99.0
13	Sp2	6.74	2.6	4.14	75.0	44.0	22.0	123.0
14	Sp5	8.64	2.5	6.14	69.0	40.0	78.0	117.0
15	Sp6	7.44	1.9	5.45	143.0	39.0	40.0	105.0
16	Sp7	5.2	2.7	2.5	47.0	20.0	67.0	105.0
17	Sp8	5.3	3.2	2.1	124.0	24.0	275.0	145.0
18	Sp9	4.9	3.1	1.8	129.0	20.0	349.0	190.0
19	Sp10	6.1	3.1	3.0	98.0	67.0	98.0	83.0
20	Sp11	5.8	2.5	3.3	98.0	67.0	98.0	83.0
	Mean	6,893 ± 1,149	2,88 ± 0,470	4,029 ± 1,277	92,45 ± 30,38	36,950 ± 13,304	111,55 ± 77,948	113,47 ± 36,608

Keterangan :

SGOT : *Serum glutamic oxaloacetic transaminase*SGPT : *serum glutamic pyruvic transaminase*ALP : *Alkaline Phospatase*



Gambar 5.3 Grafik Hasil Pengujian Kimia Darah

Nilai rata-rata total protein sapi sampel yaitu ( $6,893 \pm 1,149$  g/dL) sedangkan nilai normalnya ( $6.7-7.5$  g/dL). Kadar protein total tertinggi pada sapi persilangan Brahman-PO, sapi Bali-Limousine-Limousine dan sapi Madura memiliki kadar total protein relatif tinggi. Albumin berfungsi untuk menjaga keberadaan air dalam plasma darah sehingga bisa mempertahankan volume darah. Albumin juga berfungsi sebagai sarana pengangkut yang membawa unsur-unsur yang kurang larut dalam air untuk melewati plasma darah dan cairan sel. Rata-rata konsentrasi albumin sapi sampel adalah ( $2,88 \pm 0,470$  g/dL), sedangkan nilai standarnya yaitu  $2.5-3.8$  g/dL. Konsentrasi albumin tertinggi ditemukan pada sapi *purebred* Madura dan Bali.

Globulin merupakan salah satu fraksi utama protein dalam darah. Berguna untuk sirkulasi ion, hormon dan asam lemak. Beberapa jenis globulin mengikat hemoglobin, beberapa lainnya mengikat zat besi, berfungsi untuk melawan infeksi, dan bertindak sebagai faktor koagulasi (Kaslow 2010). Berdasarkan hasil penelitian konsentrasi rata-rata globulin relatif lebih tinggi ( $4,029 \pm 1,277$  g/dL)

dari konsentrasi standar (3.0-3.5 g/dL). Konsentrasi globulin tertinggi ditemukan pada sapi Bali-Limousine-Limousine, selain itu sapi Brahman-PO juga memiliki konsentrasi globulin relatif tinggi.

SGOT dan SGPT adalah dua jenis enzim yang dihasilkan oleh sel-sel hati. Kedua enzim ini digunakan sebagai indikator pada pemeriksaan fungsi hati. Jika kadar SGOT dan SGPT meningkat dalam darah, maka hal ini pertanda adanya kerusakan pada sel-sel hati. Hasil penelitian menunjukkan nilai rata-rata SGOT pada sapi sampel adalah  $(92,450 \pm 30,38 \mu/L)$ , nilai standar adalah 60-125  $\mu/L$ . Sapi persilangan Simmental-PO dan Bali-Limousin-Brahman memiliki nilai SGOT lebih tinggi daripada standar. Kadar SGPT rata-rata diantara sapi sampel yaitu  $(36,950 \pm 13,304 \mu/L)$ , sedangkan kadar normalnya adalah 11-40  $\mu/L$ . Berdasarkan hasil penelitian kadar SGPT tertinggi ditemukan pada sapi Bali-Madura dan sapi Bali-Simmental-Limousin.

Enzim *Alkaline Phospatase (ALP)* merupakan enzim yang berfungsi untuk membantu memecah protein dalam tubuh. Sebagian besar ALP dihasilkan oleh organ hati, tetapi enzim tersebut juga bisa dihasilkan di tulang, usus, pankreas, dan ginjal. Kadar ALP mengindikasikan masalah kesehatan pada organ hati atau kantong empedu. Ini termasuk penyumbatan di saluran empedu, batu empedu, sirosis, kanker hati, dan beberapa jenis hepatitis. Suchit *et al.* (2015) menjelaskan bahwa kenaikan nilai ALP disebabkan oleh adanya aktivitas proses perbaikan jaringan *duktus biliverus* yang rusak oleh parasit seperti *hyperplasia duktus biliverus*, *cholangitis*, kerusakan/ penyumbatan *duktus biliverus*. Hasil penelitian menunjukk nilai rata-rata ALP sapi sampel adalah  $(111,55 \pm 77,948$

$\mu/L$ ), sedangkan nilai standarnya yaitu 27-127  $\mu/L$ . Sapi Bali-Brahman-Simmental memiliki nilai ALP tertinggi.

Lemak dalam darah tersebut terdiri dari 3 komponen biokimia yang penting, diantaranya adalah lipoprotein, kolesterol total, dan trigliserid (Kathleen dan Jenice, 2017). Kolesterol total adalah gabungan dan gambaran dari komponen lemak dalam darah yang terdiri dari semua bagian lipoprotein, yaitu 60% - 70% LDL, 20% - 30% HDL, dan 10% - 15% VLDL (Kathleen & Jenice, 2017). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rata-rata nilai kolesterol total sapi sampel ( $113,47 \pm 36,608$  mg/dL), sedangkan nilai standarnya yaitu 65-220 mg/dL. Nilai kolesterol total sapi sampel yang tertinggi pada sapi Bali-Brahman-Simmental.

## **5.2 Tahap Kedua**

### **5.2.1 Isolasi dan Analisis DNA**

Tahap kedua penelitian adalah melakukan isolasi dan analisis DNA terhadap 20 sapi sampel untuk mengetahui performan genetiknya. Sampel darah utuh (*whole blood*) sapi persilangan dan *purebred* diekstraksi menggunakan *ZymoBIOMICS<sup>TM</sup> lysis* dan *proteinase K*.

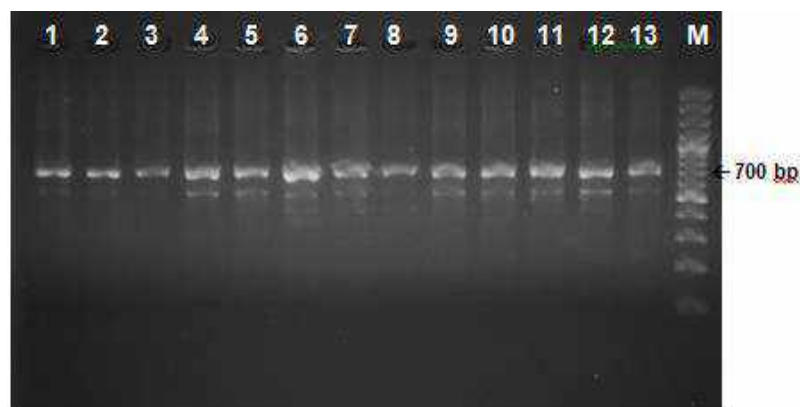
### **5.2.2 Uji Kuantitas dan Kualitas DNA**

Uji kuantitas dan kualitas DNA hasil isolasi diukur menggunakan panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Hasil penelitian pada 20 ekor sapi diperoleh pengukuran konsentrasi DNA rata-rata berkisar antara 372,6 – 764,6 ng/ $\mu$ l dengan tingkat kemurnian DNA nya berkisar antara 1,8 – 1,96, kecuali sapi Brahman yaitu 1,69, Sapi persilangan (Bali-Limousine) yaitu 1,75, dan sapi persilangan (Bali-Limousine-Madura) sebesar 1,63 (Lampiran 3). Hasil isolasi DNA selanjutnya dimigrasikan pada gel agarosa 1.5% dan dilihat dengan UV

transluminator. DNA total tersebut selanjutnya digunakan sebagai cetakan DNA untuk mengamplifikasi gen COI dengan menggunakan teknik PCR.

### 5.2.3 Amplifikasi DNA

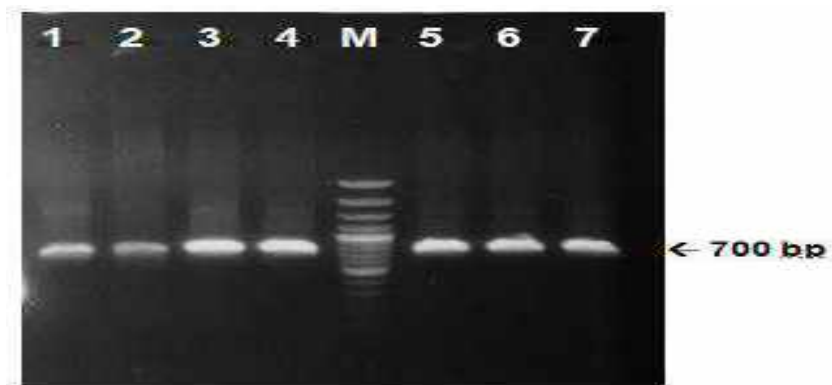
Hasil ekstraksi DNA dilanjutkan ke tahap berikutnya yaitu amplifikasi. Amplifikasi gen COI (*Cytochrome C Oxidase I*) dilakukan dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan satu pasang primer gen COI HCO 2198 dan LCO 1490 (Folmer *et al.*, 1994). Primer Forward 5' TAAACTTCAGG GTGACCAAAAATCA 3' dan Reverse 5' GGTCAAATCATAAAGATAT TGG-3'. Oleh karena itu, salah satu modifikasi untuk meningkatkan konsentrasi templet DNA (*DNA template*) dan keberhasilan amplifikasi DNA adalah dengan meningkatkan volume templet DNA menjadi 2  $\mu$ l – 4  $\mu$ l. Hasil amplifikasi gen COI yang telah diisolasi menggunakan teknik PCR sebanyak 13 sampel sapi persilangan menunjukkan adanya tiga belas pita (*band*) sepanjang 700 bp sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 5.4.



Keterangan: M = Marker 100 bp; 1 = SpA; 2 = SpB ;3 = SpE; 4 = SpF; 5 = Sp1; 6 = Sp2; 7 = Sp5;8 = Sp6; 9 = Sp7; 10 = Sp8; 11 = Sp9; 12 = Sp10; 13 = Sp11

Gambar 5.4 Hasil PCR Sampel Sapi persilangan

Hasil PCR tujuh sampel sapi *purebred* lebih tebal ditunjukkan pada Gambar 5.5. Hasil ini sesuai dengan penelitian Sharma & tobayashi, (2014) tentang *primer universal* COI HCO 2198 dan LCO 1490 dengan produk hasil PCR sebesar 710 bp.



Keterangan: M = Marker 100 bp; 1 = Sp Ongole; 2=Sp Bali;  
3 = Sp Lim; 4 = Sp Mdr; 5 = Sp Angus; 6 = Sp Brahman;  
7 = Sp Sim

Gambar 5.5 Hasil PCR Sapi *Purebred*

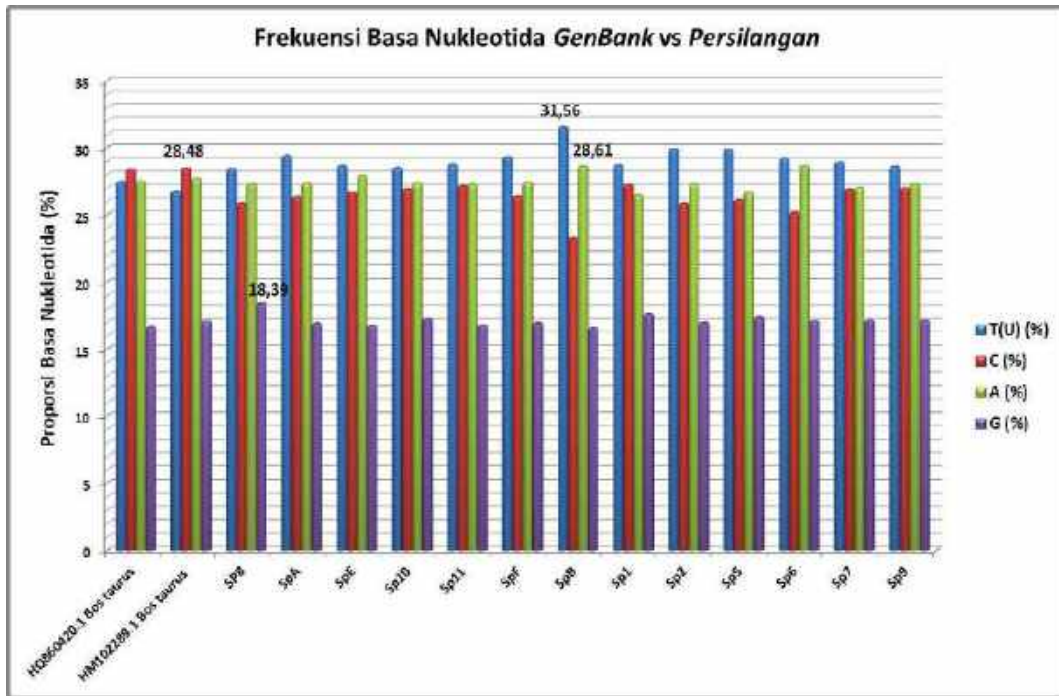
### 5.3 Tahap ketiga

#### 5.3.1 Analisis Hasil Sekuensing

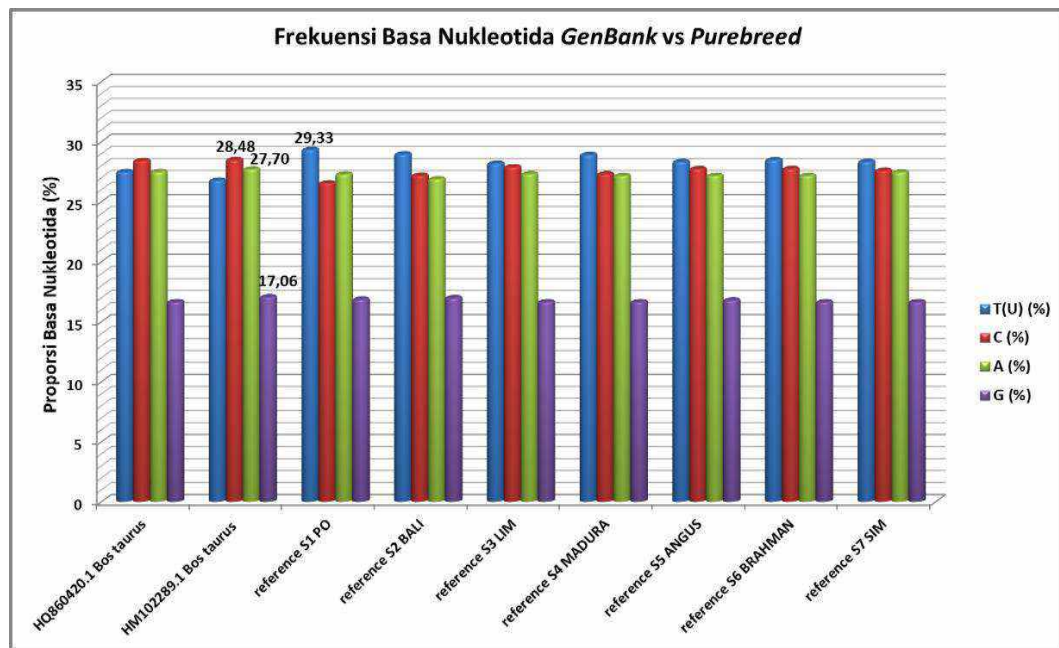
Tahap ketiga penelitian ini adalah melakukan analisis sekuensing terhadap 20 sampel sapi. Performan genetik dapat memberikan informasi keragaman genetik sapi persilangan. Keragaman genetik sapi sampel dianalisis berdasarkan komposisi nukleotida, identifikasi *single nucleotide polymorphism* (SNP), nukleotida spesifik, mutasi asinonim /*missense mutation*, jarak genetik, homologi. Konstruksi pohon filogenetik untuk mengetahui kekerabatan diantara sapi sampel dengan metode *neighbor joining*.

### 5.3.2 Komposisi Nukleotida

Hasil analisis sekuensing gen COI terhadap 20 (dua puluh) sampel sapi *purebred* dan sapi persilangan diperoleh komposisi nukleotida terdiri atas timin (T) 28,86%, sitosin (C) 26,78%, adenin (A) 27,38% dan Guanin (G) 16,99%. Total basa nukleotida A+T sebesar 56,24%, sedangkan G+C sebesar 43,77%, nilai GC<AT (Lampiran 4). Komposisi nukleotida berhubungan dengan laju substitusi, hasil penelitian menunjukkan mutasi substitusi transisi lebih besar dibandingkan dengan substitusi transversi. Komposisi rata-rata basa nukleotida sapi persilangan sebagaimana pada Gambar 5.6, dan sapi *purebred* pada Gambar 5.7. Hasil penelitian menunjukkan jumlah timin dan adenin pada sapi persilangan (Angus-PO) memiliki jumlah T=31,56%, A=28,61% tertinggi diantara sapi sampel. Sapi persilangan Simmental-Bali juga memiliki jumlah timin relatif tinggi T= 29,93, sedangkan jumlah adenin juga ditemukan relatif tinggi pada sapi persilangan Bali-Limousine-Brahman A= 28,61%. Jumlah timin pada Sapi Ongole T= 29,3% dan adenin pada Simmental A= 27,45% lebih tinggi diantara sapi *purebred* lainnya.



Gambar 5. 6 Komposisi Nukleotida Sapi Persilangan



Gambar 5.7 Komposisi Nukleotida Sapi Purebred



Berdasarkan analisis probabilitas terjadinya substitusi basa di antara sapi sampel sebagaimana pada Gambar 5.8, diperoleh hasil yang berbeda pada probabilitas frekuensi terjadinya substitusi nukleotida yaitu transisi A>G dan G>A memiliki kemungkinan 23,45 kali dan 38,81 kali lebih besar daripada transisi dan transversi basa nukleotida lainnya.

Maximum Composite Likelihood Estimate of the Pattern of Nucleotide Substitution				
	A	T	C	G
A	-	2.81	2.8	<b>23.45</b>
T	2.83	-	<b>8.71</b>	1.71
C	2.83	<b>8.73</b>	-	1.71
G	<b>38.81</b>	2.81	2.8	-

NOTE:-- Each entry shows the probability of substitution (r) from one base (row) to another base (column)[1]. For simplicity, the sum of r values is made equal to 100. Rates of different transitional substitutions are shown in **bold** and those of transversionsal substitutions are shown in *italics*. The nucleotide frequencies are 27.88% (A), 27.67% (T/U), 27.61% (C), and 16.84% (G). This analysis involved 22 nucleotide sequences. Codon positions included were 1st+2nd+3rd+Noncoding. All positions containing gaps and missing data were eliminated (complete deletion option). There were a total of 625 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA11 [2]

Gambar 5. 8 Probabilitas substitusi antar basa

### 5.3.3 Identifikasi SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) Nukleotida dan Asam Amino

Situs polimorfik menunjukkan perbedaan antara individu dalam satu spesies (Takahashi & Kariyazono, 2020). Hasil *alignment* /pensejajaran 770 nt gen COI terhadap 20 sekuen sapi sampel *purebred* dan sapi persilangan menunjukkan situs nukleotida spesifik gen COI sebanyak 53,89% (415/770) nukleotida yang bersifat tetap / *conserved* dan 42,2% (325/770) nukleotida variabel. Nukleotida variabel terdiri atas 15,97% (123/770) nukleotida *parsimony informative* dan 22,7% (176/770) nukleotida *singleton*.

Hasil penelitian menunjukkan sekuen gen COI 770 nt menyandi 256 asam amino pada sapi *purebred* dan persilangan. Hasil juga menunjukkan situs mutasi

substitusi basa nukleotida sapi *purebred* dan sapi persilangan sebanyak 962 yang terdiri dari 618 transisi, 179 transversi, 158 insersi dan 7 delesi. Sapi Bali paling banyak ditemukan mutasi nukleotida diantara sapi *purebred* lainnya yaitu 62 titik, sapi Ongole sebanyak 38 titik dan sapi Madura sebanyak 8 titik.

Substitusi basa pada sapi persilangan paling banyak ditemukan pada sapi persilangan (Angus-PO/SpB) sebanyak 127 titik, sapi (Bali-Limousine-Brahman/Sp6) sebanyak 94 titik dan (Bali-Limousine-Limousine/ Sp5) sebanyak 87 titik. Keragaman SNP nukleotida, mutasi asinonim / *missense mutation* dan jumlah nukleotida spesifik sapi *purebred* dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan Lampiran 5.

Berdasarkan hasil pensejajaran gen COI menunjukkan bahwa mutasi basa sitosin menjadi timin (C>T) ditemukan pada beberapa sapi *purebred*, antara lain sapi Bali, Ongole dan Madura.

SNP T>C ditemukan pada sapi Ongole, Bali, Madura dan Limousine. Mutasi basa A>G dan G>A ditemukan pada sapi Ongole, Bali dan Madura. Mutasi basa A>C dan C>A, A>T, dan G>C ditemukan pada sapi Ongole dan Bali. Mutasi A>T ditemukan juga pada sapi Madura, Brahman, dan Simmental. Berdasarkan Tabel 5.5 ditemukan juga insersi T dan A pada sapi *purebred* PO dan Bali. *Delesi* T, C dan G ditemukan pada sapi *purebred* Bali dan beberapa sapi persilangan.

Tabel 5.5 Jumlah SNP Nukleotida dan *missense mutation*, dan SNP spesifik sapi *Purebred*

No	Jenis Sapi	SNP Nukleotida		SNP Asinonim / <i>missense mutation</i>		SNP Spesifik (Titik)
		Jumlah (titik)	Jenis Mutasi	Jumlah (titik)	Jenis Mutasi	
1	S1	38	C>T, T>C, A>G, G>A, C>A, A>C, A>T, G>C, ->T, ->C, ->G	2	A>G → Q>R ->T → ->L	6
2	S2	62	C>T, T>C, A>G, T>A G>A, C>A, A>C, A>T, G>C, ->T, ->A, ->G	29	C>T → S>L, T>I P>L, S>F T>C → L>P, F>S, I>T, L>P, F>S A>G → Q>R, Y>C E>G G>C → S>T G>A → R>H, C>Y, R>Q A>C → Y>S A>T → E>V, Y>L Y>F	4
3	S3	1	T>C	0		1
4	S4	8	C>T, T>C, A>G, G>A, A>T	1	A>T → *>L	2
5	S5	0	-	0		0
6	S6	1	A>T	0		26
7	S7	3	C>T, A>T, T>A	0		5

Keterangan : S1: sapi Ongole S2 : Bali, S3 : Limousine. S4: Madura, S5: Angus, S6: Brahman, S7: Simmental. Basa C (sitosin). T (Timin). A (Adenin). G (Guanin) E : Asam glutamat Asam amino. Q : Glutamin, R : Arginin, L: Leusin, F: Fenilalanin, S: Serin, G: Glisin H: Histidin, Y: Tirosin, P: Prolin, I: Isoluesin, C: Sistein, T: Treonin V : Valin

Keragaman SNP Nukleotida, *missense mutation* dan SNP spesifik sapi persilangan dapat dilihat pada Tabel 5.6 dan lampiran 5.

Tabel 5.6 Jumlah SNP Nukleotida dan *missense mutation*, SNP spesifik sapi persilangan

No	Jenis Sapi	SNP Nukleotida		SNP Asinonim / <i>missense mutation</i>		SNP Spesifik (Titik)
		Jumlah (titik)	Jenis Mutasi	Jumlah (titik)	Jenis Mutasi	
1	SpA	57	C>T,T>C,A>G, G>A,C>A,A>C,A>T,G>C, ->T, ->C, C>-	1	T>C →M>T	0
2	SpB	127	C>T,T>C,A>G,C>G, G>A,C>A,A>C,A>T,G>C, ->T, ->A, ->C, C>-	3	A>T →Y>L Y>F C>G →P>R	102
3	SpE	44	C>T,T>C,A>G, G>A,C>A,A>C,A>T,G>C, ->T, ->C, C>-, ->G	0		5
4	SpF	55	C>T,T>C,A>G, G>A,C>A,A>C,A>T,G>C, ->C, ->G	0		1
5	Sp1	60	C>T,T>C,A>G, G>A,C>A,A>C,A>T, ->T, ->C,C>-,G>-,T>-,C>-, ->A, ->G	0		1
6	Sp2	61	C>T,T>C,A>G,G>C G>A,C>A,A>C,A>T, T>A ->T, ->C, C>-, ->A, ->G	21	C>T →S>L, T>I, P>L, S>F T>C →F>S A>G →Q>R, E>G, Y>C G>A →R>H, C>Y R>Q A>C →Y>S A>T →E>V	3
7	Sp5	87	C>T,T>C,A>G,G>C G>A,C>A,A>C,A>T, T>A ->T, ->C, C>-, ->A, ->G	12	C>T →S>F, P>L S>L. T>C →F>S A>G →Q>R, C>G Y>C A>T →E>V, Y>F G>A →R>H, C>Y R>Q A>C →Y>S	10
8	Sp6	94	C>T,T>C,A>G,C>G, G>A,C>A,A>C,A>T,G>C, ->T, ->A, ->C, ->G	14	C>T →P>L,S>L T>I, S>F A>G →E>G,Y>C G>A →C>Y C>A →T>N, T>K G>C →R>P	26

No	Jenis Sapi	SNP Nukleotida		SNP Asinonim / <i>missense mutation</i>		SNP Spesifik (Titik)
		Jumlah (titik)	Jenis Mutasi	Jumlah (titik)	Jenis Mutasi	
9	Sp7	51	C>T,T>C,A>G,G>A T>A,C>A,A>C,A>T,T>G, G>T, ->T, C>-, ->G	0		1
10	Sp8	63	C>T,T>C,A>G,G>A T>A,C>A,A>C,A>T,T>G, C>G, ->T, ->G, ->C, ->A	0		14
11	Sp9	73	C>T,T>C,A>G,G>A T>A,C>A,A>C,A>T,T>G, G>T, ->T, C>-, ->G, ->A	0		0
12	Sp10	52	C>T,T>C,A>G,G>A T>A,C>A, A>T,T>G, T>-, ->T, C>-, ->G,A>-	0		2
13	Sp11	45	C>T,T>C,A>G,G>A T>A,C>A,A>C,A>T,T>G, G>T, ->T.	0		0

Sapi persilangan SpB (Angus-PO) ditemukan mutasi C>T terbanyak yaitu 28 titik, Sp2 (Simmental-Bali) 25 titik, Sp A (Limousine-PO) 23 titik dan Sp 6 (Bali-Limousine-Brahman) 22 titik. Mutasi SNP T>C terbanyak ditemukan pada sapi persilangan (Simmental-Bali), diikuti sapi (Bali-Brahman-Simmental), (Bali-Madura) dan (Bali-Simmental-Limousine). Substitusi A>G terbanyak ditemukan pada sapi Bali dan persilangan (Bali-Limousine-Limousine), G>A terbanyak ditemukan pada sapi Bali dan persilangan (Bali-Brahman-Simmental). Mutasi *transversi* C>A dan A>T banyak ditemukan pada sapi persilangan (Angus-PO).

Sapi persilangan terbanyak ditemukan insersi T dan A yaitu sapi persilangan (Bali-Limousine-Limousine) dan (Bali-Limousine-Brahman). Sapi persilangan (Angus-PO) dan (Brahman-PO) juga ditemukan insersi T dan A.

#### 5.3.4 Nukleotida Spesifik

Berdasarkan hasil *multiple alignment*, diperoleh sebanyak 176 situs nukleotida spesifik sapi *purebred* dan sapi persilangan yang merupakan basa nukleotida penciri sebagai pembeda dari masing-masing jenis sapi. Sapi Bali, Ongole, Madura, Limousine dan Simmental memiliki komposisi basa nukleotida spesifik diantara sapi *purebred*. Sapi persilangan (Angus-PO) memiliki nukleotida spesifik terbanyak yaitu 102 titik, sapi persilangan (Bali-Limousine-Brahman) sebanyak 26 titik dan (Bali-Limousine-Madura) sebanyak 14 titik. Gambaran sapi sampel dengan jumlah basa nukleotida spesifik sebagaimana dalam Tabel 4.5 dan 4.6 dan Lampiran 5. Mutasi spesifik terbanyak adalah perubahan sitosin menjadi timin (C>T) yang ditemukan pada sapi Bali basa ke 511, sapi persilangan (Bali-Limousine-Madura) ada 3 titik yaitu basa ke 282, 325 dan 424. Sapi persilangan (Brahman-PO) pada basa ke 576, sapi (Bali-Madura) pada basa ke 291 dan 510. Sapi persilangan (Simmental-Bali) memiliki basa spesifik C>T ditemukan pada posisi 579, sapi (Bali-Limousine-Limousine) ada 2 titik yaitu 603 dan 721 sedangkan pada sapi (Bali-Limousine-Brahman) pada basa ke 102,461,538 dan 676. Sapi persilangan (Angus-PO) ditemukan basa spesifik C>T sebanyak 26 titik yang dapat digunakan sebagai penanda genetik

#### 5.3.5 Mutasi asinonim/*missense mutation*

Keragaman genetik sapi *purebred* dan sapi persilangan pada penelitian ini dapat dilihat selain dengan menganalisa mutasi nukleotida juga perubahan asam aminonya. Tidak semua mutasi gen menyebabkan perubahan pada asam amino. Jika asam aminonya tidak berubah, mutasi gen tidak akan berpengaruh terhadap

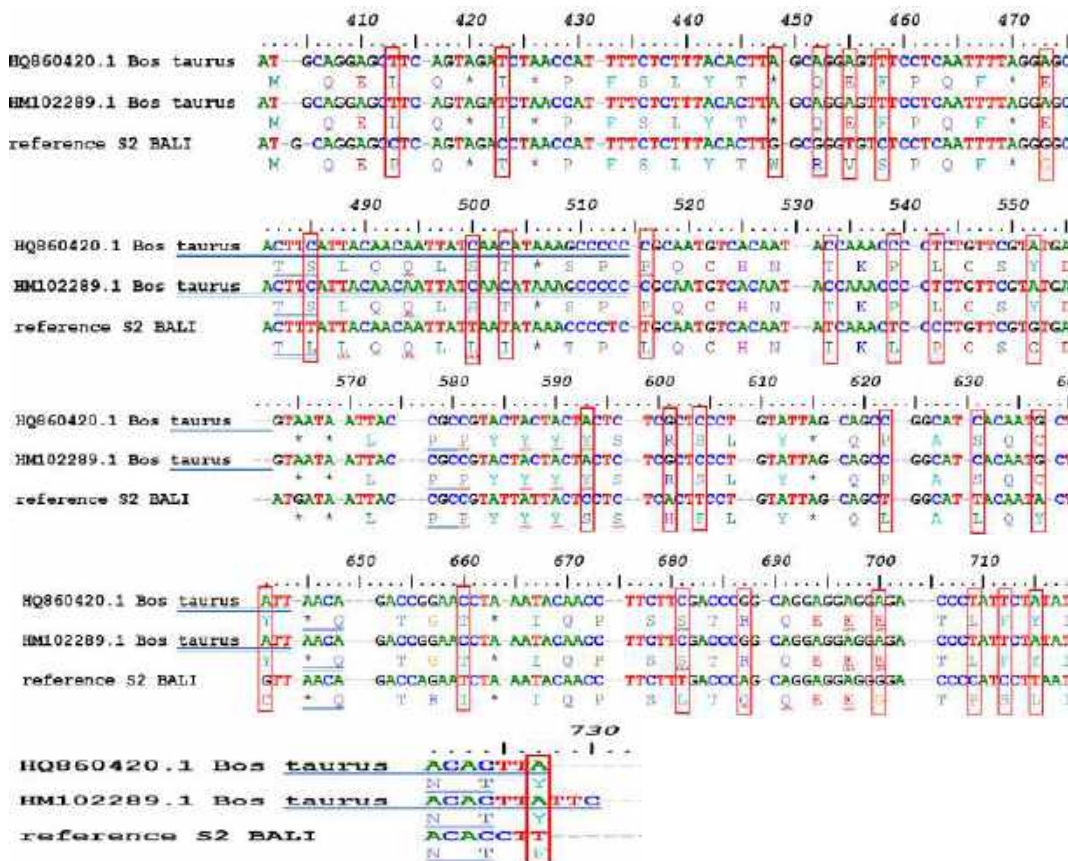
fungsi suatu protein yang disusun oleh asam amino tersebut. Oleh karena itu selain analisa mutasi gen, kita perlu juga melakukan analisa terhadap asam aminonya.

Berdasarkan hasil pensejajaran pada Tabel 5.5 dapat dilihat mutasi nukleotida yang mempengaruhi perubahan asam amino pada sapi Bali mendominasi diantara sapi *purebred* lainnya. *Missense mutation* dapat dijadikan sebagai penanda yang ditemukan pada sapi Ongole adalah perubahan basa adenin menjadi guanin pada posisi 691 yang dapat mengubah asam amino glutamin menjadi arginin. Mutasi asinonim pada sapi Bali antara lain basa sitosin menjadi timin mempengaruhi perubahan asam amino serin menjadi leusin pada basa ke 485, 500 dan 631. Perubahan basa tersebut juga mempengaruhi asam amino timin menjadi isoleusin pada basa ke 503 dan 533, serta asam amino prolin menjadi leusin pada basa ke 516, 539 dan 622. Mutasi basa adenin menjadi guanin pada posisi basa ke 552 dan 646 akan mengubah asam amino tirosin menjadi sistein, serta mengubah asam amino glutamin menjadi arginin. Sapi Madura dapat ditandai dengan mutasi adenin menjadi timin yang menyebabkan insersi asam amino leusin.

#### a. Ongole

	650	660	670	680	690
HQ860420.1 Bos taurus	ATT AACA	GACCGGAACCTA	AATACAACC	TTCTTCGACCCGG	CAGGAG
	Y * Q	T G T +	I Q P	S S T R	Q E
HM102289.1 Bos taurus	ATT AACA	GACCGGAACCTA	AATACAACC	TTCTTCGACCCGG	CAGGAG
	Y * Q	T G T +	I Q P	S S T R	Q =E
reference S1 PO	GTT AACA	GACCGGAACCTA	AATACAACA	TTCTTTGACCCAGCAGGAAG	
	V N	R P E P	K Y N	I L * P S	R K

b. Bali



c. Madura



Gambar 5.9 Urutan nukleotida sapi *purebred* yang berubah asam aminonya

Mutasi asinonim sapi persilangan sebagaimana pada Tabel 5.6 dan paling banyak ditemukan pada sapi persilangan (Simmental-Bali), (Bali-Limousine-Limousine), dan (Bali-Limousine-Brahman). Beberapa situs posisi mutasi asinonim pada sapi persilangan tersebut sama dengan yang ditemukan pada sapi Bali, sehingga sapi persilangan tersebut berpotensi digunakan sebagai penanda.



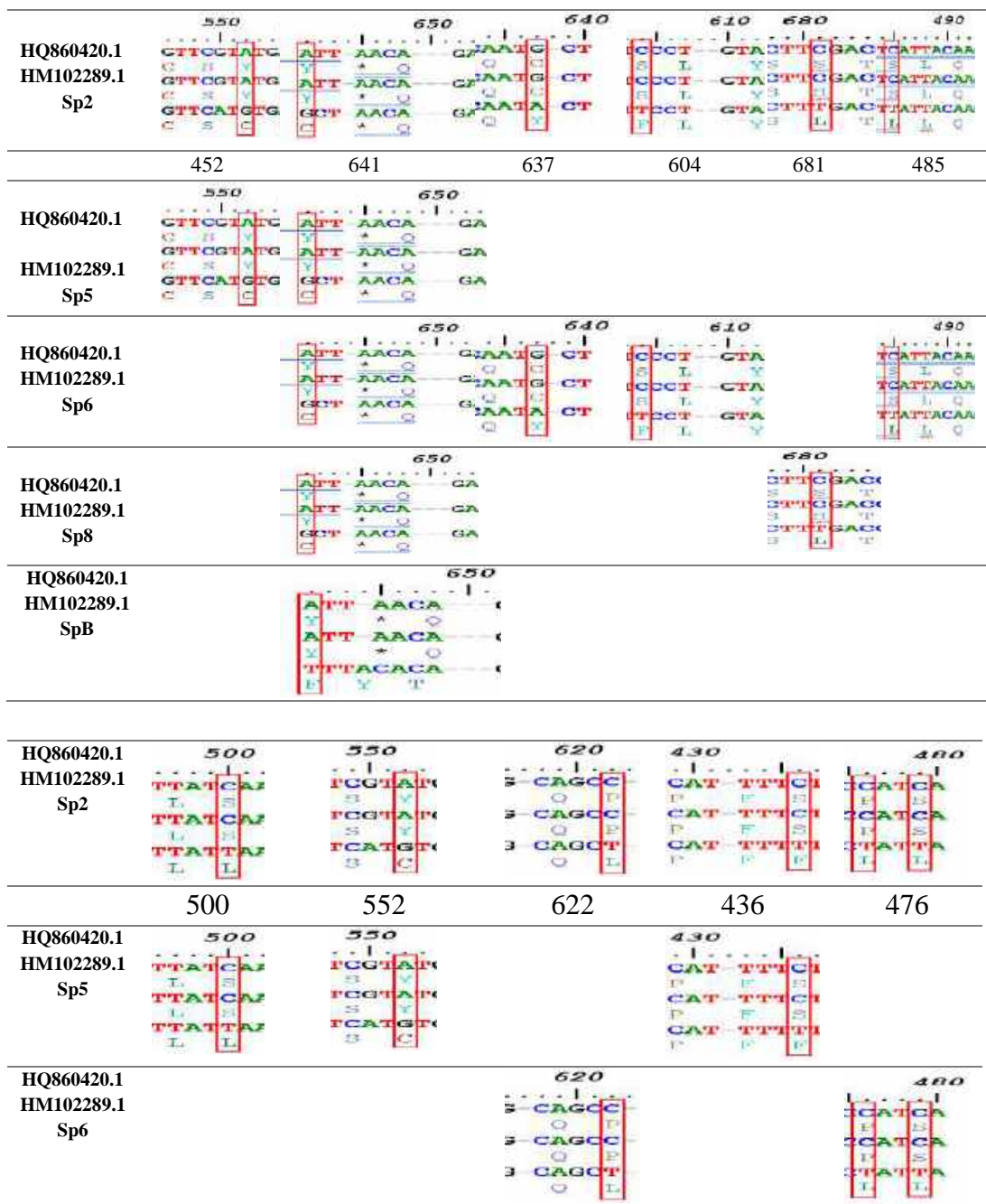
Situs basa ke 413 terdapat mutasi basa timin menjadi sitosin yang mengubah asam amino leusin menjadi prolin pada sapi persilangan (Simmental-Bali) dan (Bali-Limousine-Limousine). Mutasi asinonim pada titik 452 terjadi perubahan basa adenin menjadi guanin yang mengubah asam amino glutamin menjadi arginin pada sapi (Simmental-Bali) dan (Bali-Limousine-Limousine). Posisi basa ke 458 pada sapi persilangan (Simmental-Bali) dan (Bali-Limousine-Limousine) terjadi mutasi basa timin menjadi sitosin yang berpengaruh terhadap perubahan asam amino fenilalanin menjadi serin.

Situs mutasi basa ke 641 ditemukan mutasi basa adenin menjadi guanin yang mengubah asam amino tirosin menjadi sistein pada tiga jenis sapi persilangan (Simmental-Bali), (Bali-Limousine-Brahman), dan (Bali-Limousine-Madura) sedangkan sapi (Bali-Limousine-Limousine) pada titik 552.

Mutasi asinonim basa sitosin menjadi timin mampu mengubah asam amino serin menjadi leusin ditemukan 4 titik pada sapi persilangan (Simmental-Bali) yaitu 479, 485, 500, 631 dan 681. Sapi (Bali-Limousine-Limousine) pada titik 596, sapi (Bali-Limousine-Brahman) ada 4 titik 485, 500, 631 dan 678, dan sapi (Bali-Limousine-Madura) titik ke 681.

Mutasi C>T pada sapi (Bali-Limousine-Brahman) menyebabkan perubahan asam amino prolin menjadi leusin pada posisi basa 461 dan 622, pada sapi (Bali-Limousine-Limousine) pada basa ke 476 dan 516, dan sapi (Simmental-Bali) pada basa ke 476, 516, 539 dan 622.

Mutasi basa guanin menjadi adenin berpengaruh terhadap perubahan asam amino sitosin menjadi tirosin pada sapi (Simmental-Bali) dan (Bali-Limousine-Brahman) ditemukan pada posisi basa yang sama yaitu 637.



Gambar 5.10. Posisi basa identik sapi persilangan yang berubah asam aminonya

Perubahan basa sitosin menjadi timin menyebabkan perubahan asam amino treonin menjadi isoleusin pada sapi (Simmental-Bali) ditemukan pada posisi 503 dan (Bali-Limousine-Brahman) pada basa ke 503 dan 660. Berikut ini gambaran hasil pensejajaran mutasi asinonim dari empat jenis sapi persilangan yang memiliki jenis dan titik mutasi yang sama (Gambar 4.10). Sapi persilangan (Simmental-Bali) dan (Bali-Limousine-Brahman) pada posisi basa ke 604 sama-sama mengalami *missense mutation* basa sitosin menjadi timin dan berpengaruh perubahan asam aminonya serin menjadi fenilalanin. Keragaman ini berpotensi untuk dijadikan marker genetik dan dapat diuji lebih lanjut untuk dapat dijadikan kandidat marker (Sari dkk, 2011).

### 5.3.6 Analisa Kekerabatan

#### 5.3.6.1 Jarak Genetik dan Homologi

Perubahan nukleotida dan asam amino menyebabkan adanya keragaman genetik pada semua sampel sapi yang dapat digunakan untuk menganalisis hubungan kekerabatan. Jarak genetik dan homologi merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk melihat kedekatan hubungan kekerabatan antar sapi sampel dengan sapi acuan HQ860420.1. *Bos Taurus* dan HM102289.1. *Bos Taurus* dari *GenBank*. Pensejajaran *sekuen* setiap sampel sapi penelitian dan acuan dari *GenBank* tersebut menggunakan metode *Multiple Sequence Alignment* (MSA). Hasil pensejajaran *sekuen* dalam penentuan jarak genetik menggunakan analisis perhitungan *Pairwise Distance Calculation* dengan model 2 parameter Kimura. Jarak genetik model ini dapat menunjukkan ukuran perbedaan nukleotida per pasangan dengan mempertimbangkan tingkat substitusi basa nukleotida

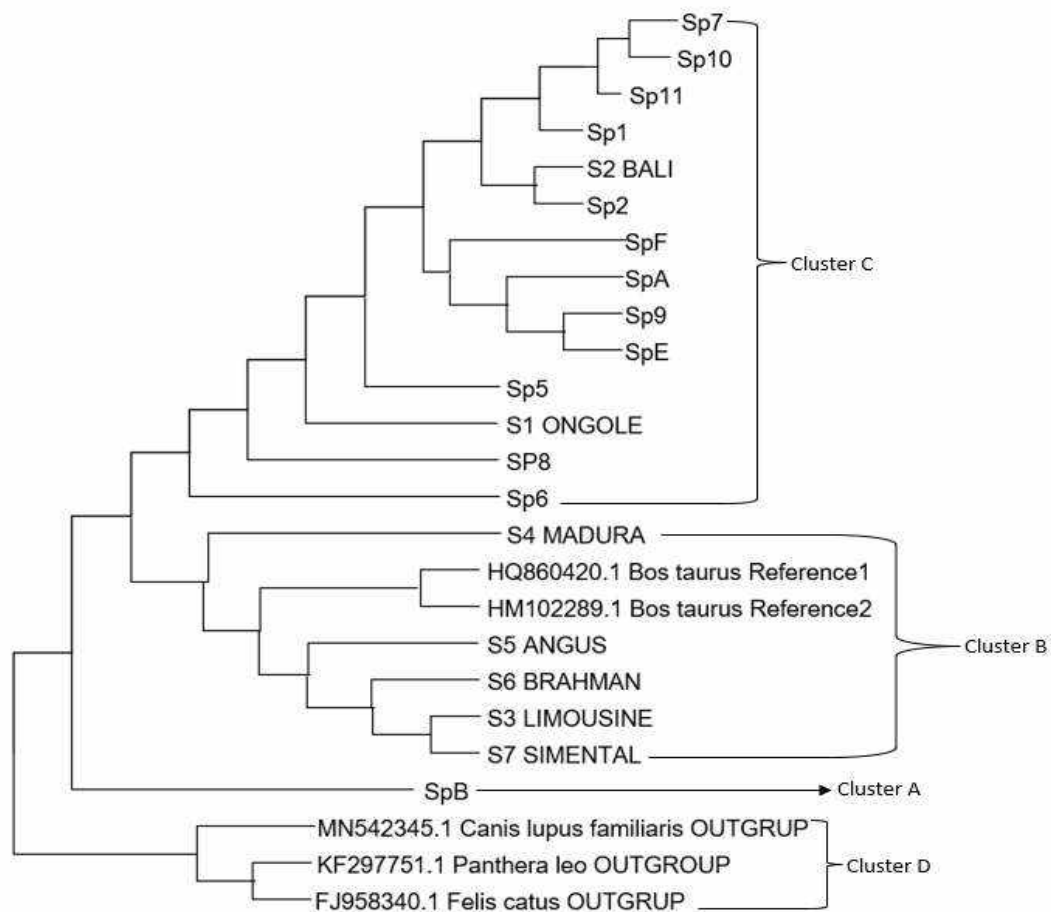
(*tranversi, transisi, insersi dan delesi*). Berdasarkan hasil analisis jarak genetik dan homologi menunjukkan jarak terkecil mengindikasikan bahwa hubungan kekerabatan antar sapi penelitian terdekat dengan *Bos taurus* yakni sampel Angus/S5, Brahman/S6, dan Simmental/S7 dengan nilai jarak genetik (*p-distance*) ketiga sampel tersebut sama yakni sebesar 0,000 dan 100% homolog dengan kedua standar *Bos taurus*. Sapi Limousine/S3 dengan jarak genetik 0,002 memiliki nilai homologi 99,8%, sebagaimana pada Lampiran 7.

Sapi persilangan Sp7 (Bali-Brahman) dan Sp10 (Bali-Madura) memiliki jarak genetik terkecil yaitu masing-masing 0.077 dan homologi 92%, sedangkan sapi persilangan yang memiliki jarak genetik terbesar/hubungan kekerabatan terjauh yakni SpB (Angus-PO) dengan nilai jarak genetik (*p-distance*) sebesar 0,24812 homologi hanya 75,18 % dan sampel Sp6 (Bali-Limosine-Brahman) dengan jarak genetik sebesar 0,12602 homologi 87,39% terhadap *B. taurus*.

#### 5.3.6.2 Analisis Filogenetik

Konstruksi pohon filogenetik untuk mengetahui pengelompokan dan hubungan kekerabatan antar kelompok, intra kelompok sapi maupun dengan sampel sapi acuan standar dari *Genbank*. Konstruksi filogenetik ini menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) 1000 kali pengulangan (*bootstrap*) dengan model *Kimura 2-parameter* menggunakan tiga spesies *outgroup* yaitu *Canis lupus famillaris*, *Panthera leo* dan *Felis catus*. Berdasarkan hasil analisis konstruksi pohon filogenetik pada Gambar 5.11 menunjukkan adanya tiga *cluster* utama (A,B,C) dan satu *cluster outgroup* (D).

Cluster A yaitu sapi persilangan (Angus-PO) dengan nilai bootstrap 94 %. Sapi persilangan (Angus-PO) berada di cluster berbeda dengan sapi lainnya sebanding dengan nilai jarak genetik sapi persilangan tersebut yang sangat jauh terhadap sapi acuan *GenBank* yaitu 0,248 dibandingkan dengan nilai jarak genetik sapi persilangan lainnya maupun sapi *purebred*. Jarak genetik dengan sapi Angus 0,248 dan Ongole 0,269 dan homologi 75%.



Gambar 5.11. Pohon Filogenik Sapi Persilangan, *Purebred* dan *Outgroup*

Sapi persilangan (Angus-PO) yang terpisah jauh dari kelompok sapi lainnya. Cluster B merupakan kelompok sapi yang mempunyai kekerabatan paling dekat terhadap acuan *GenBank* dengan nilai bootstrap mencapai 100%. Anggota cluster

ini sapi Angus, Brahman dan Simmental dengan jarak genetik terdekat yaitu 0,00 sedangkan Limousin mempunyai jarak genetik 0,002 dan Madura dengan nilai 0,013. (1,04%).

Anggota cluster C memiliki nilai *bootstrap* 48%, anggota cluster ini sebagian besar jenis sapi persilangan dan sapi *purebred* Ongole dan Bali. Jarak genetik sapi Ongole dan Bali masing-masing 0.055 dan 0.095. Jarak genetik terdekat sapi persilangan (Bali-Brahman) dan (Bali-Madura) masing-masing 0.077. Penelitian Hartatik *et al.* (2018) menunjukkan kedekatan antara sapi Indonesia dan *B. javanicus* kemungkinan karena sapi Indonesia berasal dari banteng (*B. javanicus*) dan Zebu (*B indicus*) selanjutnya sapi (Bali-Limousine-Madura) dan sapi (Simmental-PO) masing-masing 0.090, sedangkan jarak genetik terjauh cluster ini adalah sapi (Bali-Limousine- Brahman) yaitu 0.126.

### 5.3.7 Analisis Korelasi SNP dan Hematologi

#### 5.3.7.1 Korelasi SNP Nukleotida dengan Hematologi

Analisis korelasi bivariat (*Pearson Correlation*) dilakukan untuk mengetahui adanya korelasi keragaman genetik (SNP) nukleotida dan asam amino sebagai variabel dependen dengan gambaran hematologi dan kimia darah sebagai variabel independennya.

Hasil analisis menunjukkan Tabel 5.7 terdapat korelasi yang sangat signifikan (*p value* <0.01) dan signifikan (*p value* <0.05) antara SNP dengan beberapa parameter hematologi. Hasil menunjukkan bahwa terdapat beberapa parameter hematologi yang mempunyai korelasi terhadap SNP nukleotida yakni WBC, RBC, HCT, MCH dan MCHC sedangkan pada kelompok kimia darah tidak

ada parameter yang mempunyai korelasi terhadap SNP nukleotida. Parameter pada kelompok hematologi tersebut mempunyai korelasi positif dan negatif terhadap SNP. Korelasi positif bermakna bahwa hubungan kedua variabel berbanding lurus, sedangkan korelasi negatif bermakna bahwa hubungan kedua variabel berbanding terbalik.

Tabel 5.7 Hasil analisis korelasi bivariat (*pearson correlation*) SNP Nukleotida dengan nilai hematologi dan kimia darah

Variabel	Korelasi Terhadap SNP	P Value
WBC	0,542	0,017*
RBC	-0,650	0,003**
HGB	-0,336	0,160
HCT	-0,619	0,005**
PLT	0,336	0,123
MCV	0,145	0,554
MCH	0,541	0,017*
MCHC	0,617	0,005**
Total Protein	-0,211	0,386
Albumin	-0,407	0,084
Globulin	-0,076	0,757
SGOT	0,284	0,239
SGPT	-0,129	0,598
ALP	-0,088	0,720

Keterangan : \* Signifikan (p value < 0,05). \*\* Sangat Signifikan (p value < 0,01)

RBC (*Red Blood Cell*), WBC (*White Blood Cell*), HGB (*Hemoglobin*)

HCT (*hematokrit*), PLT (*Platelets*), MCV (*mean corpuscular volume*), MCH (*mean corpuscular hemoglobin*), MCHC (*mean corpuscular hemoglobin concentration*). SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*), SGPT (*Serum Glutamic Pyruvate Transaminase*), ALP (*Alkaline Phosphatase*).

Kelima parameter pada kelompok hematologi terdapat 3 (tiga) parameter yang mempunyai korelasi positif terhadap SNP yakni WBC, MCH dan MCHC dan 2 (dua) Parameter yang mempunyai korelasi negatif terhadap SNP yakni RBC dan HCT. Parameter RBC, HCT dan MCHC berkorelasi terhadap SNP pada level signifikansi lebih

kecil dari 0,01, sedangkan parameter WBC dan MCH berkorelasi terhadap SNP pada level signifikansi lebih kecil dari 0,05. Derajat korelasi parameter hematologi terhadap SNP yaitu RBC (0,650), HCT (0,619) dan MCHC (0,617) mempunyai korelasi yang kuat terhadap SNP, sedangkan nilai derajat korelasi parameter MCH (0,541) dan WBC (0,542) mempunyai korelasi yang sedang terhadap SNP.

#### 5.3.7.2 Korelasi SNP Asam Amino dengan Hematologi dan Kimia darah

Analisis korelasi bivariat (*pearson correlation*) dilakukan juga untuk mengetahui adanya korelasi keragaman genetik (SNP) asam amino sebagai variabel dependen dan gambaran kimia darah sebagai variabel independennya. Hasil analisis sebagaimana pada Tabel 5.8 menunjukkan terdapat korelasi yang signifikan antara SNP asam amino dengan profil hematologi yaitu WBC dan MCHC, sedangkan yang memiliki korelasi sangat signifikan yaitu RBC, HGB, dan HCT. Korelasi yang signifikan antara SNP asam amino dengan nilai kimia darah yaitu albumin.



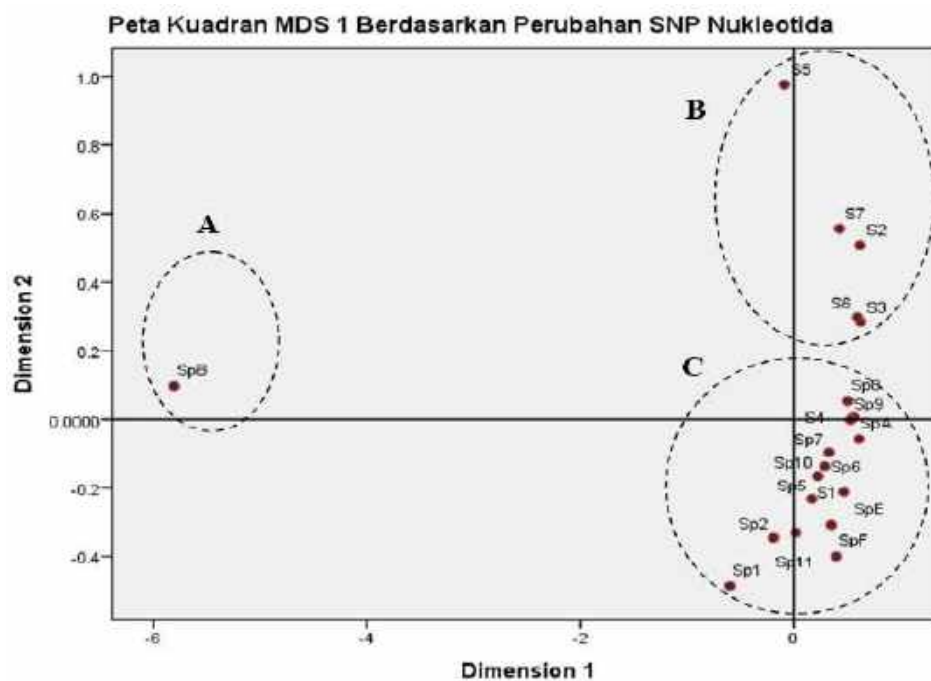
Tabel 5.8 Hasil analisis korelasi bivariat (*Pearson Correlation*) SNP asam amino dengan nilai hematologi dan nilai kimia darah

<b>Parameter</b>	<b>Korelasi Terhadap SNP</b>	<b><i>P Value</i></b>
<b>WBC</b>	0,479	0,033*
<b>RBC</b>	-0,702	0,001**
<b>HGB</b>	-0,590	0,006**
<b>HCT</b>	-0,704	0,001**
<b>PLT</b>	0,310	0,183
<b>MCV</b>	-0,005	0,982
<b>MCH</b>	0,263	0,282
<b>MCHC</b>	0,479	0,032*
<b>Total Protein</b>	-.202	.394
<b>Albumin</b>	-.545	.013*
<b>Globulin</b>	-.007	.977
<b>SGOT</b>	.209	.377
<b>SGPT</b>	-.006	.981
<b>ALP</b>	-.081	.735
<b>Total Kolesterol</b>	-.232	.339

### 5.3.8 Analisis *Multidimensional Scale* (MDS)

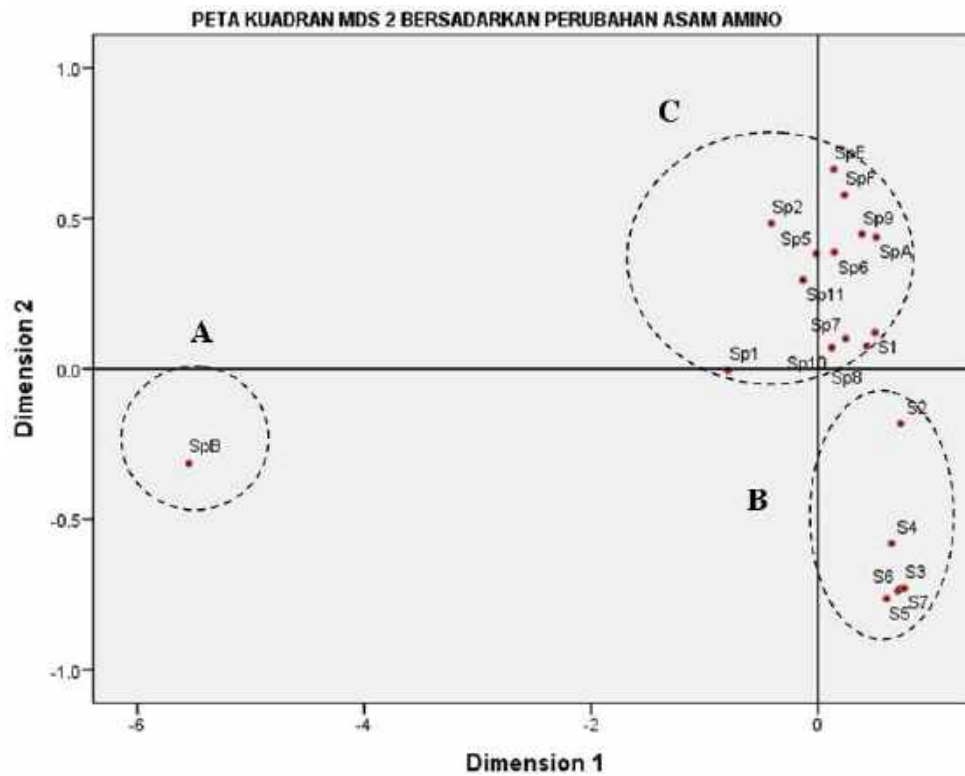
Analisis selanjutnya adalah penskalaan multidimensi dengan data kemiripan (*similarity*). MDS *similarity* untuk mengetahui kemiripan sapi sampel berdasarkan data keragaman genetik dengan gambaran hematologi dan kimia darahnya. Hasil analisis MDS dapat menggambarkan posisi kuadran sapi *purebred* dan persilangan berdasarkan kemiripan dalam bentuk grafik (*Map*). Data termasuk jenis data non atribut, sehingga jumlah SNP sapi sampel sebagai variabel keragaman genetik dan hasil pengujian hematologi dan kimia darah yang diperoleh dapat langsung diolah dengan menggunakan software komputer yaitu SPSS versi 22.

Enam parameter hematologi yang mempunyai korelasi terhadap SNP (WBC, RBC, HCT, MCH dan MCHC) digunakan sebagai parameter pengelompokan sampel sapi *purebred* dan persilangan untuk melihat tingkat kemiripan dengan analisis *Multidimensional Scale* (MDS) menggunakan *Software* SPSS versi 22. Hasil analisis MDS berdasarkan SNP nukleotida sebagaimana pada Gambar 5.12 dan berdasarkan SNP asam amino pada Gambar 5.13.



Gambar 5.12. Peta Kuadran Kemiripan menggunakan analisis MDS berdasarkan SNP Nukleotida

Berdasarkan peta tersebut terlihat bahwa sapi persilangan (Angus-PO/SpB) terpisah dengan kelompok sapi sampel lainnya. Sampel kelompok *purebred* sebagian besar cenderung berkelompok pada kuadran sisi positif dimensi-1 dan dimensi-2, sedangkan kelompok persilangan sebagian besar cenderung bergabung pada sisi positif dimensi-1 dan sisi negatif dimensi-2.



Gambar 5.13. Peta Kuadran Kemiripan menggunakan analisis MDS  
berdasarkan SNP Asam amino

Hasil pengukuran validitas analisis MDS menunjukkan bahwa nilai  $R^2$  atau *Goodness of Fit* di atas 60 % (0,6) sehingga layak untuk dilakukan analisis dengan representatif yang sangat baik, hal ini dapat terlihat dari hasil *Strees Value* sebesar 0,0497 lebih kecil dari 0,1.

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Tahap Pertama

##### 6.1.1 Ukuran Tubuh

Salah satu upaya perbaikan produktifitas sapi potong di Indonesia adalah melalui program seleksi bibit. Seleksi bibit umumnya menghasilkan peningkatan performan produksi ketika pakan yang diberikan berkualitas baik dan lingkungan mendukung (Sodiq dan Ali.,2016). Kemampuan pertumbuhan dan reproduksi ternak perlu dipertimbangkan sebelum menerapkan program pemuliaan dan seleksi, tidak hanya parameter genetik tetapi juga hubungan dengan performan fisiknya (Chin-Colli *et al.*, 2016). Kriteria dalam melakukan program pemuliaan, pelestarian dan seleksi ternak dengan melihat performan fisik sapi salah satunya adalah berat badan. Penambahan berat badan pada sapi potong berkorelasi dengan berat karkas (Coyne *et al.* 2019; Prihandani *et al.*, 2020).

Pengukuran berat badan sapi di lapangan sulit dilakukan jika tidak tersedia timbangan bobot badan sapi, oleh karena itu pengukuran performan tubuh dapat membantu memprediksi laju pertumbuhan badan sapi. Data ukuran tubuh sangat diperlukan meliputi bagian-bagian badan atau tubuh tersebut antara lain panjang badan, tinggi pundak/badan, dan lingkar dada (Baiduri dkk, 2012). Selain itu menurutnya sifat-sifat ukuran tubuh tersebut dapat digunakan untuk kriteria seleksi, yaitu apabila calon pejantan dan induk diperoleh berdasarkan ukuran tubuh diatas rata-rata popoulasi maka dapat diharapkan anak keturunannya akan mempunyai

ukuran lebih diatas rata-rata pula. Menurut Putra dkk (2014) lingkaran dada, panjang badan dan tinggi pundak/ badan merupakan variabel independen yang dapat mengestimasi berat hidup sapi.

Berdasarkan hasil pengukuran linier tubuh pada penelitian ini diperoleh data rata-rata lingkaran dada sapi persilangan di Kabupaten Sidrap lebih tinggi daripada sapi persilangan di Kabupaten Gowa. Rata-rata tinggi badan sapi persilangan Sidrap juga lebih tinggi dibandingkan sapi persilangan di Kabupaten Gowa. Hal ini dapat diasumsikan kondisi tubuh dan cara pemeliharaan sapi persilangan di Kabupaten Sidrap saat pengukuran lebih baik dibandingkan sapi di Kabupaten Gowa. Sapi persilangan sebagai sampel di Kabupaten Gowa kemungkinan mengalami stress akibat lalu lintas dari Provinsi Jawa Timur dan kondisi pakan yang kurang memadai. Rata-rata ukuran tubuh sapi yang digunakan sebagai sampel memenuhi Standar Nasional Indonesia pengukuran kuantitatif ukuran tubuh sapi PO jantan umur diatas 36 bulan dan Sapi Bali jantan umur diatas 36 bulan (Lampiran 2).

Hasil pengukuran rata-rata performan fisik sapi persilangan di Kabupaten Sidrap tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Syaiful (2020), yaitu lingkaran dada sapi persilangan Simmental-Bali (Simbal) di Luhak Nan Duo, Pasaman Barat umur 2,5-3 tahun adalah  $155,3 \pm 1,64$ , sedangkan tinggi badan/pundak hampir sama dengan sapi persilangan di Kabupaten Gowa yaitu  $123,7 \pm 2,31$  cm. Hasil yang lain menunjukkan bahwa sapi Simbal memiliki penampilan panjang badan lebih baik daripada sapi Bali. Hal ini disebabkan adanya perbedaan faktor genetik dan manajemen pemeliharaan terhadap kedua jenis sapi, dimana faktor genetik pada sapi Bali yang mengalami penurunan sedangkan sapi simbal sudah mengalami

perbaikan mutu genetik yang lebih baik. Sapi Simbal memiliki pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan sapi Bali, sehingga terdapat perbedaan pada ukuran panjang badan, tinggi pundak/badan dan lingkar dadanya. Pertumbuhan sapi hasil persilangan lebih baik dari induknya juga ditunjukkan pada penelitian Susanti *et al.* (2015) bahwa pertumbuhan sapi persilangan dipengaruhi oleh pejantan yang digunakan dalam perkawinan/inseminasi ternak.

Penelitian Putra *et al.* (2014) menyebutkan terdapat korelasi positif antara berat hidup dan ukuran tubuh pada sapi Aceh, bertambahnya berat hidup diikuti naiknya ukuran tubuh. Diantara 3 (tiga) parameter ukuran tubuh, lingkar dada memiliki koefisien korelasi paling tinggi. Seleksi berdasarkan ukuran tubuh dapat diaplikasikan dalam kegiatan peningkatan mutu genetik dengan mengamati kenaikan berat badan terutama pada tingkat peternak rakyat yang umumnya tidak tersedia timbangan.

## 6.1.2 Profil Hematologi dan Kimia Darah

### 6.1.2.1 Profil Hematologi

Pemeriksaan darah dan penentuan nilai biokimia dari konstituen serum dapat memberikan informasi berharga mengenai status nutrisi dan faktor lingkungan yang memengaruhi kesehatan hewan (Al-Fartosi *et al.*, 2010). Selain itu, Hassan *et al.* (2012) dan Mamun *et al.* (2013) menyatakan bahwa perubahan konstituen biokimia dan hematologi adalah indikator utama keadaan fisiologi dan patologi hewan. Adanya gangguan metabolisme, penyakit, kerusakan struktur atau fungsi organ, pengaruh agen/obat, dan stress dapat diketahui dari perubahan

profil darah (Iheidioha *et al.*, 2012). Terjadinya perubahan pada darah dapat mengindikasikan bahwa adanya kelainan atau penyakit (Anwar, 2015).

#### Sel Darah Putih / *White Blood Cell*

Sel darah putih (WBC) atau leukosit terdiri dari neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit berfungsi dalam pertahanan seluler dan humoral terhadap zat-zat asing. Leukosit dapat melakukan gerakan amuboid, leukosit dapat meninggalkan kapiler, sebagian dibentuk di sumsum tulang dan sebagian lagi di jaringan limfe (Guyton & Hall, 1997). Berdasarkan hasil penelitian tentang profil hematologi dapat dilihat bahwa rata-rata jumlah WBC/ *white blood cell* sapi sampel relatif tinggi yaitu  $(11,350 \pm 14,34 \times 10^3/\mu\text{l})$ , nilai normal adalah  $(4.0-12.0 \times 10^3/\text{mm}^3)$ . Nilai WBC tertinggi ditemukan pada sapi persilangan Angus-PO/SpB ( $68,5 \times 10^3/\mu\text{l}$ ), diikuti sapi persilangan Simmental-PO/SpF ( $25 \times 10^3/\mu\text{l}$ ), Brahman-PO/SpE ( $18,1 \times 10^3/\mu\text{l}$ ). Tingginya jumlah WBC pada sapi persilangan di Kabupaten Gowa dapat disebabkan oleh respon fisiologi sapi tersebut terhadap lingkungan, iklim, manajemen pemeliharaan, dan pakan yang kurang memadai. Faktor stress lalu lintas menyebabkan kemungkinan memperparah kondisi sapi-sapi bantuan ini. Transportasi yang jauh juga dapat mempengaruhi status fisiologis sapi dan bobot badannya (Anton *et al.*, 2016). Menurut Linda *et al.*, (2014) peningkatan dan penurunan jumlah WBC dapat terjadi karena faktor fisiologis atau patologis.

Kondisi lainnya yaitu manajemen pemeliharaan secara umum peternak di Kabupaten Gowa terbiasa memelihara sapi Bali. Peternak tidak siap menerima bantuan sapi persilangan bos Taurus-PO dalam jumlah banyak, kandang dan sarana prasarana penunjang belum semua siap menampung saat sapi datang. Ketersediaan

pakan baik kualitas maupun kuantitas kurang memadai, membuat sapi stress dan kondisinya tidak mencapai target yang diinginkan. Menurut Astuti *et al.* (2014) stress merupakan suatu kondisi ketidaknyamanan non spesifik seperti penurunan imunitas, kegagalan reproduksi, penurunan bobot badan, hingga kematian hewan. Faktor lain yang menyebabkan peningkatan jumlah total leukosit adalah agen infeksi yang masuk. Tubuh berusaha semaksimal mungkin untuk melindungi diri dari berbagai agen penyakit dengan meningkatkan jumlah leukosit. Scott dan Elizabeth (2009) menyatakan bahwa sel darah putih melindungi tubuh dari infeksi dengan cara fagositosis, sintesis molekul antibodi, penghancuran bakteri, pembersihan sisa-sisa sel pada jaringan yang mengalami inflamasi dan melindungi area yang terinfeksi.

#### Sel darah Merah / *Red Blood Cell*

Sel darah merah/eritrosit merupakan salah satu indikator untuk mengetahui derajat kesehatan hewan selain kadar hemoglobin, PCV, dan sel darah putih. Produksi sel darah merah terkait dengan kebutuhan oksigen dalam tubuh dan direspons dengan peningkatan pelepasan erythropoietin di jaringan ginjal untuk merangsang produksi eritrosit diikuti oleh peningkatan kadar hemoglobin juga (Pittman, 2011; Klein, 2013). Hasil penelitian menunjukkan jumlah rata-rata eritrosit sapi sampel adalah  $(5,314 \pm 2,064 \times 10^6/\text{mm}^3)$ , nilai normalnya adalah  $(5.0-10.0 \times 10^6/\text{mm}^3)$ . Sapi sampel dengan nilai eritrosit tertinggi adalah sapi Simmental  $(9,37 \times 10^6/\text{mm}^3)$  dan yang terendah adalah sapi persilangan Angus-PO  $(0,59 \times 10^6/\text{mm}^3)$ . Jumlah rata-rata eritrosit sampel penelitian hampir sama dengan hasil penelitian Bunga dkk, (2019) menyatakan nilai eritrosit sapi Bali di Kota Kupang



yaitu  $(5,6-9,44 \times 10^6/\text{mm}^3)$ . Nilai rata-rata eritrosit yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Adam *et al.* (2015) yang melaporkan rata-rata nilai eritrosit sapi Bali yaitu  $(4,89 \pm 0,53) \times 10^6/\text{mm}^3$ . Kisaran normal jumlah eritrosit pada sapi Bali menurut Diparayoga *dkk* (2014) adalah  $(6,33-8,89 \times 10^6/\text{mm}^3)$ .

Peningkatan jumlah eritrosit dapat disebabkan hipoksia atau kurangnya suplai oksigen dalam jaringan sehingga tubuh merespon dengan meningkatnya jumlah eritrosit dalam darah. Hal ini didukung oleh Weiss & Wardrop (2010) yang menyatakan bahwa peningkatan produksi eritrosit dapat disebabkan oleh hipoksia jaringan. Tubuh berusaha memenuhi jumlah oksigen dengan menambah jumlah eritrosit sehingga dapat mengangkut lebih banyak oksigen/ pelepasan eritropoietin dari ginjal. Rendahnya jumlah eritrosit pada sapi persilangan Angus-PO kemungkinan mengalami anemia. Anemia disebabkan oleh pembentukan darah yang kurang mencukupi, karena gizi tidak baik termasuk sapi mengalami defisiensi zat besi, Cu, vitamin, dan asam amino. Sapi bantuan persilangan Angus-PO dipelihara dengan kondisi ketersediaan pakan kualitas dan kuantitasnya kurang memadai, selain itu tidak ada pemberian konsentrat tambahan. Hal ini berbeda dengan penelitian Siswanto *et al.*, (2014) bahwa ternak sapi Bali yang mendapat asupan nutrisi kurang baik, mempunyai nilai eritrosit normal. Hal tersebut disebabkan ternak sapi Bali mampu menggunakan sumber pakan yang kurang baik menjadi pakan yang memenuhi kebutuhan nutrisinya.

Hemoglobin (Hb)

Berdasarkan hasil penelitian nilai rata-rata Hb sapi sampel adalah  $(8,670 \pm 1,978 \text{ g/dL})$ , sedangkan nilai normalnya adalah  $(8-15 \text{ g/dL})$ . Sapi *purebred* Angus memiliki nilai Hb tertinggi, dan sapi *purebred* Bali, Simmental, Brahman dan Limousin juga memiliki kadar Hb relatif tinggi dibanding sapi persilangan. Hasil penelitian Dharmawan dkk. (2019) menyebutkan profil hematologi sapi yang diberi pakan bertingkat total eritrositnya  $(6,6-7,0 \times 10^6/\text{mm}^3)$ , kadar hemoglobin  $(10,3-11,3 \text{ g/dL})$  dan kadar hematokritnya  $(27,6-28,8\%)$ . Sementara itu Roland *et al.* (2014) melaporkan kisaran normal total eritrosi sapi adalah  $4,9-10 \times 10^6/\text{mm}^3$ , kadar Hb  $8,4-14 \text{ g/dL}$  dan nilai hematokrit  $21-38\%$ . Hemoglobin merupakan komponen utama penyusun eritrosit yang berfungsi mengangkut oksigen dan karbondioksida. Kadar Hb selain dipengaruhi oleh kecukupan gizi terutama protein sebagai penyusun hemoglobin, juga dipengaruhi oleh bangsa, umur dan aktifitas (Price & Wilson, 2006). Kondisi sapi yang dipelihara di lingkungan positif timbal memiliki kadar Hb tinggi, karena tubuh merespon dengan meningkatkan kadar Hb dalam darah untuk memenuhi kebutuhan oksigen (Price & Wilson, 2006).

#### *Hematokrit (HCT)*

Nilai hematokrit merupakan salah satu unsur yang dapat digunakan untuk menentukan derajat anemia selain jumlah eritrosit dan konsentrasi hemoglobin. Jumlah eritrosit yang rendah dan ukuran eritrosit yang kecil menyebabkan nilai hematokrit rendah (Ihedioha, 2012). Hasil perhitungan rata-rata presentase HCT atau *Packed Cell Volume / PCV* sapi sampel adalah  $(25,235 \pm 10,718\%)$  sedangkan nilai normalnya  $(24-46 \%)$ . Berdasarkan data penelitian sapi *purebred* Bali memiliki nilai HCT tertinggi  $(44,5\%)$ . Kisaran normal presentase HCT sapi Bali

hasil penelitian Diparayoga dkk (2014) adalah 31,5-34,7%. Presentase HCT sapi Bali tertinggi kemungkinan karena sapi mengalami dehidrasi sehingga perbandingan eritrosit terhadap plasma darah berada diatas normal (Frandsen, 1993). Sapi persilangan Angus-PO menunjukkan presentase HCT terendah diantara sapi lainnya (3,8%), besar kemungkinan sapi tersebut kekurangan asupan nutrisi dan asam amino (Frandsen, 1993), karena nutrisi merupakan hal yang penting dalam proses hemopoiesis, termasuk didalamnya proses eritropoiesis. Nilai hematokrit dan hemoglobin secara langsung sebanding dengan jumlah eritrosit (Adam *et al.*, 2015). Presentase HCT juga dapat menurun karena kondisi anemia yang disebabkan oleh infestasi kutu, cacing, hemoparasitosis (selain *trypanosomiasis*) dan kekurangan nutrisi di daerah tersebut. Hasil penelitian Verdillo *et al.* (2012) penurunan PCV dan penurunan jumlah eritrosit tidak selalu bersesuaian atau sejalan. Rendahnya nilai PCV juga tidak selalu disebabkan oleh anemia.

#### Trombosit / Platelet

Trombosit memiliki peran penting dalam proses pembekuan darah, pada sapi trombosit memiliki diameter kecil 2-4  $\mu\text{m}$ . Ihedioha, (2012) menjelaskan bahwa diameter trombosit rata-rata ternak adalah (2,13  $\mu\text{m}$ ). Mekanisme pembekuan darah yaitu jika ada bagian tubuh terluka  $\rightarrow$  trombosit berkumpul  $\rightarrow$  trombosit pecah  $\rightarrow$  enzim trombokinase  $\rightarrow$  protombin diubah menjadi trombin  $\rightarrow$  fibrinogen diubah menjadi benang fibrin. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh gambaran nilai rata-rata trombosit sapi sampel lebih tinggi daripada normal yaitu (1006,05  $\pm$  1122,97  $\times 10^3/\text{mm}$ ), sedangkan nilai normalnya yaitu (100-800

$\times 10^3/\text{mm}$ ). Sapi persilangan Limousin-Bali memiliki jumlah trombosit tertinggi ( $4995 \times 10^3/\text{mm}$ ), Simmental-Bali juga lebih tinggi dari nilai normal ( $2509 \times 10^3/\text{mm}$ ). Penyebab tingginya rata-rata trombosit sapi sampel kemungkinan sumsum tulang menghasilkan sel-sel yang membentuk trombosit (megakariosit) dalam kadar secara berlebihan. Produksi trombosit meningkat sehingga terlalu banyak trombosit yang dilepaskan ke dalam darah. Kondisi lain memicu tingginya trombosit adalah adanya infeksi akut, perdarahan akut, kehilangan darah akut, hemolisis, reaksi alergi, peradangan akut, dan gangguan ginjal. Dua (2) jenis sapi persilangan di Kabupaten Gowa yaitu Limousin-PO dan Simmental-PO memiliki jumlah trombosit rendah/dibawah angka normal yaitu ( $210 \times 10^3/\text{mm}$ ), dan ( $223 \times 10^3/\text{mm}$ ). Trombosit mengalami penurunan pada kondisi seperti adanya infeksi bakteri dan virus, paparan bahan kimia, leukimia, gangguan organ limpa. Berdasarkan hasil penelitian Apriani dan Gea (2021), penundaan waktu pengujian sampel dapat menurunkan jumlah trombosit, karena trombosit memiliki kemampuan beragregasi dan beradhesi, dimana agregasi yang disebabkan karena terjadinya pembengkakan pada trombosit sehingga trombosit rusak dan jumlah trombosit menjadi berkurang (Khasanah, 2016). Menurut Sari, (2018) sampel darah harus segera diperiksa dalam waktu kurang dari 1 jam setelah pengambilan darah karena dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan. Penggunaan antikoagulan juga bisa menjadi faktor yang berpengaruh dalam hasil hitung jumlah trombosit, untuk itu maka perbandingan antikoagulan sangat perlu diperhatikan dan tentunya harus sesuai dengan prosedur yang ditentukan. Darah EDTA yang disimpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  berfungsi untuk menjaga metabolisme trombosit agar tidak terjadi agregasi dan

adhesi, sehingga trombosit akan stabil disimpan di lemari es selama 24 jam tanpa mendapatkan penyimpangan yang bermakna (Kresno *et al.*, 2013). Jika volume terlalu sedikit (1-1,5 mg Na<sub>2</sub>EDTA/ml darah untuk Na<sub>2</sub>EDTA kering 10 ul/ml darah untuk EDTA cair), sel – sel eritrosit mengalami krenasi, sedangkan trombosit membesar dan mengalami desintegrasi. Dapat diartikan jumlah trombosit akan menurun. Jika volume terlalu banyak (1-1,5 mg Na<sub>2</sub>EDTA/ml darah untuk Na<sub>2</sub>EDTA kering 10 ul/ml darah untuk EDTA cair) dapat mengakibatkan trombosit membeku sehingga trombosit menurun (Nugroho *et al.*, 2016).

*Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH), dan Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)*

Nilai MCV, MCH, dan MCHC menurut Njidda *et al.*, (2014) dapat digunakan untuk mendiagnosis keadaan anemia pada ternak, dan dapat digunakan untuk mengukur kapasitas sumsum tulang untuk memproduksi eritrosit. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui kisaran nilai MCV sapi sampel yaitu ( $47,8 \pm 9,2$  fl), sedangkan nilai normalnya adalah (40-60 fl). Sapi *purebred* Bali memiliki nilai MCV tertinggi (74 fl), sedangkan sapi persilangan Angus-PO juga nilai MCV nya melebihi nilai normal (64 fl). Tingginya nilai MCV kemungkinan karena ukuran sel eritrosit lebih besar yang menyebabkan kadar Hb menjadi lebih tinggi (MCH tinggi). Nilai MCV meningkat jika eritrosit lebih besar dari normal (makrositik) biasanya disebabkan karena kekurangan vitamin B12 dan asam folat. Nilai MCV yang tinggi sejalan dengan penurunan jumlah eritrosit. Nilai MVC terendah ditemukan pada sapi persilangan Limousin-Bali (37 fl). Nilai MCV

menurun jika eritrosit lebih kecil dari normal (mikrositik) yang biasanya disebabkan karena kekurangan zat besi. Nilai MCV normal sapi Bali menurut Diparayoga dkk (2014) yaitu 39-50 fl. Menurut Siswanto (2011) rata-rata nilai normal profil darah pada sapi antara lain eritrosit  $5.2 \times 10^6 \mu\text{l}^{-1}$ , hemoglobin 8.7 g/dL, presentasi hematokrit 29.2%, nilai MVC 56.2, MCH 16.7 pg dan MCHC 32.9 g/dl.

MCH adalah pengukuran jumlah rata-rata hemoglobin dalam satu sel darah merah (eritrosit). Hasil MCH berkorelasi dengan hasil MCV, karena sel darah merah yang berukuran lebih besar umumnya mengandung lebih banyak hemoglobin, begitu pula sebaliknya. Nilai rata-rata MCH sapi sampel yaitu  $24,305 \pm 25,8$  pg, sedangkan nilai normalnya adalah 11-17 pg. Nilai rata-rata MCH sampel lebih tinggi dari nilai standar. Sapi persilangan Angus-PO memiliki nilai MCH tertinggi diantara sapi lainnya (127,2 pg). Kondisi tersebut berarti jumlah hemoglobin dalam setiap sel darah merah sapi angus-PO tergolong tinggi. Sapi dengan nilai MCH tinggi dapat diasumsikan mengalami anemia defisiensi vitamin B12 dan folat. Sapi dengan nilai MCH rendah diasumsikan mengalami anemia defisiensi zat besi, yaitu kondisi ketika tubuh kekurangan zat besi sehingga tidak dapat menghasilkan cukup hemoglobin dalam sel darah merah. Polizopoulou (2010) menyatakan bahwa tingginya nilai MCV (makrositik) dan MCH mengindikasikan respon anemia regeneratif yang disebabkan adanya proses hemolisis eritrosit.

MCHC adalah perhitungan mengukur konsentrasi rata-rata hemoglobin per unit volume eritrosit. Nilai MCHC dikatakan tinggi apabila nilai rata-rata Hb tinggi atau nilai rata-rata volume eritrosit kecil, sebaliknya nilai MCHC dikatakan rendah

apabila nilai rata-rata Hb rendah atau nilai rata-rata volume eritrosit tinggi. Berdasarkan hasil penelitian nilai rata-rata MCHC sapi sampel yaitu ( $43,8 \pm 38,15$  g/dL), sedangkan nilai normalnya (30-36 g/dL). Sapi persilangan Angus-PO memiliki nilai MCHC tertinggi diantara sapi lainnya (200 g/dL). Hasil penelitian Bunga dkk, (2019) nilai MCHC sapi bali yaitu 37-52 g/dL, jika dibandingkan dengan nilai MCHC normal sapi bali menurut Diparayoga dkk (2014) yaitu 29,8 - 33,0 g/dL. Nilai MCHC yang tinggi mengindikasikan bahwa sel-selnya bersifat hiperkromik, artinya ada konsentrasi hemoglobin yang tinggi di setiap sel darah merah dan ditandai dengan warna merah yang lebih padat. Menurut Stockham dan Scott, (2008) nilai MCHC yang lebih tinggi dari normal disebut hiperkromik atau konsentrasi Hb dalam darah lebih tinggi dari normal, kondisi ini dikarenakan terjadinya hemolisis yaitu pecahnya sel darah merah dan keluarnya hemoglobin ke dalam plasma, hal ini mengakibatkan terjadinya kondisi hemoglobinemia yaitu kondisi dimana hemoglobin (Hb) bebas di plasma darah. Menurut Siswanto dkk (2014) ada beberapa faktor yang memengaruhi nilai MCHC lebih tinggi dari normalnya antara lain nutrisi, lingkungan, penyakit, dan penyimpanan darah. Berdasarkan observasi saat penelitian, sapi Angus-PO tidak menunjukkan gejala klinis yang spesifik, sehingga penyebab lain dari terjadinya hemolisis yang mengakibatkan tingginya nilai MCHC dalam penelitian ini diduga disebabkan karena kurangnya asupan nutrisi dan penyimpanan darah yang kurang tepat saat penelitian.

### 6.1.2.2 Kimia Darah

#### Total Protein, Albumin, dan Globulin

Parameter biokimia klinis sering digunakan untuk peneguhan diagnosa dan pengobatan penyakit. Uji profil metabolik dapat digunakan untuk memeriksa status nutrisi dan metabolik ternak secara individu maupun kelompok (Nozad *et al.*, 2012). Uji ini dalam perkembangannya menunjukkan adanya variasi komposisi kimia darah yang signifikan antar spesies, bangsa, jenis kelamin dalam satu bangsa ternak, umur (Addas *et al.*, 2010). Salah satu panel pemeriksaan profil metabolik adalah pemeriksaan protein total beserta fraksi utamanya (albumin dan globulin). Keadaan fisiologis dan patologis dapat mengakibatkan variasi dalam kadar albumin dan globulin darah. Pengukuran protein total bisa menjadi alat yang bermanfaat untuk mengevaluasi keadaan fisiologis yang mempengaruhi kesejahteraan hewan (Bobbo *et al.*, 2017). Rasio Globulin dan A/G mewakili kondisi inflamasi sistemik dan status kekebalan tubuh (Hoffman *et al.*, 2018). Globulin sebagai komponen protein serum utama, disintesis dan disekresikan sebagian besar oleh hati dan sel plasma sebagai respons terhadap reaksi inflamasi dan infeksi. Antibodi dan sitokin adalah dua komponen utama globulin (Meyer *et al.*, 2016).

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata konsentrasi protein total sapi sampel adalah  $6,893 \pm 1,149$  g/dL, sedangkan nilai standarnya yaitu 6.7-7.5 g/dL. Sapi persilangan Brahman-PO dan sapi Bali-Limousin-Limousin memiliki konsentrasi tinggi masing-masing (8,64 g/dL), dan konsentrasi terendah adalah sapi persilangan Bali-Brahman-Simmental (4,9 g/dL). Hasil penelitian Irfan dkk (2014) menyebutkan rata-rata konsentrasi protein total pada sapi Limousin ( $8,51 \pm 0,68$



g/dL) tidak berbeda nyata dengan rata-rata konsentrasi protein total sapi Simmental ( $8,41 \pm 0,57$  g/dL), sedangkan rata-rata konsentrasi protein total pada sapi Brahman ( $8,13 \pm 0,43$  g/dL) tidak berbeda nyata bila dibandingkan dengan rata-rata protein total pada sapi Simmental dan Ongole ( $7,84 \pm 0,82$  g/dL).

Peningkatan konsentrasi protein total dalam darah pada sapi persilangan Brahman-PO dan sapi Bali-Limousin-Limousin dapat disebabkan oleh infeksi kronis, hipofungsi, kelenjar adrenal, kegagalan fungsi hati, hipersensitif (alergi), dehidrasi, hemolisis dan leukemia (Kaslow 2010). Konsentrasi protein total dan nilai hematokrit meningkat pada kasus dehidrasi, diikuti dengan peningkatan albumin dan globulin. Penurunan konsentrasi protein total pada sapi Bali-Brahman-Simmental kemungkinan disebabkan oleh malnutrisi dan malabsorpsi, penyakit hati, diare kronis maupun akut, penyakit ginjal (proteinuria), rendahnya konsentrasi albumin dan globulin (Kaslow, 2010).

Konsentrasi protein total serum pada hewan tersusun oleh albumin sebesar 35-50%. Variasi dalam konsentrasi albumin dapat mengindikasikan gangguan hati fungsi karena kondisi inflamasi (Bertoni *et al.*, 2008). Hasil penelitian diperoleh rata-rata konsentrasi albumin diantara sapi sampel adalah ( $2,88 \pm 0,470$  g/dL), sedangkan nilai normalnya yaitu (2.5-3.8 g/dL). Konsentrasi albumin tertinggi ditemukan pada sapi *purebred* Madura (3,8 g/dL), dan terendah pada sapi persilangan Simmental-PO dan Bali-Limousine-Brahman masing-masing (1,9 g/dL). Berdasarkan hasil penelitian Irfan dkk, (2014) diperoleh bahwa rata-rata konsentrasi albumin sapi sub spesies *Bos indicus* berbeda nyata jika dibandingkan sub spesies *Bos Taurus* maupun FH. Menurutnya rata-rata albumin tertinggi pada

sapi Brahman ( $3,16 \pm 0,31$  g/dL), diikuti sapi Ongole ( $3,10 \pm 0,42$  g/dL), Simmental ( $2,85 \pm 0,89$  g/dL), Limousin ( $2,78 \pm 0,27$  g/dL) dan FH ( $2,62 \pm 0,33$  g/dL). Sapi *purebred* Madura memiliki konsentrasi albumin tertinggi kemungkinan karena hati meningkatkan sintesis albumin sebagai respon terhadap peningkatan asam amino dari pakan yang mengandung protein. Kecenderungan kenaikan rata-rata konsentrasi albumin pada sapi dengan *body condition scoring* (BCS) tinggi dan berdampak pada kenaikan rata-rata protein totalnya (Irfan dkk, 2014). Sapi persilangan Simmental-PO dan Bali-Limousine-Brahman memiliki konsentrasi albumin terendah, hal ini kemungkinan karena malnutrisi, rendahnya asupan protein/defisiensi protein pada pakannya, sapi mengalami dehidrasi kronis (Kaslow, 2010).

Globulin berfungsi sebagai pengangkut lemak, vitamin, hormon, dan mineral. Globulin salah satu protein plasma dengan fungsi yang berbeda dan dapat dibagi menjadi 3 fraksi utama ( $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\gamma$ ). Globulin disintesis (50-80%) di hati, sedangkan sisanya dibentuk di jaringan limfoid. Beberapa jenis globulin mengikat hemoglobin, beberapa lainnya mengikat zat besi, berfungsi untuk melawan infeksi, dan bertindak sebagai faktor koagulasi (Kaslow 2010). Konsentrasi globulin mempengaruhi konsentrasi protein total dalam darah. Tingginya konsentrasi globulin mengakibatkan rendahnya rasio A/G (Jackson, 2017).

Konsentrasi globulin ditentukan oleh perbedaan antara konsentrasi protein total dan albumin dan rasio antara konsentrasi albumin dan globulin juga dihitung. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh konsentrasi rata-rata globulin pada sapi sampel diatas normal yaitu ( $4,029 \pm 1,277$  g/dL), sedangkan nilai normalnya (3.0-

3.5 g/dL). Hasil penelitian Irfan dkk, (2014) menyatakan hal yang sama yaitu rata-rata konsentrasi globulin pada semua bangsa sapi yang diteliti 42,15% lebih tinggi bila dibandingkan dengan referensi standar yang digunakan. rata-rata konsentrasi globulin pada sapi sub spesies *Bos taurus* (Limousin dan Simmental) berbeda nyata bila dibandingkan dengan konsentrasi globulin pada sapi FH dan sapi sub spesies *Bos indicus* (Brahman dan Ongole). Sapi persilangan Bali-Limousine-Limousine memiliki konsentrasi globulin tertinggi (6,14 g/dL), diikuti sapi persilangan Brahman-PO (6,1 g/dL). Konsentrasi globulin dapat meningkat akibat infeksi kronis (parasit, bakteri, atau virus), penyakit hati (sirosis, penyumbatan saluran empedu), penyakit autoimun dan gagal ginjal (Kaslow 2010). Ahmadi-Hamedani *et al.* (2014) melaporkan bahwa peningkatan rata-rata konsentrasi globulin pada umur yang lebih tua diduga karena sistem imun yang semakin matang.

Sapi persilangan Bali-Brahman-Simmental memiliki konsentrasi globulin terendah yaitu (1,8 g/dL). Kadar globulin di bawah rata-rata berdasarkan referensi dari berbagai bangsa sapi menurut Permana *et al.* (2021) dapat disebabkan karena ternak sapi mengalami dehidrasi /gangguan keseimbangan cairan atau menurunnya cairan tubuh yang disebabkan tingginya suhu lingkungan sebelum, selama dan setelah transportasi, selain itu juga karena pemberian air minumnya yang terbatas. Kondisi ternak yang mengalami dehidrasi berpengaruh pada konsentrasi albumin dan globulin menjadi meningkat disertai dengan kenaikan konsentrasi protein total dan nilai hematokrit (Jackson 2007).

SGOT (*Serum Glutamic Oxaloasetic transaminase*) dan SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic transaminase*)

*Alanine aminotransferase* (ALT) atau SGPT dan *Aspartate aminotransferase* (AST) atau SGOT, merupakan enzim yang keberadaan dan kadarnya dalam darah dijadikan penanda terjadinya gangguan fungsi hati. Enzim tersebut normalnya berada pada sel-sel hati. Hasil penelitian ini menunjukkan rata-rata kadar SGOT sapi sampel yaitu ( $92,450 \pm 30,38 \mu/L$ ), dan nilai normalnya adalah 60-125  $\mu/L$ . Sapi persilangan Simmental-PO dan sapi Bali-Limousine-Brahman memiliki kadar SGOT tertinggi masing-masing adalah (143  $\mu/L$ ). Kadar ALT dan AST serum meningkat pada hampir semua penyakit hati (Kim *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2014). Kadar yang tertinggi ditemukan dalam hubungannya dengan keadaan yang menyebabkan kerusakan sel parenkim hati akibat nekrosis atau perubahan permeabilitas membran hati, sehingga enzim terlepas bebas. Peningkatan yang lebih rendah ditemukan pada hepatitis akut ringan demikian pula pada penyakit hati kronik difus maupun lokal (Gowda *et al.*, 2016). Tingginya kadar SGOT pada sapi persilangan Simmental-PO dan sapi Bali-Limousine-Brahman kemungkinan adanya indikasi kerusakan pada hati akan menyebabkan enzim-enzim hati tersebut lepas ke dalam aliran darah sehingga kadarnya dalam darah meningkat (Tsani dkk, 2017). Menurut Alameen, (2012) kadar SGOT dan SGPT sapi perah lebih tinggi daripada standar pada musim panas dibandingkan pada musim dingin. Bedenicki *et al.* (2014) juga menyatakan kadar SGOT dan SGPT sapi sumba ongole (SO) lebih tinggi daripada standar. Kadar SGOT terendah adalah sapi *purebred* Ongole dan Brahman masing-masing (46 $\mu/L$ ).

Rata-rata kadar SGPT sapi sampel yaitu ( $36,950 \pm 13,304 \mu/L$ ) dan nilai normalnya ( $11-40 \mu/L$ ). Sapi persilangan Bali-Madura dan sapi persilangan Bali-Simmental-Limousine memiliki nilai SGPT tertinggi masing-masing ( $67 \mu/L$ ). Kadar SGPT dalam darah diketahui tidak berbeda signifikan antara sapi jantan dan betina, namun kenaikan kadar SGPT dapat disebabkan meningkatnya glukoneogenesis (Koubkova *et al.* 2002), atau beberapa dampak gangguan aktifitas hati dan stres karena suhu. Sapi persilangan Bali-Brahman dan Bali-Brahman-Simmental memiliki kadar SGPT terendah masing-masing ( $20 \mu/L$ ). Parameter SGPT digunakan karena enzim ini merupakan salah satu enzim yang diproduksi di hati dan dikeluarkan ke dalam darah di mana kadarnya berbanding lurus dengan keadaan hati itu sendiri, semakin tinggi kadarnya dalam darah menandakan semakin rusak hatinya.

#### *Alkaline Phosphatase (ALP)*

Pada sapi dan hewan lain keberadaan ALP sebagai isoenzim dapat ditemukan pada beberapa jaringan antara lain di usus (*intestinal ALP*), ALP non spesifik didapatkan pada tulang (*bone ALP*), hati (*liver ALP*), dan plasenta (*Placenta ALP*) (Yang *et al.* 2014). Fosfatase alkali disekresi melalui saluran empedu. Meningkat dalam serum apabila ada hambatan pada saluran empedu (*kolestasis*). Tes ALP terutama digunakan untuk mengetahui apakah terdapat penyakit hati (*hepatobiliar*) atau tulang (Kresno, 2001). Alkali fosfatase merupakan petunjuk untuk menentukan apakah terdapat penyakit hati dan tulang. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rata-rata nilai ALP sapi sampel adalah ( $111,55 \pm 77,948 \mu/L$ ), sedangkan nilai normalnya adalah ( $27-127 \mu/L$ ). Sapi persilangan Bali-

Brahman-Simmental memiliki nilai ALP dalam darahnya tertinggi (153  $\mu$ /L), sedangkan sapi persilangan Simmental-Bali dengan nilai ALP terendah (22  $\mu$ /L). Jika terjadi kerusakan ringan pada sel hati, kadar ALP mengalami kenaikan. Tetapi peningkatan yang jelas terlihat pada penyakit hati akut. Begitu fase akut terlampaui, kadar serum akan segera menurun, sementara kadar bilirubin serum tetap meningkat (Kee, 2014). Peningkatan kadar ALP juga ditemukan pada beberapa kasus keganasan tulang dengan *metastase* dan kadang-kadang keganasan pada hati atau tulang tanpa metastase (Sesuri, 2012). Kadar ALP dapat mencapai nilai sangat tinggi (hingga 20 x lipat nilai normal) pada *sirosis biliar primer*, kondisi yang disertai gangguan fungsi hati dan pada penyakit radang, regenerasi, dan obstruksi saluran empedu intrahepatik.

#### Kolesterol Total

Kolesterol adalah suatu zat yang dihasilkan oleh metabolisme lemak yang berasal dari tubuh dan dari pakan yang dimakan. Tubuh terutama hati memproduksi kolesterol yang dibutuhkan dan kemudian dilepaskan ke dalam aliran darah. Hati akan memproduksi lebih banyak kolesterol saat individu banyak mengonsumsi pakan yang banyak mengandung lemak jenuh. Lemak pada tubuh akan disimpan 50% pada jaringan bawah kulit (subkutan), 45% di sekeliling organ dalam rongga perut dan 5% di jaringan intramuskular. Menurut Harold *et al.* (2013) lipid berlebih akan disimpan pada jaringan nonadiposa seperti hati, otot atau pankreas sehingga menyebabkan terjadinya lipotoksisitas. Jaringan adiposa mempunyai kapasitas tertentu dalam menyimpan lemak, kelebihan kalori dapat menyebabkan hipertrofi jaringan adiposa (Harold *et al.*, 2013). Metabolisme serum kolesterol memiliki

asosiasi bermakna dengan fungsi tiroid (Jeong *et al.*, 2018). Nilai total kolesterol lebih tinggi daripada normal memiliki korelasi dengan risiko kejadian penyakit jantung koroner. Hasil penelitian menunjukkan nilai rata-rata kolesterol total sapi sampel adalah  $(113,47 \pm 36,608 \text{ mg/dL})$ , sedangkan nilai normalnya (65-220 mg/dL). Sapi persilangan Bali-Brahman-Simmental memiliki nilai kolesterol total tertinggi (190 mg/dL) sedangkan sapi persilangan Brahman-PO memiliki nilai kolesterol total terendah (17 mg/dL). Menurut hasil penelitian Dharmawan (2019), kisaran nilai total kolesterol sapi Bali betina lepas sapih terendah adalah 122 mg/dL dan tertinggi 146,33, mg/dL. Nilai ini lebih rendah bila dibandingkan dengan kisaran total kolesterol yang dilaporkan Hutchinson *et al.* (2012) yaitu 192,2-229,3 mg/dL.

Watanabe *et al.*, (2003) melaporkan adanya korelasi genetik antara konsentrasi serum kolesterol total dan kualitas karkas. Adanya korelasi genetik antara konsentrasi serum kolesterol total terhadap kualitas karkas dan ketebalan tulang rusuk mengindikasikan bahwa konsentrasi serum kolesterol total efektif dijadikan indikator fisiologis meningkatkan kualitas pertumbuhan sapi dan kualitas karkasnya. Ito and Hirooka (2003) melaporkan bahwa pengukuran konsentrasi serum kolesterol total pada sapi umur 18 s/d 26 bulan memiliki korelasi secara signifikan dengan *carcas weight* /CW dan *rib thickness*/ RT. Korelasi tersebut mengindikasikan dengan naiknya konsentrasi kolesterol total dalam darah maka CW dan RB juga meningkat.

## 6.2 Tahap Kedua

### 6.2.1 Isolasi dan Analisis DNA

#### 6.2.1.1 Uji Kuantitas dan Kualitas DNA

Tahapan awal yang dilakukan untuk mengidentifikasi DNA secara molekuler adalah isolasi DNA (Cawthorn *et al.* 2012). Isolasi DNA dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Prinsip utama dalam isolasi DNA ada tiga yakni penghancuran (*lisis*), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA (Corkill & Rapley, 2008; Dolphin, 2008). Keberhasilan proses isolasi DNA ditentukan oleh kuantitas dan kualitas kemurnian DNA yang dihasilkan (Chowdhury *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2015). Beberapa teknik isolasi DNA telah dikembangkan baik secara konvensional maupun menggunakan kit isolasi DNA yang sudah dikembangkan secara komersial (Bohme *et al.*, 2019). DNA hasil isolasi selanjutnya dilakukan pengukuran kuantitas dan kualitas untuk melihat konsentrasi dan kemurniannya dengan menggunakan *spektrofotometer* dan elektroforesis gel. Uji kualitas DNA dilakukan dengan horizontal elektroforesis, pengecekan hasil isolasi DNA pada gel agarose. Molekul DNA dalam suatu sel dapat diekstraksi atau diisolasi untuk berbagai macam keperluan seperti amplifikasi dan analisis DNA melalui elektroforesis. Pengukuran konsentrasi DNA dengan spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan protein diukur pada panjang gelombang 280. Kemurnian larutan DNA dapat dihitung melalui perbandingan A260 nm dengan A280 nm. Batas



kemurnian yang biasa dipakai dalam analisis molekuler pada rasio A260/A280 adalah 1,8-2,0 (Sambrook *et al.*, 1989).

Hasil penelitian didapatkan konsentrasi DNA pada dua puluh sampel sapi diatas 300 ng/ $\mu$ l, hasil kualitas DNA sampel dengan panjang gelombang A260/A280 didapatkan kemurnian DNA diatas 1.8, kecuali sapi persilangan (Bali-Madura-Limousine) hasilnya dibawah 1.8. Pengukuran dengan panjang gelombang A260/280 didapatkan kemurnian DNA diatas 1.8 kecuali pada sapi (Limousine-Bali) dan sapi (Bali-Brahman-Simmental) yang memiliki nilai kemurnian DNA 1,75 dan 1,74. Hal ini kemungkinan pada dua sampel tersebut isolat DNA yang dihasilkan masih mengandung kontaminan berupa fenol atau pelarut yang digunakan terlalu banyak.

Tinggi atau rendahnya konsentrasi DNA yang dihasilkan dalam proses isolasi dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Pertama, faktor suhu inkubasi. Sampel yang telah dicampur dengan larutan *lysis buffer* diinkubasi pada suhu tertentu. Larutan tersebut berfungsi untuk menghancurkan jaringan dan membran sel, mengeliminasi kontaminan, sehingga yang didapatkan pada tahapan ini adalah DNA genom yang terdapat dalam sel, yaitu DNA inti dan mitokondria. Suhu inkubasi yang terlalu tinggi dapat merusak DNA, sedangkan jika suhu terlalu rendah maka membran serta jaringan sel tidak dapat hancur. Larutan *lysis buffer* bekerja dengan optimal pada suhu yang tidak terlalu rendah. Pada penelitian ini suhu inkubasi adalah 50<sup>0</sup>C. Kedua, lama waktu inkubasi. Jika terlalu lama diinkubasi maka dapat merusak DNA dan jika terlalu cepat tidak dapat menghancurkan membran dan jaringan sel. Oleh karena itu, baik suhu dan waktu

harus diatur dengan sebaik mungkin agar diakhir isolasi didapatkan DNA dalam konsentrasi yang diharapkan. Lama waktu inkubasi pada penelitian ini adalah sekitar 14 – 16 jam. Menurut Sari dkk (2014) penambahan waktu inkubasi dapat menghasilkan konsentrasi yang tinggi. Kombinasi pengaturan suhu dan lama inkubasi yang tepat dapat menghasilkan konsentrasi isolat DNA sesuai yang diharapkan, sehingga isolat DNA dapat digunakan untuk melakukan tahapan lanjutan seperti PCR. Namun selain konsentrasi DNA, kemurnian juga merupakan syarat penting agar tahapan PCR dapat berhasil.

Hasil isolasi DNA dikatakan murni jika nilai rasio A260/A280 adalah antara 1,8 sampai 2,0. Jika nilai rasio A260/A280 lebih dari 2,0 maka isolat DNA yang dihasilkan masih mengandung kontaminan berupa protein dan senyawa lainnya (Sambrook dan Russell, 2001). Konsentrasi maupun kemurnian DNA yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh faktor teknis selama pengerjaan isolasi DNA, diantaranya adalah faktor pemindahan supernatan yang mengandung DNA setelah diinkubasi ke dalam tabung eppendorf yang baru dan pengeringan isolat. Pemindahan harus dilakukan secara teliti agar jaringan-jaringan yang telah hancur dan berada dibagian bawah tabung tidak ikut terambil, sedangkan pengeringan DNA yang berupa pelet pada tahap akhir isolasi harus benar-benar kering dari larutan sebelumnya yang dipakai untuk purifikasi. Jika pengeringan kurang sempurna, maka larutan purifikasi seperti alkohol atau etanol dapat menurunkan nilai kemurnian DNA pada saat pengukuran pada spektrofotometer. Pengeringan DNA pelet dapat dilakukan menggunakan alat *vacum dryer*, *hair dryer*, inkubasi di dalam *waterbath*, ataupun dikeringkan pada udara terbuka di dalam laboratorium.

Selain faktor teknis, faktor alat dan bahan yang digunakan juga akan sangat berpengaruh pada kualitas DNA yang dihasilkan. Alat-alat seperti tabung eppendorf, tabung PCR, *tips*, harus steril sebelum digunakan untuk mengisolasi DNA.

#### 6.2.1.2 Amplifikasi DNA

DNA hasil ekstraksi digunakan sebagai template proses amplifikasi gen COI (*Cytochrome C Oxidase I*) dilakukan dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, 35 siklus yang terdiri atas denaturasi pada suhu 95°C selama 45 detik, penempelan primer pada suhu 60°C selama 45 detik dan pemanjangan DNA baru pada suhu 72°C selama 1 menit dan pemanjangan akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Hasil amplifikasi akan terlihat sebagai pita DNA. Berdasarkan hasil penelitian dan visualisasi elektroforesis gen COI terlihat 20 pita DNA dengan panjang 700 bp, walaupun tidak semua sampel memiliki ketebalan yang sama. Keberhasilan amplifikasi gen COI juga dilaporkan oleh (Pelo dkk, 2015) pada sampel sirip ikan hiu berdasarkan kemunculan pita DNA pada posisi panjang basa 700 bp. Pita DNA yang muncul pada tujuh (7) sampel sapi *purebred* menunjukkan pita DNA yang lebih tebal daripada pita DNA 13 sapi persilangan. Penelitian Yan Sen *et al.*, (2010) juga menggunakan gen COI sebagai DNA *barcode* untuk mengidentifikasi 18 spesies bovidae menghasilkan pita DNA sepanjang 700 bp. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan konsentrasi DNA hasil ekstraksi di dalam template yang digunakan untuk PCR serta perbedaan konsentrasi DNA yang berhasil diamplifikasi (Sambrook & Russell, 2001). Kualitas DNA total yang baik dianggap layak digunakan sebagai cetakan dalam

proses amplifikasi gen COI dengan teknik PCR. Konsentrasi DNA sebesar 0,01-0,1 µg setiap µl larutan template sudah cukup baik untuk PCR. Band yang tebal, bersih, dan sesuai ukuran target pada hasil elektroforesis. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses amplifikasi DNA antara lain jenis primer yang digunakan, hasil isolasi dan purifikasi DNA, serta ketepatan kondisi siklus PCR, serta kemungkinan kontaminasi munculnya pita DNA non spesifik tidak sesuai target (Hao *et al.* 2020). Primer merupakan bagian penting dalam PCR karena primer berguna dalam menginisiasi pembentukan target DNA (Ye *et al.*, 2012), dimana untuk menyusun suatu primer harus terdiri dari 18-20 basa dengan perbandingan G/C adalah 50%.

Amplifikasi gen COI dilakukan pada suhu penempelan primer (*annealing*) sebesar 60<sup>0</sup>. Suhu *annealing* yang optimal merupakan tahap yang sangat penting dilakukan pada metode PCR, hal ini disebabkan penempelan primer forward dan reverse pada kedua ujung DNA terjadi pada tahap *annealing*. Temperatur *annealing* terlalu tinggi, primer tidak dapat menempel dengan baik pada template sedangkan bila temperatur *annealing* terlalu rendah maka primer akan menempel pada situs penempelan yang tidak spesifik. Menurut Pertiwi dkk, (2015) optimalisasi amplifikasi PCR tidak tergantung pada persamaan maupun perbedaan spesies dari masing-masing sampel. Keberhasilan isolasi dan amplifikasi DNA dengan PCR bergantung pada konsentrasi isolat DNA templat yang cukup, primer, dan temperatur *annealing*. Gen COI diketahui merupakan salah satu gen yang banyak digunakan sebagai DNA *barcode* untuk mengidentifikasi berbagai spesies hewan (Hebert *et al.*, 2013, Chao *et al.*, 2014)

### **6.3 Tahap Ketiga**

#### **6.3.1 Analisis Hasil Sekuensing**

##### 6.3.1.1 Komposisi Nukleotida

Komposisi nukleotida pada gen COI sapi sampel relatif konsisten dengan komposisi nukleotida yang ditemukan pada sekuen COI spesies mammalia lain dan serangga (Suriana dkk, 2018). Komposisi basa N juga mempengaruhi susunan asam amino yang mengkode protein gen, sehingga perubahan komposisi nukleotida akan menyebabkan perubahan kode genetik (Mitra *et al.*, 2016), walaupun tidak semua perubahan tersebut menyebabkan perubahan gen saat beberapa asam amino mengkode lebih dari satu sekuen gen.

Hasil penelitian menunjukkan komposisi nukleotida rata-rata basa N antar sapi sampel yang dianalisis terdiri atas timin (T) 28,86%, sitosin (C) 26,78%, adenin (A) 27,38% dan Guanin (G) 16,99%. Total basa nukleotida A+T sebesar 56,24%, sedangkan G+C sebesar 43,77%, nilai  $GC < AT$  dan umumnya kandungan GC pada vertebrata sebesar 40-45% (Rahayu dkk, 2014). Kecenderungan dominasi basa timin dan adenin disebabkan oleh penggunaan basa tersebut sebagai kodon triplet. Penggunaan kodon triplet berhubungan dengan ketersediaan tRNA yang bersesuaian dan juga laju ekspresi gen, sehingga komposisi nukleotida berhubungan dengan laju substitusi (substitusi transisi lebih besar dibanding dengan substitusi transversasi) (Suriana dkk, 2018).

Dominasi basa timin dan adenin dibandingkan sitosin dan guanin sama halnya penelitian Suastika dkk (2020) yang menganalisis gen COI pada sapi Taro dan Bali. Komposisi adenin terbanyak juga ditemukan pada penelitian Persada

dkk, (2020). Menurut Suriana dkk, (2018) umumnya basa T dan A pada masing-masing spesies terdapat pada kodon ketiga. Hasil penelitian sesuai yang dilakukan (Kim *et al.*, 2013) pada sapi, domba (Pakpahan *et al.*, 2016; Sofla *et al.*, 2017) dan ayam (Adamu *et al.*, 2016), bahwa komposisi basa A+T lebih tinggi daripada basa nukleotida C+G.

Setiap nukleotida yang terletak di satu untai dapat berpasangan dengan nukleotida spesifik lainnya di untai lainnya, untuk membentuk heliks ganda yang terkenal. Struktur yang terbentuk secara efisien A selalu digabungkan dengan T melalui dua ikatan hidrogen, dan G dengan C dengan tiga ikatan. Jumlah basa A identik dengan jumlah T dan sama dengan G dan C, pola ini dikenal sebagai hukum Chargaff. Menurut Jusuf (2011) ikatan hidrogen A-T terdiri dari 2 ikatan hidrogen yang bersifat lebih lemah dibandingkan dengan ikatan hidrogen G-C yang memiliki 3 ikatan hidrogen. Oleh karena itu, ikatan basa nukleotida A-T lebih mudah untuk terpisah, sehingga menyebabkan sapi sampel dalam penelitian ini memiliki kemungkinan mutasi yang relatif tinggi. Komposisi rata-rata basa nukleotida terutama timin dan adenin sapi persilangan (Angus-PO), (Bali-Simmental), dan (Bali-Limousine-Brahman) lebih tinggi dibandingkan sapi lain. Komposisi basa ini sesuai dengan beberapa hasil penelitian antara lain Susari dkk (2020) bahwa adenin dan timin dominan dibandingkan sitosin dan guanin, karena dalam gen mitokondria khususnya COI kaya akan timin dan adenin (da Silva *et al.*, 2011; Goncalves *et al.*, 2015; Hashemi-Aghdam *et al.*, 2017; Morlais & Severson 2002; Suriana dan Nasaruddin 2017).

Berdasarkan analisis probabilitas terjadinya substitusi basa di antara sapi sampel, diperoleh hasil yang berbeda pada probabilitas frekuensi terjadinya substitusi nukleotida yaitu transisi A>G dan G>A memiliki kemungkinan 23,45 kali dan 38,81 kali lebih besar daripada transisi dan transversasi basa nukleotida lainnya. Hasil ini sejalan dengan penelitian Toda dan Murai (2008) bahwa substitusi adenin menjadi guanin lebih besar dari sitosin menjadi timin, namun berbeda dengan hasil penelitian. Komposisi nukleotida berhubungan dengan laju substitusi. Substitusi transisi lebih besar dibandingkan dengan substitusi transversasi. Laju mutasi adalah peluang terjadinya mutasi pada sebuah gen. Pengukuran laju mutasi penting untuk dilakukan didalam genetika populasi, studi evolusi, dan analisis pengaruh mutagen lingkungan. Mutasi spontan biasanya merupakan peristiwa yang sangat jarang terjadi sehingga untuk memperkirakan peluang kejadiannya diperlukan populasi yang sangat besar dan teknik tertentu.

#### 6.3.1.2 *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)

Deteksi SNP bermanfaat untuk menganalisis silsilah /asal usul genetik indukan sapi, mengidentifikasi keragaman genetik, kualitas karkas daging, produksi susu, laju pertumbuhan dan dapat mengetahui korelasi polimorfisme dengan resistensi hewan terhadap suatu penyakit (Sharma *et al.*,2011). Adanya *polimorfisme* dalam gen merupakan bentuk marka molekular yang bertujuan memperlihatkan adanya munculnya kandidat gen dengan sifat-sifat tertentu yang diharapkan (Viluma, 2012;Petersen, 2014; Pereira, 2016). SNP merupakan marka molekular yang banyak digunakan karena dapat memberikan informasi keragaman DNA (Hasibuan, 2014). Keragaman runutan nukleotida suatu gen dapat ditemukan

baik di coding region (daerah penyandi) maupun non-coding region. Variasi yang ditemukan pada kedua daerah tersebut sangat mempengaruhi proses pengolahan mRNA dan stabilitas produk protein. *Polimorfisme* beberapa titik mutasi yang muncul pada gen menunjukkan adanya perbedaan individu dalam satu spesies (Viscardi *et al.*, 2018; Brodetzki *et al.*, 2019; Takashi-Kariyazono *et al.*, 2020) dan dapat menyebabkan perubahan fisiologi pada mitokondria, metabolisme protein, *feed intake*, *feeding efficiency* pada ruminansia dan munculnya penyakit infeksi (Craven *et al.*, 2017).

Hasil penelitian menyatakan bahwa diantara *purebred* sapi Bali paling banyak ditemukan mutasi nukleotida yaitu 62 titik, sapi Ongole sebanyak 38 titik dan sapi Madura sebanyak 8 titik. Hal ini diasumsikan bahwa sapi Bali/ *Bos javanicus* adalah Banteng yang telah lama didomestikasikan dan memiliki kedekatan genetik dan menjadi sapi lokal Indonesia., Sapi Ongole dan Madura berasal dari *Bos indicus* merupakan jenis sapi yang diketahui Hasil yang sama pada penelitian Prihandini dkk, (2020) menggunakan *gen cyt b mtDNA* keragaman genetik yang tinggi pada sapi Bali dan Madura mengindikasikan tingginya tingkat mutasi pada kedua bangsa sapi tersebut. Penelitian Rahmatullaili *et al.*, (2019) menyatakan hal yang sama bahwa tingginya substitusi nukleotida pada sapi Bali mengindikasikan tingginya keragaman genetik. Penelitian Jakaria dkk (2021) juga menyebutkan heterozigositas sapi Bali tinggi sehingga memiliki banyak keragaman genetik, sebaliknya rendahnya nilai heterozigositas mengindikasikan bahwa bangsa sapi tersebut telah dengan baik dikonservasi. Sheriff & Alemayehu (2018) menyatakan populasi dengan heterozigositas tinggi akan memiliki variasi



genetik  $\geq 50\%$ . Sapi Bali dan Madura tidak hanya diketahui memiliki variasi nukleotida tertinggi, namun juga memiliki haplotype dan keragaman nukleotida tertinggi. Keragaman genetik yang tinggi ( $S=118$ ) juga ditemukan pada sapi Bali berdasarkan analisis sekuen mtDNA d-loop (Jakaria *et al.*, 2019).

Substitusi basa pada sapi persilangan paling banyak ditemukan pada sapi persilangan (Angus-PO) sebanyak 127 titik, sapi (Bali-Limousine-Brahman) sebanyak 94 titik dan (Bali-Limousin-Limousin) sebanyak 87 titik. Menurut Decker *et al.* (2014) keragaman genetik yang tinggi pada sapi persilangan disebabkan adanya introgresi beberapa bangsa sapi yang berdampak terjadinya percampuran genetik. Berdasarkan hasil penelitian sapi persilangan Angus-PO memiliki mutasi titik terbanyak, hal ini kemungkinan induk sapi persilangan tersebut adalah PO yang didatangkan dari Provinsi Jawa Timur dan telah banyak dikembangkan di P. Jawa merupakan hasil perkawinan dengan sapi-sapi bangsa dari luar P.Jawa. Menurut Suyadi *et al.*, (2014) sapi Peranakan Ongole (PO) atau sapi Bengkulu dan Sumba Ongole (SO) termasuk sapi yang paling banyak disilangkan. Populasi sapi PO mendominasi hampir 90% sapi di P.Jawa (DGLS, 2003, 2010b). Hasil tersebut juga sesuai dengan penelitian Hartati *et al.*, (2010) yang menyatakan adanya keragaman genetik sapi lokal disebabkan karena beberapa sapi lokal telah disilangkan dengan bangsa sapi *Bos taurus*, *B. indicus*, dan *Bos javanicus*. Sapi PO memiliki kemampuan pertumbuhan berat badan rata-rata 0.4-0.8 kg per hari, tetapi pada kondisi kurang mendukung hanya mencapai 0.25 kg per hari (Wiyatna *et al.*, 2012). Nugroho (2012) melaporkan sapi PO memiliki performan nilai asupan pakan/ *feed intake*, tingkat pertumbuhan lebih

rendah, dan *body condition score* (BCS) lebih rendah jika dibandingkan sapi persilangan Limousin-PO/ Limpo. Kemampuan mengunyah/ *chewing ability* sapi persilangan Limousin lebih baik daripada sapi PO (Purnomoadi *et al.*, 2003). Menurut Adinata *et al.*, (2017) sifat kualitatif dan karakteristik eksterior sapi peranakan Angus diduga tetua sapi peranakan Angus adalah hasil persilangan antara Aberdeen Angus, American Brahman dan PO. Sapi Peranakan Angus mempunyai keunggulan pertumbuhan yang cepat, performa reproduksi yang baik, kemampuan memanfaatkan pakan berkualitas kurang baik dan toleran terhadap lingkungan tropis.

Hasil penelitian juga menunjukkan sapi persilangan (Bali-Limousine-Brahman) dan (Bali-Limousin-Limousin) memiliki keragaman genetik relatif tinggi. Dampak positif persilangan pada sapi yaitu akan diperoleh heterosis sifat dan karakter baru yang diturunkan dari 2 bangsa sapi berbeda, misalnya induknya sapi bangsa Zebu yang mewarisi daya tahan terhadap suhu yang ekstrem dan sapi bangsa taurine dengan sifat pertumbuhan yang relatif cepat. Keragaman nukleotida mtDNA adalah indikator penting untuk menilai polimorfisme populasi dan diferensiasi genetik (Petersen *et al.*, 2013). Liu *et al.*, (2006) mengungkapkan bahwa keragaman populasi yang tinggi ditunjukkan dengan nilai keragaman haplotipe dan keragaman nukleotida mtDNA yang tinggi. Keragaman genetik yang rendah menunjukkan adanya *inbreeding*. Keragaman genetik pada bangsa sapi membawa dampak secara ekonomi (Marquez *et al.*, 2009). Menurut McCurley *et al.* (1984) meningkatnya *inbreeding* 1% pada sapi potong dewasa berdampak

turunnya berat badan sebesar 2 kg. Pada sapi Limousin penambahan berat badan sapi pasca sapih menurun 0,24 kg dengan meningkatnya *inbreeding*.

Berdasarkan hasil pensejajaran gen COI menunjukkan bahwa mutasi transisi basa sitosin menjadi timin (C>T) dominan ditemukan pada sapi *purebred* Bali, Ongole, Madura dan Simmental. Mutasi tersebut juga ditemukan dominan pada tiga belas (13) jenis sapi persilangan sampel namun yang terbanyak pada sapi persilangan (Simmental-Bali), (Angus-PO), (Limousin-PO) dan (Brahman-PO). Dominasi transisi C>T sama dengan titik mutasi yang ditemukan pada sapi Zebu di China (kode akses EU 344985), sapi Sahiwal (kode akses EF 451795) dan sapi Aceh (Sari, 2011). Menurut Wulandari dkk, (2018) mengungkapkan hal yang sama SNP basa C>T dan T>C pada sapi PO dan sapi pesisir paling banyak dibandingkan dengan basa adenin dan guanin. Penelitian Garcia *et al.* (2006) menyebutkan mutasi substitusi basa sitosin menjadi timin (C>T) sapi pasundan ditemukan pada posisi exon 3 (basa ke 263 dari AY008267).

Agung *et al.*, (2016) mengamati keragaman genetik menggunakan marker microsatellit dan diperoleh hasil bahwa sapi persilangan Simmental memiliki keragaman genetik lebih tinggi daripada sapi lokal (Dadi *et al.*, 2008; Kesvulu *et al.*, 2009; Movahedin *et al.*, 2010; Suh *et al.*, 2014). Studi keragaman genetik sapi persilangan Simmental juga dilakukan Czerneková *et al.*, (2006) yang menunjukkan nilai *heterozygositas* relatif tinggi.

Pasangan basa sitosin dalam heliks ganda DNA, saling melengkapi dengan guanin dengan membentuk tiga ikatan hidrogen. Enzim, *DNA methyltransferase*, *methylates cytosine* menjadi *5-methylcytosine*. Metilasi DNA ini adalah mekanisme

epigenetik, yang mengontrol ekspresi gen. Kompleks pasangan basa sitosin dengan guanin tidak stabil, dan sitosin dapat diubah menjadi urasil dengan deaminasi spontan. Perubahan ini dipulihkan oleh enzim perbaikan DNA seperti urasil glikosilase. Jika tidak, itu mengarah ke mutasi titik. Dalam DNA heliks ganda, timin pasangan basa komplementer dengan adenin melalui dua ikatan hidrogen. Dalam RNA, urasil berpasangan dengan adenin, menggantikan timin. Timin dapat diturunkan dengan metilasi urasil pada C-5. Karenanya, ini disebut 5-metilurasil., timin membentuk dimer dengan basis timin atau sitosin yang berdekatan /di hadapan UV, yang menyebabkan kekusutan dalam heliks ganda DNA. DNA normal memiliki urutan basa nitrogen GCC mengkode Alanin, CGC argini, UGU sistein, CAC histidin, AAG lisin, GUU valin ketika terjadi transkripsi akan mengkode mRNA, tiap tiga (3) basa nitrogen pada mRNA disebut kodon, dan tiap kodon ini akan menentukan asam amino penyusun protein.

Mutasi transisi basa timin menjadi sitosin (T>C) ditemukan paling banyak pada sapi *purebred* Bali walau ditemukan juga pada sapi Ongole, Limousin dan Madura. Mutasi SNP T>C terbanyak ditemukan pada sapi persilangan (Simmental-Bali), diikuti sapi (Bali-Brahman-Simmental), (Bali-Madura) dan (Bali-Simmental-Limousine). Hal ini sesuai dengan penelitian Wulandari dkk, (2019) tentang keragaman mtDNA COI pada sapi lokal pesisir, PO, dan SO, mutasi terbanyak pada C>T dan T>C. Menurut Agung *et al.* (2017) keragaman genetik gen GH pada sapi persilangan Simmental lebih besar dibandingkan dengan sapi lokal SO, PO, Bali. Penelitian Assad *et al.*, (2018) melaporkan bahwa polimorfisme gen COI berpengaruh secara genetik terhadap produksi susu, berat lahir dan berat sapih

pedet. Penggunaan informasi genetik berdasarkan SNP akan bermanfaat untuk memilih sifat heritabilitas rendah atau mencari asal usul yang belum ada pencatatan sebelumnya (Garrick & Ruvinsky, 2015). Tujuan melakukan persilangan sapi PO dengan Simmental *purebred* antara lain adalah memperoleh efek heterosis dari performan sapi Simmental *purebred*, baik dari segi pertumbuhan bobot badan maupun persentase karkas. Bila dibandingkan dengan sapi PO, sapi Simmental hasil persilangan memang cenderung lebih baik dari segi persentase karkas maupun penambahan bobot badannya. Hal ini telah dilaporkan oleh Carvalho *et al.*, (2010) yang menyatakan bahwa sapi-sapi SIMPO di pulau Jawa memiliki persentase karkas dan penambahan bobot badan harian (PBBH) yang lebih tinggi daripada sapi PO dimana persentase karkas sapi SIMPO adalah 51,18% sedangkan sapi PO adalah 49,4%, sedangkan PBBH sapi SIMPO adalah 0,99 kg/ekor/hari sapi PO adalah 0,86 kg/ekor/hari.

Delesi dan insersi basa juga ditemukan pada sapi persilangan (Bali-Limousine-Limousine) dan (Bali-Limousine-Brahman). Insersi T dan A banyak ditemukan pada sapi persilangan (Angus-PO) dan (Brahman-PO). Delesi T, C dan G ditemukan pada sapi *purebred* Bali dan beberapa sapi persilangan. Terjadinya delesi pada beberapa daerah kemungkinan akan mengubah struktur protein dari gen COI, perubahan struktur protein ini mungkin saja akan berpengaruh terhadap variasi genetik dan fisik sapi-sapi persilangan (Zhou *et al.*, 2005). Delesi dapat menyebabkan perubahan pada *reading frame* yang tiap kelompok terdiri atas 3 basa. *Reading frame triplet* yang salah semua (atau hampir semua) pada DNA memberikan kodon mRNA yang salah dan asam amino yang salah pada produk

polipeptida. Ketika terjadi delesi pada dua basa, *reading frame* yang dihasilkan tetap tidak berfungsi. Namun, delesi tiga nukleotida menghasilkan *reading frame* yang berfungsi walaupun terdapat kesalahan pada beberapa asam amino, mampu berfungsi sesuai normal atau menyerupai normal. Pierce *et al.*, (2018) menyatakan bahwa delesi menyebabkan terganggunya gen hingga hilangnya fungsi biologi dan perubahan tampilan fenotipe (Liu & Bickhart, 2012).

### 6.3.1.3 Mutasi Nukleotida Spesifik

Adanya situs mutasi nukleotida spesifik dan perbedaan urutan basa nukleotida gen COI menunjukkan bahwa beberapa sampel sapi *purebred* dan sapi persilangan memiliki keragaman nukleotida yang berbeda dengan sapi sampel lainnya. Sapi Bali memiliki komposisi basa nukleotida spesifik terbanyak diantara sapi *purebred*. Sapi persilangan (Angus-PO) memiliki nukleotida spesifik terbanyak yaitu 102 titik, hal ini dapat diasumsikan banyak titik mutasi yang dapat digunakan sebagai penanda sapi persilangan Angus-PO. Penelitian yang dilakukan Pierce *et al.* (2018) juga menemukan hal yang sama yaitu sapi persilangan Nguni-Angus memiliki *Copy Number Variation Regions* (CNVr) terbanyak ( $n = 114$ ), diantara tujuh (7) bangsa sapi sampel lainnya. Hasil penelitan ini juga menunjukkan sapi persilangan (Bali-Limousine-Brahman) memiliki mutasi nukleotida spesifik sebanyak 26 titik dan (Bali-Limousine-Madura) sebanyak 14 titik. Menurut Makina *et al.* (2014) bangsa sapi Taurine dilaporkan memiliki keragaman genetik tertinggi. Sapi Holdstein dan Angus merupakan bangsa sapi Taurus yang telah lama digunakan secara artificial untuk meningkatkan produksi (Choi *et al.*, 2013).

Mutasi, rekombinasi dan proses seleksi merupakan faktor faktor utama yang dapat mempengaruhi arsitektur genomik dalam suatu populasi (Jimenez, 2014).

Mutasi nukleotida spesifik pada berdasarkan hasil analisis terbanyak adalah perubahan sitosin menjadi timin (C>T). Berdasarkan penelitian Manzoor *et al.*, (2013) diperoleh informasi polymorphism C>T gen 5'UTR CYP11B1 pada sapi Sahiwal di Pakistan. *Gen Calpain* diketahui berasosiasi dengan kualitas daging dan laju pertumbuhan sapi. Sitosin (C) adalah basa pirimidin dari cincin aromatik heterosiklik, disamping dua substituen yang mengikat. Sitosin merupakan salah satu dari lima basa nitrogen yang membuat nukleotida, yang memiliki 3 bagian: gula 5-karbon, basa organik, dan gugus fosfat. Sitosin terdiri dari tiga atom nitrogen, cincin karbon, dan lima hidrogen. Sitosin karena tidak stabil dapat mengalami deaminasi spontan, yang dapat terbentuk di urasil. Timin adalah jenis basa pirimidin lain yang hanya ditemukan dalam DNA. Dalam DNA heliks ganda, timin pasangan basa komplementer dengan adenin melalui dua ikatan hidrogen.

Penelitian Volkandari *et al.*, (2018) menyatakan alel G ditemukan dominan pada populasi sapi Pasundan (*Bos indicus*, *Bos sondaicus*/ *B. javanicus*) jika dibandingkan dengan sapi *Bos taurus*. Penelitian sebelumnya oleh Schenkel *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2010; Bressan *et al.*, 2011; Calvo *et al.*, 2017 melaporkan alel C berasosiasi kualitas daging sapi yang lembut dan rendah lemak

#### 6.3.1.4 Mutasi Asinonim /*Missense Mutation*

Protein adalah rangkaian atau polimer dari sejumlah asam amino. Asam amino adalah molekul organik kecil yang pada umumnya terbuat dari karbon, hidrogen, oksigen, dan nitrogen. DNA mengandung sandi genetik pada tiap asam

amino yang ditampilkan dalam 3 pasang basa yang disebut kodon. Urutan kodon tersebut mencerminkan urutan asam amino yang dirangkai menjadi protein. Substitusi basa yang menyebabkan perubahan asam amino, konsekuensinya bergantung pada bagaimana rantai yang baru ini mempengaruhi pembentukan protein dan bagaimana protein ini mempengaruhi perkembangan dan pertahanan organisme. Variasi genetik pada tingkat DNA lebih akurat dibandingkan dengan variasi genetik pada protein. Mutasi yang menyebabkan perubahan basa-basa pada DNA belum tentu mengubah produk protein yang dihasilkan sebagai ekspresi gen-gen DNA sehingga variasi yang ada pada DNA belum tentu ditunjukkan oleh adanya variasi protein (Lelana, Sutarno dan Ekawati, 2003).

Mutasi *missense* diketahui 80% terkait dengan munculnya penyakit adalah substitusi asam amino yang mempengaruhi stabilitas protein, mengubah fleksibilitas protein sehingga akan mempengaruhi struktur asli dan fungsi protein. Berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat sapi *purebred* Bali paling banyak ditemukan mutasi asinonim, dari 62 titik SNP yang ditemukan, 29 titik diantaranya termasuk mutasi asinonim. Sapi persilangan (Simmental-Bali) ditemukan paling banyak mutasi asinonim diantara sapi persilangan lainnya yaitu 21 titik dari 61 titik SNP. Sapi Bali dan persilangan (Simmental-Bali) sampel ditemukan beberapa titik mutasi yang sama dan menyebabkan perubahan asam amino, hal ini dapat diasumsikan dapat dijadikan penanda identifikasi jenis sapi secara genetik. Mutasi asinonim pada sapi Bali dan persilangan (Simmental-Bali) antara lain posisi basa ke 660 mutasi C>T mengubah asam amino treonin menjadi isoleusin (T>I), dan serin menjadi leusin (S>L). Treonin berfungsi untuk meningkatkan fungsi sistem



kekebalan tubuh dan sistem saraf pusat, sedangkan isoleusin dan leusin berfungsi untuk memperbaiki kerusakan hati dan menjaga kesehatan syaraf. Posisi basa 458 sapi Bali dan sapi persilangan (Simmental-Bali) terdapat mutasi T>C yang mengubah asam amino fenilalanin menjadi serin (F>S). Keragaman genetik akan menghasilkan keragaman fenotip jika keragaman urutan nukleotida dalam pengurutan DNA menghasilkan perbedaan urutan asam amino dalam protein yang lain dikode oleh urutan DNA itu, walau pada penelitian ini belum diketahui perubahan fenotip yang muncul. Penelitian lanjutan dapat dilakukan untuk mengetahui pengaruh mutasi sapi persilangan di Sulawesi Selatan terhadap performan fenotip. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya diketahui sapi Bali memiliki substitusi nukleotida tinggi yang mengindikasikan keragaman genetik tinggi diantara populasi (Rahmatullaili *et al.*, 2019). Penelitian Jakaria *et al.* (2019) menemukan keragaman genetik tinggi pada sapi Bali menggunakan analisis d-loop pada mtDNA. Sapi persilangan Simmental menurut penelitian Agung *et al.* (2016) memiliki polymorfisme tinggi/alel terbanyak jika dibandingkan sapi simmental *purebred* dan sapi lainnya. Penelitian *missense mutation* antara lain, substitusi leusin menjadi proline diketahui menyebabkan perubahan signifikan terhadap fungsi beberapa protein seperti lysozyme T4 dan caspase- 9 (Kundu *et al.*, 2013). Penelitian yang lain menyebutkan mutasi *missense alanine* (A) dan *glycine* (G) pada EPAS1 yang mengkode *asam amino threonine* (T) dan *serine* (S) pada posisi 606 dan 610 diketahui berasosiasi dengan kejadian *pulmonary hipertention* (PH) pada sapi Angus (Newman *et al.*, 2015). Penelitian mutasi *missense* pada sapi di Cina oleh Zeng *et al.*, (2019) menggunakan gen HSPB7, diperoleh hasil mutasi

C>G menyebabkan substitusi asam amino alanin menjadi glisin berkorelasi dengan kemampuan sapi beradaptasi dengan suhu dan lingkungan ekstrem. Penelitian lainnya oleh Cheng *et al.*, (2019) melaporkan mutasi g.35989944 T>C pada exon 3 menyebabkan perubahan asam amino sistein menjadi arginin (Cys>Arg) menggunakan *gen KCNJ12* yang berkorelasi kuat dengan performan sapi potong.

### 6.3.1.5 Analisa Kekerbatan

#### 6.3.1.5.1 Jarak Genetik dan Homologi

Jarak genetik dan homologi sapi purebred dan persilangan dianalisis menggunakan *Kimura two-parameter* model algorithm. Data SNP dan jarak genetik dapat digunakan untuk mengklasifikasikan sapi sampel dalam *cluster*. Hasil penelitian menunjukkan tiga (3) cluster yaitu cluster (A) sapi persilangan (Angus-PO), cluster B didominasi sapi *B. Taurus* Angus, Brahman, Simmental, Limousin, dan Madura; dan cluster C terdiri dari dua belas (12) sapi persilangan dan dua (2) sapi *purebred* Bali dan Ongole. Berdasarkan hasil analisis jarak genetik dan homologi menunjukkan jarak terkecil mengindikasikan bahwa hubungan kekerabatan antar sapi penelitian terdekat dengan *Bos taurus* yakni sampel Angus /S5, Brahman/S6, dan Simmental/S7 dengan nilai jarak genetik (*p-distance*) ketiga sampel tersebut sama yakni sebesar 0,000 dan 100% homolog dengan kedua standar *Bos taurus*. Sapi Limousine/S3 dengan jarak genetik 0,002 memiliki nilai homologi 99,8%. Hal ini sebanding dengan perubahan komposisi basa nukleotida pada jenis sapi-sapi tersebut yang relatif *conserved* sedikit terjadi mutasi khususnya sapi Angus yang tidak terdapat perubahan komposisi nukleotida. Sedangkan jenis sapi lainnya terdapat perubahan komposisi nukleotida terhadap *GenBank* yakni

Brahman 1 perubahan (0,13 %), Limousine 1 perubahan (0,13%), Simmental 3 perubahan (0,39 %) dan Madura 8 titik mutasi. Sapi persilangan Sp7 (Bali-Brahman) dan Sp10 (Bali-Madura) memiliki jarak genetik terkecil diantara sapi persilangan lainnya yaitu masing-masing 0.077 dan homologi 92%.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui sapi sampel yang memiliki jarak genetik terbesar/hubungan kekerabatan terjauh yakni sapi persilangan SpB (Angus-PO) dengan nilai jarak genetik (*p-distance*) sebesar 0,24812 homologi hanya 75,18 % dan sampel Sp6 (Bali-Limosine-Brahman) dengan jarak genetik sebesar 0,12602 homologi 87,39% terhadap *B. taurus*. Selain perbedaan jarak genetik yang terbesar terhadap standar *GenBank*, sapi persilangan (Angus-PO) mempunyai perubahan komposisi nukleotida/mutasi substitusi terbesar yakni 127 titik perubahan. Menurut Kaehler *et al.* (2015) jarak genetik ditentukan secara langsung oleh komposisi basa nukleotida.

#### 6.3.1.5.2 Analisis Filogenetik

Metode *Neighbor-Joining* (NJ) merupakan salah satu metode berbasis jarak dalam merekonstruksi pohon filogenetik, metode ini berfokus pada jumlah perubahan basa nukleotida diantara masing-masing pasangan dalam kelompok. Model *Kimura 2-Parameters* memiliki asumsi bahwa proses substitusi yang terjadi diantara keempat basa nukleotida mempunyai peluang yang sama (setara) dalam banyak kasus tidak realistis sehingga pada model ini memberikan skema bahwa rata-rata substitusi transisional dan transversional masing-masing basa nukleotida mempunyai peluang yang berbeda, transisional berupa  $\alpha$  per satuan waktu dan transversional berupa  $\beta$  per satuan waktu (Karmana, 2009). Hal ini membuat model

*Kimura 2-Parameters* dapat membedakan titik *transisi* dan *transversi* secara nyata dari sekuen yang diuji.

Hasil analisis menunjukkan dua puluh (20) sampel membentuk tiga (3) *cluster* utama dan satu (1) out group. *Cluster A* adalah sapi persilangan Angus-PO yang terpisah jauh dengan sapi sampel lainnya. Jarak genetik dengan dua (2) standar genbank *B. taurus* adalah 0,248. Jarak genetik sapi (Angus-PO) terjauh dengan sapi *purebred* Bali yaitu 0,296 dan jarak terjauh dengan sapi persilangan adalah dengan sapi (Brahman-PO) yaitu 0,297. Berdasarkan jarak genetik, sapi persilangan Angus-PO lebih dekat dengan sapi *purebred* Angus (0,248) jika dibandingkan dengan ongole (0,269). Sapi persilangan Angus-PO memiliki kekerabatan relatif jauh dengan sapi sampel lainnya, kemungkinan karena jarak genetik yang jauh dan tingginya keragaman nukleotida yang dimiliki.

*Cluster B* merupakan kelompok sapi yang memiliki jarak genetik terdekat dengan dua (2) standar genBank. Kelompok ini terdiri dari sapi *purebred* Angus, Brahman dan Simmental dengan jarak genetik terdekat yaitu 0,00 sedangkan Limousin mempunyai jarak genetik 0,002 dan Madura dengan nilai 0,013. Hal ini selaras dengan jumlah titik perubahan (Substitusi) basa nukleotida terhadap kedua sampel acuan *Bos Taurus Gen Bank*, jumlah perubahan nukleotida terendah secara berurutan yakni S5 Angus 0 titik, S3 Limousine 1 titik, S6 Brahman 1 titik dan S7 Simmental 3 perubahan. Kekerabatan yang dekat antara sapi Brahman dan *B. taurus* diasumsikan bahwa sapi Brahman merupakan sapi potong unggulan yang dikembangkan di banyak negara dan salah satu jenis sapi *B. indicus* yang merupakan hasil dari peranakan sapi zebu dari India. Sapi ini kemudian

mengalami pengembangan lebih lanjut di peternakan Amerika dan menghasilkan jenis sapi brahman yang besar dan gemuk. Brahman *Cross* adalah hasil persilangan yang banyak dikembangkan di Australia. Sapi Madura yang merupakan persilangan antara sapi Bali (*Bos sondaicus*) dengan sapi Zebu (*Bos indicus*), juga masuk cluster ini. Kedekatan kerabat sapi Madura dengan kelompok sapi *B. taurus* kemungkinan karena tetuanya adalah sapi Zebu yang telah diketahui dikembangkan di banyak negara.

Dua belas (12) jenis sapi persilangan dari induk sapi lokal dan pejantan dari *Bos taurus*, *Bos indicus*, dan *Bos javanicus* berada dalam satu (1) *cluster* dengan sapi *purebred* Bali dan Ongole (*cluster C*). Sapi persilangan di Kabupaten Sidrap yang membentuk 1 *cluster* yaitu (Limousin-Bali), (Simmental-Bali), (Bali-Limousin-Limousin), (Bali-Limousin-Brahman), (Bali-Brahman), (Bali-Limousin-Madura), (Bali-Brahman-Simmental), (Bali-Madura), (Bali-Simmental-Limousin). Sapi persilangan di Kabupaten Gowa yang masuk *cluster C* yaitu (Limousin-PO), (Brahman-PO), dan (Simmental-PO). Jarak genetik terkecil yang mengindikasikan kekerabatan yang dekat dengan sapi *purebred* Bali dan Ongole diantara 12 sapi persilangan tersebut adalah sapi persilangan (Limousin-Bali). Sapi (Limousin-Bali) dengan sapi Bali memiliki jarak genetik 0,054, sedangkan dengan sapi Ongole berjarak 0,041. Menurut Kim *et al.* (2002) semakin kecil jarak genetik, maka makin dekat kekerabatan antar populasi sapi. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Pamungkas *et al.* (2012) bahwa bangsa sapi Limousin dan Simmental diketahui telah disilangkan secara luas dengan beberapa induk sapi lokal Indonesia. Nilai bootstrap *cluster A* sebesar 94%, *cluster B* 1005 dan *cluster C* 48%. Menurut

Herbert *et al.* (2003), persentase bootstrap 1000 kali ulangan dengan nilai diatas 80% pada percabangan menunjukkan hasil yang sangat baik karena nilai tersebut mendukung secara kuat bahwa sampel yang berada dalam satu cabang adalah benar atau berada dalam satu spesies.

### **6.3.2 Analisis Korelasi SNP dan Hematologi**

#### 6.3.2.1 Korelasi SNP Nukleotida dengan Hematologi

Analisis korelasi bivariat (*Pearson Correlation*) dilakukan untuk mengetahui adanya korelasi keragaman genetik (SNP) nukleotida dan asam amino dengan profil hematologi dan kimia darah. Berdasarkan hasil penelitian diketahui 3 (tiga) parameter hematologi yang mempunyai korelasi positif terhadap SNP yakni WBC, MCH dan MCHC dan 2 (dua) Parameter yang mempunyai korelasi negatif terhadap SNP yakni RBC dan HCT. Kekuatan atau derajat korelasi ditunjukkan dengan nilai *Pearson Correlation* parameter RBC (0,650), HCT (0,619) dan MCHC (0,617) mempunyai korelasi yang kuat terhadap SNP, sedangkan nilai *Pearson Correlation* parameter MCH (0,541) dan WBC (0,542) mempunyai korelasi yang sedang terhadap SNP. Korelasi tersebut dapat diasumsikan bahwa bahwa latar belakang genetik diketahui mempengaruhi respons imunologis terhadap infeksi dan ekspresi protein pada sistem imunologis. *Polimorfisme* beberapa gen diketahui mempengaruhi respons imun dan kerentanan terhadap suatu penyakit. Adanya gangguan metabolisme, penyakit, kerusakan struktur atau fungsi organ, pengaruh agen/obat, dan stres dapat diketahui dari perubahan profil darah (Iheidioha *et al.*, 2012). Terjadinya perubahan pada darah dapat mengindikasikan bahwa adanya kelainan atau penyakit (Anwar, 2015). Kondisi tersebut juga dapat terjadi pada

ternak yang kekurangan pakan dan nutrisi. Indikasi umum untuk analisis RBC adalah anemia klinis atau perdarahan. Pada anemia absolut, RBC, HGB, dan / atau HCT menurun. Pada perdarahan kronis, jumlah RBC, HCT, dan HGB menurun sementara retikulosit serta MCV meningkat. Peningkatan *White blood cell* fisiologis terlihat dalam kaitannya dengan stres, eksitasi, ketakutan, olahraga, atau partus. Penyebab peningkatan nilai WBC patologis antara lain penyakit menular, keracunan endogen atau eksogen, kondisi endokrin, gangguan saraf pusat, syok anafilaksis, leukemia. Lingkungan yang buruk dapat menstimulasi sistem imun tubuh sebagai respon perlindungan, salah satunya dalam bentuk meningkatkan sel-sel pertahanan yaitu leukosit, sehingga memunculkan kondisi leukositosis pada sapi-sapi tersebut. Tingginya jumlah leukosit juga kemungkinan disebabkan oleh pola pemeliharaan yang buruk. Lingkungan yang buruk dapat menstimulasi sistem imun tubuh sebagai respon perlindungan, salah satunya dalam bentuk meningkatkan sel-sel pertahanan yaitu leukosit, sehingga memunculkan kondisi leukositosis pada sapi-sapi tersebut. Tingginya jumlah leukosit juga kemungkinan disebabkan oleh pola pemeliharaan yang buruk.

#### 6.3.2.2. Korelasi SNP Asam Amino dengan Hematologi dan Kimia darah

Hasil analisis SNP Asam Amino dengan Hematologi dan Kimia darah sebagaimana pada Tabel 5.8 menunjukkan terdapat korelasi yang signifikan antara SNP asam amino dengan profil hematologi yaitu WBC, sedangkan yang memiliki korelasi sangat signifikan yaitu RBC, HGB, dan HCT. Korelasi yang signifikan antara SNP asam amino dengan nilai kimia darah yaitu albumin. Tiga (3) fraksi utama protein dalam darah, yaitu albumin, globulin dan fibrinogen disintesis di

organ hati, sedangkan sisa globulin lainnya dibentuk di jaringan limfoid. Peningkatan konsentrasi albumin umumnya disebabkan oleh naik-turunnya volume darah. Penurunan konsentrasi albumin dalam darah tidak hanya disebabkan oleh penurunan sistesisnya, namun melibatkan proses multifaktor yang meliputi sintesis, kerusakan albumin, kebocoran ke ekstrasvaskuler dan asupan protein (Ballmer 2001). Berdasarkan penelitian Irfan *et al.* (2014) menyebutkan rerata konsentrasi albumin pada sub spesies *Bos indicus* berbeda nyata ( $p < 0,01$ ) bila dibandingkan dengan sub spesies *B taurus* maupun Frisien Holdstein. Sapi Brahman memiliki kadar albumin lebih tinggi dibandingkan sapi Ongole, Simmental, dan Limousin

### 6.3.3 Analisis *Multidimensional Scale* (MDS)

Berdasarkan peta tersebut terlihat bahwa sapi persilangan (Angus-PO/SpB) terpisah dengan kelompok sapi sampel lainnya. Sampel kelompok *purebred* sebagian besar cenderung berkelompok pada kuadran sisi positif dimensi-1 dan dimensi-2, sedangkan kelompok persilangan sebagian besar cenderung bergabung pada sisi positif dimensi-1 dan sisi negatif dimensi-2. Hasil pengukuran validitas analisis MDS menunjukkan bahwa nilai  $R^2$  atau *Goodness of Fit* di atas 60 % (0,6) sehingga layak untuk dilakukan analisis dengan representatif yang sangat baik, hal ini dapat terlihat dari hasil *Strees Value* sebesar 0,0497 lebih kecil dari 0,1. Kriteria nilai stress ditunjukkan pada Tabel 4.2, sedangkan untuk nilai  $R^2$  hasil MDS dinyatakan dapat diterima jika nilai  $R^2 > 0.6$  (Nafisah & Setiawan, 2019).

Konfigurasi kelompok yang terbentuk dari analisis MDS berdasarkan perubahan SNP nukleotida maupun SNP asam amino secara umum identik. Pembentukan peta MDS berdasarkan jarak *Euclidean* untuk menggambarkan



persamaan (*similarity*) dan ketidaksamaan (*dissimilarity*) antar objek pengamatan. Semakin kecil jarak *Euclidean* antar dua objek pengamatan, maka memiliki persamaan yang besar dan cenderung berkelompok (Rahim *et al.*, 2021). Komposisi anggota kelompok yang terbentuk pada peta MDS juga cenderung identik dengan komposisi anggota kelompok yang terdapat pada pohon filogeni (Kladogram). Hasil pembentukan komposisi kelompok pada kedua peta MDS yang relatif identik dengan pohon filogeni NJ dapat memperjelas gambaran hubungan kekerabatan antar sampel sapi *purebred* dan sapi persilangan pada level fenotipe. Salah satu kelebihan analisis MDS yaitu dapat menggambarkan hubungan antar taxa atau kelompok /objek pengamatan berdasarkan kombinasi beberapa karakteristik atau parameter yang tidak dapat diamati langsung (Koojiman *et al.*, 2021). Hal tersebut dapat terlihat pada beberapa karakteristik atau parameter hematologi dan kimia darah yang digunakan dalam analisis MDS pada penelitian ini.

#### **6.4 Kebaruan Penelitian (*Novelty*)**

Informasi tentang keragaman genetik ternak asli dan lokal di Indonesia telah banyak dilakukan dalam pengembangan strategi pemuliaan dan konservasi. Penelitian Prihandini *et al.* (2020) tentang keragaman genetik sapi Bali dan sapi lokal lainnya (Donggala, Madura, Sragen, Galekan, Rambon, and Peranakan Ongole Grade x Bali / POBA); Syabthar *et al.* (2013) meneliti mtDNA gen *cytochrome c oxidase I* (COI) dan gen SRY Y chromosome pada 5 spesies sapi Bos genus (*B. javanicus*, *Bos gaurus*, *Bos indicus*, *Bos taurus*, and *Bos grunniens*) ; Yurnalis dkk (2013) meneliti Polimorfisme Gen Hormon Pertumbuhan Pada Sapi

Pesisir Sumatera Barat; Wulandari dkk (2019) meneliti Filogeni Beberapa Sapi Lokal Indonesia Menggunakan DNA Mitokondria COI (*Cytochrome Oxidase Sub unit I*) melaporkan bahwa sapi pesisir dekat dengan sapi SO, sapi madura dan sapi pasundan tidak memiliki kekerabatan dengan sapi lokal Indonesia lainnya sehingga membentuk garis tersendiri dan sapi PO dekat dengan sapi bali ; penelitian Hidayati dkk (2016) tentang Pohon filogeni sapi Kuantan menggunakan DNA barcode, menyatakan bahwa berdasarkan garis keturunan induk asal usul sapi kuantan adalah dari *Bos indicus* sama seperti sapi pesisir.

Kebaruan penelitian ini antara lain :

1. Melakukan analisis keragaman genetik dan kekerabatan menggunakan gen COI (*Cytochrome Oxidase Sub unit I*) terhadap tiga belas (13) jenis sapi persilangan di Sulawesi Selatan dan tujuh (7) jenis sapi *purebred* yang belum pernah dilakukan penelitian sebelumnya.
2. Analisis kekerabatan terhadap tiga belas sapi persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap dan tujuh sapi *purebred* BBIB Singosari belum pernah dilakukan.
3. Analisis kemiripan (*similarity*) sapi persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap dan *purebred* BBIB Singosari berdasarkan konfigurasi kelompok dengan metode *Multidimensional Scaling* (MDS) belum pernah dilakukan.
4. Analisis korelasi antara keragaman genetik /SNP nukleotida dan asam amino sapi persilangan di Kabupaten Gowa dan Sidrap dan *purebred* BBIB Singosari dengan beberapa profil hematologi dan kimia darah sebagai indikator status kesehatan dan fisiologis belum pernah dilakukan.

### **6.5 Keterbatasan Penelitian**

Penelitian ini telah mendeteksi keragaman genetik sapi *purebred* dan sapi persilangan di Kabupaten Gowa dan Kabupaten Sidrap, dan mendapatkan informasi titik-titik mutasi yang dapat digunakan sebagai penanda genetik, namun belum dianalisis terkait gen dan protein lainnya yang terkait dengan laju pertumbuhan sapi, kualitas karkas atau ketahanan sapi terhadap penyakit tertentu. Beberapa hambatan yang dijumpai antara lain penanganan dan pengiriman sampel dari lapangan hingga di laboratorium.

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data keragaman genetik sapi *purebred* dan sapi persilangan di Kabupaten Gowa dan Kabupaten Sidrap Sulawesi Selatan, diperoleh kesimpulan berikut :

1. Sapi Persilangan (Angus-PO) dan sapi *purebred* Bali memiliki keragaman genetik tertinggi diantara sapi sampel lainnya, hal ini terlihat pada jumlah titik mutasi nukleotida serta asam amino, dan jumlah nukleotida spesifiknya tertinggi. Sapi persilangan (Simmental-Bali) memiliki jumlah *missense mutation* terbanyak diantara sapi sampel lainnya. Beberapa titik mutasi tersebut dapat dijadikan penanda genetik.
2. Hasil analisis kekerabatan sapi sampel membentuk tiga *cluster* utama (A,B,C) dan satu *cluster outgroup* (D). Sapi persilangan (Angus-PO) terpisah dari kelompok sapi lainnya (Cluster A). Lima (5) jenis sapi *purebred* milik BBIB singosari tergabung dalam cluster B dan memiliki kekerabatan paling dekat dengan *B. taurus*. Dua belas (12) jenis sapi persilangan tergabung dalam cluster C yang memiliki silsilah keturunan yang lebih dekat dengan sapi *Bos indicus* (Bali dan Ongole) daripada *Bos taurus*.
3. Analisis kemiripan (*similarity*) berdasarkan konfigurasi kelompok yang terbentuk dengan metode *Multidimensional Scaling* (MDS) menunjukkan hasil hampir sama dengan analisis kekerabatan / filogenetik yaitu sapi persilangan (Angus-PO) terpisah dengan kelompok sapi sampel lainnya. Sampel kelompok sapi *purebred* sebagian besar cenderung berkelompok pada kuadran sisi positif dimensi-1 dan dimensi-2,

sedangkan kelompok persilangan sebagian besar cenderung bergabung pada sisi positif dimensi-1 dan sisi negatif dimensi-2.

4. Profil hematologi dan kimia darah menunjukkan gambaran fisiologis sapi, yaitu sapi persilangan (Angus-PO) mempunyai nilai WBC, MCH, dan MCHC tertinggi dibandingkan dengan sapi persilangan lainnya, tetapi mempunyai nilai RBC terendah. Sapi persilangan Bali-Limousine-Madura mempunyai nilai RBC, HCT dan HGB tertinggi diantara sapi persilangan lainnya.
5. Terdapat korelasi SNP nukleotida dan asam amino dengan beberapa profil hematologi dan kimia darah sapi sampel yakni WBC, RBC, HGB, HCT, MCH, MCHC dan Albumin.

## **7.2 Saran**

Berdasarkan data dan informasi hasil penelitian, dapat disarankan beberapa hal :

1. Sapi persilangan Angus-PO, Simmental-Bali berpotensi dikembangkan karena memiliki performan genetik dan fenotip ideal alam mendukung peningkatan produktifitas sapi potong dengan tetap memperhatikan kelestarian sapi lokal (Bali) dan perbaikan manajemen pemeliharaan sapi, khususnya ketersediaan pakan.
2. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengetahui gen-gen spesifik sapi persilangan yang memiliki kualitas lebih baik misalnya tahan terhadap penyakit tertentu, kualitas dagingnya lebih baik dan berkorelasi secara ekonomis.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Adam, M, Lubis, T.M, Abdyad, B, Asmilia,N, Muttaqien, dan Fakhurrrazi. 2015, Jumlah Eritrosit Dan Nilai Hematokrit Sapi Aceh Dan Sapi Bali Di Kecamatan Leumbah Seulawah Kabupaten Aceh Besar,Jurnal Medika Veterinaria, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Addass PA, Midau A, Muktar YM, Mshelia ZB. 2012. Assessment of breed, age and body condition score on hematology, blood chemistry and fecal parasitic load of indigenous bulls in Adamawa State. Intern J of Agric Sci. 2:087- 089. ISSN: 2167-0447.
- Adili N, Melizi M, Belabbas H. Species determination using the red blood cells morphometry in domestic animals. *Vet World*. 2016;9(9):960-963. doi:10.14202/vetworld.2016.960-963.
- Agung, P.P, Ridwan M, Handrie, Indriawati, Saputra F, Suprptono, Erinaldi. 2014. Profil Morfologi dan Pendugaan Jarak Genetik Sapi Simmental Hasil Persilangan
- Agung, P.P, Saputra, F, Arifin. Z , Wulandari,A.S, Putra, B. , Said.S , dan Jakaria, J.2019. Genetic diversity of Indonesian cattle breeds based on microsatellite markers. Asian-Australas J Anim Sci Vol. 32, No. 4:467-476 April 2019 <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0283> pISSN 1011-2367 eISSN 1976-5517.
- Agustina, D.K. 2011. Budidaya Sapi Sonok di Kecamatan Waru. Pamekasan. Jurnal Ilmu Hayati Vol. 8 No. 08

- Alameen AO, Abdelatif AM. 2012. Metabolic and endocrine responses of crossbred dairy cows in relation to pregnancy and season under tropical conditions. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science*.12(8):1065-1074.
- Anwar, N. 2015, Pengaruh Status Istirahat Terhadap Profil Darah Sapi Bali Sebelum Pemoangan Di RPH Antang Makassar, Universitas Hasanudin, Makassar.
- Ahmadi-Hamedani M, Ghazvinian K, Kokhaei P, Barati M, Mahdavi A. 2014. Comparison of effects of age and sex on serum protein electrophoretic pattern in one-humped camels (*Camelus dromedarius*) in Semnan, Iran. *Open Vet J*. 4:4-8. ISSN: 2218-6050.
- Al-Fartosi, Kh.G., Talib, Y.J. and Ali, S.H. (2010) Comparative Study of Some Serum Biochemical Parameters of Cattle and Sheep of the Marshes in the South of Iraq. *AL-Qadisiya Journal of Veterinary Medicine Science*, 9, 78-84.
- Alfonsi E, Méheust E, Fuchs S, Carpentier FG, Quillivic Y, Viricel A, Hassani S, Jung JL. 2013. The use of DNA barcoding to monitor the marine mammal biodiversity along the French Atlantic coast. *ZooKeys* 365: 5-24. DOI: 10.3897/zookeys.365.5873.
- Ali, M dan Sodiq, 2016. Karakteristik Dan Korelasi Antara Ukuran Tubuh Sapi Madura Muda Di Pulau Madura. Universitas Brawijaya.

- Aprilianto, V. and Sembiring, L. (2016) Filogenetika molekuler; teori dan aplikasi. Yogyakarta: Innosain
- Ariningsih E. 2014. Kinerja kebijakan swasembada daging sapi nasional. Pusat Sosial Ekonomi dan Kebijakan Pertanian. Bogor.
- Arief IA, Khan HA. 2009. Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32: 9-17
- Asaad Y. Ayied and Bashar F. Zaqeer. 2018. Polymorphism of COI gene and its association with milk production and lamb's Growth before weaning of iraqi awassi sheep. *International journal of advance research*. Article DOI: 10.21474/IJAR01/8272
- Astuti P, Airin CM, Widiyanto S, Hana A, Maheshwari H, Sjahfirdi L. 2014. Fourier Transform Infrared as an Alternative Tool For Determining of Stress in Cow. *J Veteriner* 15(1): 57-63
- Awaluddin dan Panjaitan, T. 2010. Petunjuk Praktis Pengukuran Ternak Sapi Potong. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, NTB
- Ayadi O, Gharbi M, Benchikh-Elfegoun MC 2017. Haematological and biochemical indicators of tropical theileriosis diseased cattle in wilaya of Sétif (North East Algeria). *J Parasit Dis.*;41(2):538-542. doi:10.1007/s12639-016-0846-6
- Badan Pusat Statistik. 2014. Konsumsi kalori dan protein penduduk Indonesia dan Provinsi. BPS, Jakarta.
- Baiduri, A.A, Sumadi, Ngadiyono, N. 2012. Pendugaan Nilai Heritabilitas Ukuran Tubuh Pada Umur Sapih Dan Umur Setahun Sapi Bali di Balai Pembibitan



- Ternak Unggul Sapi Bali, Jembrana, Bali. Buletin Peternakan Vol. 36 (1) : 1-4, Februari 2012. ISSN 0126-4400.
- Bari, S. Rana, EA. Ahaduzzaman, M.D. Al Masud, A. Das, T dan Hasan, T. 2018. Hemato-biochemical parameters of Pesti-des Petits Ruminants (PPR) affected goats in Chittagong, Bangladesh. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research ISSN 2311-7710 (Electronic) <http://doi.org/10.5455/javar.2018.e270>
- Balke M, Schmidt S. 2012. Indonesian-German Network for Teaching, Training and Research Collaborations (IGN-TTRC) Training of Trainers and Students Module II: DNA barcoding course material Zoologische Staatssammlung Munich, Germany
- Bedenicki M, Potocnjak D, Harapin I, Radisic B, Samardzija M, Kreszinger M, Zubcic D, Djuricic D, Bedrica L. 2014. Haematological and biochemical parameters in the blood of an indigenous Croatian breed-Istrian cattle. Archives Animal Breeding. 57(1):1-7
- Bergallo M, Gambarino S, Loiacono E,. Evaluation of IFN-( polymorphism+874 T/A in patients with recurrent tonsillitis by PCR real time mismatch amplification mutation assay (MAMA real time PCR). Cytokine 2015;71:278–282
- Bingpeng, X., Heshan, L., Zhilan, Z., Chunguang, W., Yanguo, W., and Jianjun, W. (2018). DNA Barcoding for Identification of Fish Species in the Taiwan Strait. PLoS ONE, 13(6), 1-13.

- Bogenhagen DF. Mitochondrial DNA nucleoid structure. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1819:914–20.
- Bohme K, Calo-Mata P, Barros-Velazques J, Ortea I. 2019. Review of recent DNA-based methods for main food authentication topics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 67: 3854–3864
- BSN (Badan Standarisasi Nasional). 2016. SNI Bibit Sapi Potong Bagian 7: Sumba Ongole. SNI 7651.7:2016. ICS 65.020.30. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Budiari, N.L.G., I.M.R Yasa, dan I.P.A. Kertawirawan. 2014. Peningkatan produktivitas sapi Bali dara dengan pemanfaatan limbah jagung manis. *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan Nasional Berbasis Teknologi dan Sumberdaya Lokal*. Kerjasama LPPM dengan Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Jember. Jember 19 Agustus 2014. p. 54 – 58
- Bunga, M., Widi, A., & Pandarangga, P. 2019. Profil hematologi dan gambaran morfologi darah sapi bali (*Bos sondaicus*) yang dipelihara di tempat pembuangan akhir alak Kota Kupang. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 2(2), 72-84.
- Cai L, Ma H. 2016. Using nuclear genes to reconstruct angiosperm phylogeny at the species level: A case study with Brassicaceae species. *J Syst Evol* 54 (4) 438-452. DOI: 10.1111/jse.12204
- Casiraghi M, Labra M, Ferri E, Galimberti A, De Mattia F. 2010. DNA barcoding: a six-question tour to improve users' awareness about the method. *Brief Bioinform* 11(4): 440-453.

- Casiraghi, M. Labra, M. Ferri, E. Galimberti, A. Mattia, F. 2010. DNA Barcoding: theoretical aspects and practical applications. Tools for Identifying Biodiversity: Progress and Problems – pp. 269-273. ISBN 978-88-8303-295-0. EUT, 2010
- Chamdi AN. 2005. Karakteristik sumberdaya genetik ternak sapi bali (*Bos bibos banteng*) dan alternatif pola konservasinya. *Jurnal Biodiversitas*. 6(1):70–75
- Chao Z, Liao J, Liang Z, Huang S, Zhang L, Li J. 2014. Cytochrome C oxidase subunit I barcodes provide an efficient tool for *Jinqian Baihua She* (*Bungarus parvus*) authentication, *Pharmacogn Mag* 10(40):449-457. DOI: 10.4103/0973-1296.141816
- Chin Colli, R. D. C. 2016. Genetic parameters for growth and reproductive traits of brown swiss cattle from mexico. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 3(7), 11–20
- Chinchilla-Vargas J, Kramer LM, Tucker JD, Hubbell DS III, Powell JG, Lester TD, Backes EA, Anschutz K, Decker JE, Stalder KJ, Rothschild MF and Koltes JE (2020) Genetic Basis of Blood-Based Traits and Their Relationship With Performance and Environment in Beef Cattle at Weaning. *Front. Genet.* 11:717. doi: 10.3389/fgene.2020.00717.
- Chinnery PF, Hudson G. Mitochondrial genetics. *Br Med Bull.* 2013;106(1):135-159. doi:10.1093/bmb/ldt017.

- Choi, J. W., Lee, K. T., Liao, X., Stothard, P., An, H. S., Ahn, S., et al. (2013). Genome-wide copy number variation in Hanwoo, Black Angus, and Holstein cattle. *Mamm. Genome* 24, 151–163. doi: 10.1007/s00335-013-9449-z
- Chowdhury MM, Rahman AS MS, Nahar L, Rahman M, Al Reza H, Ahmed MS. 2016. Efficiency of different DNA extraction methods for fish tissues: A comparative analysis. *IOSR Journal of Pharmacy & Biologocal Science*. 11(3): 11-15.
- Chung, H. (2013). Phylogenetic analysis and characterization of mitochondrial DNA for Korean native cattle. *Open Journal of Genetics*. 3(1): 12-23
- Corkill, G. Rapley, R. 2008. *The Manipulation of Nucleic Acids: Basic Tools & Techiques in Molecular Biomethods Handbook Second Edition* Davendra, C. dan Mc Leroy. 1982. *Goat and Sheep Production in The Tropic*. Intermediate Tropic Series, Toppan, Singapore.
- Coyne J M, Evans R D and Berry D P. 2019. Dressing percentage and the differential between live weight and carcass weight in cattle are influenced by both genetic and non-genetic factors. *Journal of Animal Science* 97: 1501–1509.
- Daryanto A. 2009. *Dinamika Daya Saing Industri Peternakan*. Bogor (ID): IPB Press.
- Czerneková, V., T. Kott, G. Dudková, Z. Sztankóová, and J. Soldát. 2006. Genetic diversity between seven central European cattle breeds as revealed by microsatellite analysis. *Czech J. Anim. Sci.* 51:1-7.

- Dadi, H., M. Tibbo, Y. Takahashi, K. Nomura, H. Hanada, and T. Amano. 2008. Microsatellite analysis reveals high genetic diversity but low genetic structure in Ethiopian indigenous cattle populations. *Anim. Genet.* 39:425-431.
- Depison, 2010. Performan anak hasil persilangan induk sapi Bali dengan beberapa bangsa pejantan di Kabupaten Batanghari Provinsi Jambi. *Jurnal Agripet.* 10 (1) : 37-41.
- Depilson, H.A, Ediyanto. 2021. Karakteristik kuantitatif Sapi Bali dan Sapi Simbal (Simmental X Bali) di Kecamatan Renah Pamenang Kabupaten Merangin. *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis.* Maret 2021 hal 30—39.
- Dharyamanti, N.L.P.I “Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi. *Wartazoa*, 21(1), 1-10.
- Dharmawan, N.S, Mahardika, I.G, Suryani.N.N, Andini, N.P.M, Dewi,A.K.S. 2019. Biochemical dan Hematological Parameters of Weaning Baki Cattle Fedded With Leveled Protein Energy Ratios. *Jurnal Veteriner.* December 2019 Vol 20 No 4: 558-565
- Djikeng, A., S. Ommeh, S. Sangura, I. Njaci, and M. Ngara. 2012. Genomics and Potential Downstream Applications in the Developing World. Dalam: K.E. Nelson dan B. Jones-Nelson, editor, *Genomics Applications for the Developing World-Advances in Microbial Ecology.* Springer, USA. p. 335-356.

- Dwiyanto, K. dan A. Priyanti. 2008. Keberhasilan pemanfaatan sapi bali berbasis pakan lokal pengembangan usaha sapi potong di Indonesia. *Wartazoa* 18(1): 34–45.
- Diwyanto, K. 2008. Pemanfaatan sumberdaya lokal dan inovasi teknologi dalam mendukung pengembangan sapi potong di Indonesia. *Pengembangan Inovasi Pertanian* 1(3): 173 – 188.
- Dharyamanti, I.N.L.P. 2011. Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi. *Wartazoa* 1(21): 1-10.
- Diparayoga, I.M.G, Dwinata, I.M, Dharmawan, N.S. 2014. Total Eritrosit, Hemoglobin, *Pack Cell Volume*, dan Indeks Eritrosit Sapi Bali yang Terinfeksi *Cysticercus Bovis*, Indonesia Medicus Veterinus, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
- DGLS [Director General of Livestock Services]. 2003. National Report on Animal Genetic Resources Indonesia; A Strategic Policy Document. Director General of Livestock Services, Jakarta. [Indonesian]
- DGLS [Director General of Livestock Services]. 2010a. General Guidelines for Self-Sufficiency Beef Program in 2014. Director General of Livestock Services, Jakarta. [Indonesian]
- Directorate of Livestock Breeding and Production. Jenis Rumpun Sapi. [cited 2020 April 6]. Available from: <http://bibit.ditjenpkh.pertanian.go.id/jenis-rumpun/sapi>.
- Ditjennak. 2010. Blue Print Program Swasembada Daging Sapi Tahun 2014. Ditjen Peternakan dan Kesehatan Hewan. Jakarta.

- Doig K, Zhang B. 2017. A methodical approach to interpreting the red blood cell parameters of the complete blood count. *Clin Lab Sci* Jul;30(3):173-85.  
DOI:<https://doi.org/10.29074/ascls.30.3.173>
- Dudi dan Rahmat,D.2017. Karakteristik Fenotipik dan Sistem Produksi Sapi Pasundan Sebagai Dasar Penyusunan Program Pemuliaan Peternakan Rakyat di Jawa Barat, Seminar Nasional Biologi 2017 : 32-46.
- Dwitresnadi, R. Sulaeman,M, dan Arifin,J. 2015. Kinerja Usaha Pembibitan Sapi Potong Pasundan pada Pemeliharaan Sistem Ekstensif, *Students e-journals*. 4 (3): 1-11
- Erhardt, Weimann C.2007. Use Of Molecular Markers for Evaluation of Genetic Diversity and in Animal Production. *Arch. Latinoam. Prod. Anim. Vol. 15* (Supl. 1): 63-66
- Esa BY, Siraj SS, Daud SK, Rahin KAA, Jeffrine RRJ, Soon GT. 2008. Mitochondrial DNA diversity of *Tor tambroides Valenciennes* (Cyprinidae) from five natural populations in Malaysia. *Zoological Studies*, 47(3): 360-367.
- Fatchiyah, 2011. Modul Pelatihan Analisis Fingerprinting DNA Tanaman. Dengan Metode RAPD. Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya. Malang
- Firdausi, A. Susilowati, T. Nasich, M. Kuswati. 2012. Pertambahan Bobot Badan Harian Sapi Brahman Cross Pada Bobot Badan dan Frame Size Yang Berbeda. *J. Ternak Tropika* Vol 13 No 1, 48-62, 2012.

- Fitria, L, Sarto M. 2014. Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Jantan dan Betina Umur 4, 6, dan 8 Minggu, UGM, Yogyakarta
- Fourie, PJ., FWC. Naser, JJ. Olivier and C. Van Der Westhuesin. 2002. Relationship Between Production Performance, Visual Appraisal and Body Measurements of Young Dorper Rams. *South African Journal of Animal Science*. South Africa. 32: 4.
- Funk DJ, Futuyma DJ, Orti G, Meyer A. 1995. Mitochondrial DNA sequence and multiple data sets: A phylogenetic study of phytophagous beetles (*Chrysomelidae: Ophraella*). *Mol.Biol.Evol* 12: 627-640
- Frézal L, Leblois R. Four years of DNA barcoding: current advances and prospects. *Infect Genet Evol.* 2008 Sep;8(5):727-36. doi: 10.1016/j.meegid.2008.05.005. Epub 2008 Jun 3. PMID: 18573351.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3(5), 294-299
- Gao YS, Tu YJ, Lu JX, Zhang XY. 2011. Studies on the DNA barcoding of two newly discovered chicken breeds by mtDNA COI gene. *J Anim Vet Adv.* 10:1711-1713. doi: 10.3923/javaa.2011.1711.1713
- Gaikwad, A.W.2010. DNA Extraction comparison methodologies. *Hlm* 6.[http://www.npgr.ernet.in/portals/6/DMX/GENOMIC\\_resources](http://www.npgr.ernet.in/portals/6/DMX/GENOMIC_resources) DNA.



- Garcia I, Jones E, Ramos M, Innis-Whitehouse W, Gilkerson R. The little big genome: the organization of mitochondrial DNA. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2017;22:710-721. Published 2017 Jan 1. doi:10.2741/4511.
- Garrick, D.J. dan Ruvinsky, A.2015. The Genetic of Cattle 2<sup>nd</sup> Edition, CAB International. London.
- Gomes S, Castro C, Barrias S, 2018. Alternative SNP detection platforms, HRM and biosensors, for varietal identification in *Vitis vinifera* L. using F3H and LDOX genes. *Sci Rep*;8:5850.
- Gowda S, Desai PB, Hull VV, Math AAK, Vernekar SN, Kulkarni SS. 2009. A review on laboratory liver function tests. *Pan. Afr. Med. J.* 3(17): 1-11.
- Gunawan, A.K. Jamal, dan C. Sumantri. 2008. Pendugaan bobot badan melalui analisis morfometrik dengan pendekatan regresi terbaik Best Subset pada domba garut tipe pedaging, tangkas dan persilangannya. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 11(1):1-6.
- Hafez MH. 2019. Serum hormonal, metabolic and minerals profile in normal cyclic and postpartum anestrus Egyptian buffaloes. *AJVS* 60(2): 102-108. DOI: 10.5455/ajvs. 27345.
- Hajbabaie, M., J.R. deWaard, N.V. Ivanova. 2006. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proceedings of National Academy of Sciences, USA*. 103:968-971.

- Hamid, Fikri, Purnama. 2021. Peningkatan produktivitas sapi potong menggunakan Probiotik untuk ruminansia di desa Wongsorejo dan Gombengsari Kecamatan Wongsorejo, Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur. Jurnal Layanan Masyarakat (Journal of Public Service), vol 5 no 2 Tahun 2021, halaman 426-431 ISSN 2580-8680, e-ISSN 2722-239X.
- Handayani dan Setia. 2021. Konservasi Genetika Badak Sumatera Di Indonesia. <https://uia.e-journal.id/biosains/article>.
- Hao M, Qiao J, Qi H. 2020. Current and emerging methods for the synthesis of single-stranded DNA. *Genes* 11 (2): 1-15. DOI: 10.3390/genes11020116.
- Harjosubroto.1994. Aplikasi Pemuliabiakan Ternak di Lapangan. PT. Gramedia Widiasarana Indonesia, Jakarta
- Hartati, H., Y. T. Utsunomiya, T. S. Sonstegard, J. F. Garcia, J. Jakaria, and M. Muladno. 2015. Evidence of *Bos javanicus* x *Bos indicus* hybridization and major QTLs for birth weight in Indonesian Peranakan Ongole cattle. *BMC Genet.* 16:75
- Hartatik, T., Putra, W.B.P., Volkandari, S.D. and Sumadi. 2015. Polymorphism of mtDNA Cytochrome b gene of local cattle in Indonesia. *J-Sustain.*, 3 (1), 21 – 24.
- Hasanuddin dan Fitriana. 2014. Hubungan Kekerabatan Fenetik 12 Spesies Anggota Familia Asteraceae. *Jurnal EduBio Tropika.* Vol 2 (2): 187-250.
- Hassan MM, Hoque MA, Islam SKMA, Khan SA, Hossain MB, Banu Q. 2012. Efficiency of anthelmintics against parasitic infections and their treatment

- effect on production and blood indices in Black Bengal goats in Bangladesh. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 30(4): 400-408.
- Hasan S., Baba S. 2014. Model Pengembangan Sapi Potong Berbasis Peternakan Rakyat Dalam Mendukung Program Swasembada Daging Sapi Nasional. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Hastuti, I. 2007. Karakteristik exterior sapi betina hasil silangan antara Simmental dan Limousin dengan Sapi PO di Kabupaten Bantul. Skripsi Sarjana Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Herman N, Trumel C, Geffré A, 2018. Hematology reference intervals for adult cows in France using the Sysmex XT-2000iV analyzer. *J Vet Diagn Invest.* 2018;30(5):678-687. doi:10.1177/1040638718790310.
- Hebert, P.D.N., S. Ratnasingham, & J.R. de Waard. 2003. Barcoding animal life: Cytochrome C Oxidase Subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society B.* 270(1):S96-S99.
- Hickey, R. Mouli, S. Salem,R. 2016. Independent Analysis of Albumin-Bilirubin Grade in a 765-Patient Cohort Treated with Trans arterial Locoregional Theraphy for Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Vascular and Interventional Radiology : JVIR.* DOI:10.1016/j.jvir.2016.03.005 Corpus ID: 3004043
- Hidayati, R. Misrianti, A. Ali. 2016. Phylogenetic Tree of Kuantan Cattle by DNA Barcoding.

- Hikmawaty, A. Gunawan, R. R. Noor dan Jakaria. 2014. Identifikasi ukuran tubuh dan bentuk tubuh sapi bali di beberapa pusat pembibitan melalui pendekatan analisis komponen utama. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan* 2 (1): 231 – 237
- Hidayat T, Pancoro A (2006) Sistematika dan filogenetika molekuler. Kursus Singkat Aplikasi Perangkat Lunak PAUP dan MrBayes untuk Penelitian Filogenetika Molekuler. SITH. ITB
- Hikmawaty, A. Gunawan, R. R. Noor dan Jakaria. 2014. Identifikasi ukuran tubuh dan bentuk tubuh sapi bali di beberapa pusat pembibitan melalui pendekatan analisis komponen utama. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan* 2(1): 231 –237.
- Hikmawaty, B., A.T.B.A. Mahmud,dan A. Salam. 2018. Korelasi bobot badan dan variabel-variabel ukuran tubuh sebagai dasar seleksi calon induk sapi Bali. *Agrovital (Jurnal Ilmu Pertanian Universitas Al Asyariah Mandar)* 3(1):11-13
- Hoffman LK, Ghias MH, Cohen SR, Lowes MA. Polyclonal hyperglobulinaemia and elevated acute-phase reactants in hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol.* 2018;178:e134–e5.
- Huang, J. Liu Y, Zhu, T. Yang. 2021. The Asymptotic Behavior of Bootstrap Support Values in Molecular Phylogenetics. *Syst Biol* 70(4):774-785. DOI: 10.1093.

- Hubert N, Hanner R, Holm E, Mandrak NE, Taylor E, Burrige M, et al. (2008) Identifying Canadian Freshwater Fishes through DNA Barcodes. PLoS ONE 3(6): e2490. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002490>.
- Hulcr J, Miller SC, Darrow GPSK, Muller DN, Hebert PDN, Weiblen GD . 2007. DNA Barcoding Confirms Polyphagy in a Generalist Moth, *Hontona mermerodes* (Lepidoptera: Tortricidae)
- Ilda R.Sandria, 2019. Blood Glucose Value And Total Plasma Protein In Simpo Cattle That Suffer Trematodiasis In Smallholder Farmer Labuhan Ratu Village East Lampung. Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan Vol 3(2): 17-21, Agustus 2019.
- Ihedioha, J.I, Ugwuja, J.I, Noel-Uneke, O.A, Udeani, I.J, Daniel-Igwe, G. 2012. Reference Values for the Haematology Profile of Conventional Grade Outbred Albino Mice (*Mus musculus*) in Nsukka, Eastern Nigeria, ARI, Vol 9(2):1601-1612.
- Ilham, N., E. Basuno, W.K. Sejati, Ashari, S. Nuryanti, F.B.M. Dabukke, dan R. Elizabeth. 2011. Keragaan, Permasalahan dan Upaya Mendukung Akselerasi Program Swasembada Daging Sapi. Laporan Hasil Penelitian. Pusat Sosial Ekonomi dan Kebijakan Pertanian. Bogor.
- Irfan, IZ, Esfandiari, A, Cholic C. 2014. Profile of total protein, albumin, globulin and albumin globulin rasio in bulls. JITV 19(2): 123-129. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/jitv.v19i2.1040>

- Irshad, A. 2013. Factors Influencing Carcass Composition of Livestock: a Review. *Journal of Animal Production Advances*, 3(5), 177–186. DOI: <https://doi.org/10.5455/japa.20130531093231>
- Ismirandy. A. 2018. Laju pertumbuhan dan ukuran tubuh sapi bali lepas sapih yang diberi pakan konsentrat pada kategori bobot badan yang berbeda. Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Ito, M., and H. Hirooka. 2003. Relationships of serum vitamin A and total cholesterol concentrations with carcass traits in crossbreds between Japanese Black and Holstein. *Anim. Sci. J.* 74:43– 49.
- Jackson ML. 2007. *Veterinary Clinical Pathology: An Introduction*. Blackwell Publishing Iowa. hlm. 25:127.
- Jeong SM, Choi S, Kim K, 2018. Association of change in total cholesterol level with mortality: a population-based study. *PLoS One* 2018;13: e0196030
- Jian, Ying, Li, Min. 2021. A narrative review of single-nucleotide polymorphism detection methods and their application in studies of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bio-X Research* | DOI: 10.1097/JBR.0000000000000071
- Jimenez, D. E. (2014). A Prospective screening of gene copy number variation in Brazilian admixed population sample. *Bone Marrow Res.* 3, 1–5. doi: 10.4172/2161-1041.1000125

- John Kress, Kenneth J. Wurdack, Elizabeth A. Zimmer, Lee A. Weigt, Daniel H. Janzen. 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* Jun 2005, 102 (23) 8369-8374; DOI: 10.1073/pnas.0503123102
- Kaslow JE. 2010. *Analysis of Serum Protein*. Santa Ana : 720 North Tustin Avenue Suite 104, CA.
- Kathleen, L. M. dan Jenice L. R. 2017. *Krause's Food & The Nutrition Care Process*. Evolve Study Resources Free With Textbook Purchase : Evolve.Elsevier.com
- Kato Y., Ito M., and Hirooka H. Genetic parameters of serum vitamin A and total cholesterol concentrations and the genetic relationships with carcass traits in an F1 cross between Japanese Black sires and Holstein dams. *J. Anim. Sci.* 2011. 89:951–958 doi:10.2527/jas.2010-2872
- Kee, J.L.F., 2014. *Pedoman Pemeriksaan Laboratorium & Diagnostik*. Jakarta : Buku Kedokteran EGC
- Kesvulu, P. C., G. N. Rao, A. S. N. Ahmed, and B. R. Gupta. 2009. Molecular genetic characterization of Punganur cattle. *Indian J. Vet. Anim. Sci. Res.* 5:179-185
- Khairi F. 2016. Evaluasi produksi dan kualitas semen sapi Simmental terhadap tingkat bobot badan berbeda,. *Jurnal Peternakan*, 13(2), hal. 54-58.
- Kim S, Misra A. 2007. SNP genotyping: Technologies and biomedical applications. *Annu Rev Biomed Eng*;9:289–320

- Kim YM, Lee JA, Jung BG, Kim TH, Lee BJ, Suh GH. 2016. Reference ranges of hematology and lymphocyte subsets in healthy Korean native cattle (Hanwoo) and Holstein dairy cattle. *Anim Sci J.* Jun;87(6):796-801. doi: 10.1111/asj.12485.
- Kocu N, R Priyanto, Salundik dan Jakaria. 2019. Produktivitas sapi Bali betina dan hasil persilangannya dengan Limousin dan Simmental yang di pelihara berbasis pakan.
- Kooijman, Konstadia, L Augustine,S and Nina,M. 2021. *Multidimensional scaling for animal traits in the context of dynamic energy budget theory.* *Conserv Physiol* 9(1): coab086; doi:10.1093/conphys/coab086.
- Koopaei HK,Koshkoiyeh AE.2011. Application of genomic technologies to the improvement of meat quality in farm animals. *Biotechnology and Molecular Biology Review* Vol. 6(6):126-132
- Kundu A, Bag S, Ramaiah S, et al.: Leucine to proline substitution by SNP at position 197 in Caspase-9 gene expression leads to neuroblastoma: a bioinformatics analysis. *3 Biotech.* 2013; 3(3): 225–34.
- Kurnianto, E., S. Sutopo, E. Purbowati, E.T. Setiatin, D. Samsudewa, dan T. Permatasari. 2013. Multivariate analysis of morphological traits of local goats in Central Java,Indonesia. *Iranian Journal of Applied Animal Science.* 3 (2): 361–367.
- Kutsiyah, F. 2012b. Analisis pembibitan sapi potong di Pulau Madura. Volume 22 nomor 3. *Wartazoa.* 113-126. Kutsiyah, F. 2015. Sapi Sonok dan Karapan Sapi: Budaya Ekonomi Kreatif Masyarakat Madura. *Plantaxia*, Yogyakarta



- Lassen ED. 2004. Laboratory evaluation of plasma and serum protein. Di dalam: Thrall MA, editor. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins. Maryland. hlm. 401-402:405.
- Law, N. L., Hickson, R. E., Lopez-Villalobos, N., Kenyon, P. R., Morris, S. T. (2013). Efficiency of beef breeding cows that vary in live weight and milking potential. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 73, 11-16.
- Lelana, N.E., Sutarno dan Etikawati, N.2003. Identifikasi polimorfisme pada fragmen ND-5 DNA mitokondria sapi Benggala dan Madura dengan teknik PCR RFLP, *Biodiversitas* 4(1) : 1-6.
- LeBlanc, S.J., K.D. Lissemore, D.F. Kelton, T.F. Duffield, K.E. Leslie. 2006. Major Advances in Disease Prevention in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(4), 1267-1279. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72195-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72195-6)
- Leroy, G., Baumung, R., Boettcher, P., Scherf, B., & Hoffmann, I. (2016). Review : Sustainability of crossbreeding in developing countries; definitely not like crossing a meadow 262–273. <https://doi.org/10.1017/S175173111>.
- Lestari V., S. Sirajuddin, I. Saleh, K. Indah. 2020. Perilaku Peternak Sapi Potong terhadap Pelaksanaan Biosekuriti. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, pp. 263-71 <http://dx.doi.org/10.14334/Pros.Semnastpv-2019-p.251-259>
- Linda, Ramadhan A, Tureni D. 2014. Pengaruh ekstrak biji pala (*Myristica fragrans*) terhadap jumlah eritrosit dan leukosit pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *E-Jipbiol.*, 3: 1-8.

- Liu, R. Y., L. Chu-Zhao, and Y. Gong-She. 2006. The genetic diversity of mtDNA D-loop and origin of Chinese goats. *Acta Genet. Sinica*. 33:420-428. doi:10.1016/S0379-4172(06)60069-3.
- Liu P, He BX, Yang XL, Hou XL, Zhao HY, Han YH, Nie P, Deng HF, Cheng L. 2012. Activities of Aspartate Aminotransferase, Alanine Aminotransferase, Gamma Glutamyltransferase, Alkaline Phosphatase in Plasma of Postpartum Holstein Cows. *J. Anim. Vet. Adv.* 11(8): 1270-1274.
- Lokapirnasari, W.P., Sahidu A.M, Nurhajati, T., Supranianondo, K., Yulianto, A.B. 2017. Sekuensing 16S DNA Bakteri Selulolitik Asal Limbah Cairan Rumen Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Veteriner* 18(1); 76 – 82.
- Mahmudi, R.Priyanto, dan Jakaria. 2019. Karakteristik morfometrik Sapi Aceh, Sapi PO dan Sapi Bali berdasarkan Analisis Komponen Utama (AKU). *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan* 7(1): 35 –40.
- Makina, S. O., Muchadeyi, F. S., van Marle-Köster, E., Taylor, J. F., Makgahlela, M. L., and Maiwashe, A. (2015). Genome-wide scan for selection signatures in six cattle breeds in South Africa. *Gen. Sel. Evol.* 47:92. doi: 10.1186/s12711-015-0173-x
- Mamun MA, Hassan MM, Shaikat AH, Islam SKMA, Hoque MA, Uddin M, Hossain MB. 2013. Biochemical analysis of blood of native cattle in the Hilly Area of Bangladesh. *Bangl J Vet Med* 11(1): 51-56
- Manzoor, S., A. Nadeem, M. Javed, & M. E. Babar. 2013. Identification of single nucleotide polymorphism in 5'-UTR of CYP11B1 gene in Pakistani Sahiwal cattle. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering* 7: 995-997

- Maralit Maralit BA, Aguila RD, Ventolero MFH, Perez SKL, Willette DA, Santos MD. 2013. Detection of mislabeled commercial fishery by-products in the Philippines using DNA barcodes and its implications to food traceability and safety. *FoodControl*. 2013;33:119–125.doi: 10.1016/j.foodcont.2013.02.018.
- Maskur, R. Latifah, S, Pricilia, A. Walid, Ravanis, K. 2019. The 7E Learning Cycle Approach The Understand Thermal Phenomena. DOI: 10.15294/jpii.v8i4.20425. <http://journal.unnes.ac.id/index.php/jpii>
- Mattjik, A.A, Sumertajaya,I.M.2011. Sidik Peubah Ganda Dengan Menggunakan SAS. Bogor. IPB Press.
- Matukumalli LK, Lawley CT, Schnabel RD, Taylor JF, Allan MF, Heaton MP, O'Connell J, Moore SS, Smith TP, Sonstegard TS, Van Tassell CP. 2009. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PLoS*. 4(4):1–3. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005350>.
- Ma X, et al. Analysis of Hematological Traits in Polled Yak by Genome-Wide Association Studies Using Individual SNPs and Haplotypes. *Genes* 2019, 10, 463; doi:10.3390/genes10060463
- Mayulu, H., Sunarso, C.I. Sutrisno, dan Sumarsono. 2010. Kebijakan Pengembangan Peternakan Sapi Potong di Indonesia. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 29(1): 34-41.
- Meuwissen TH, Hayes BJ, Goddard ME. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetic journal*. 157(4): 1819-1829

- Meyer E, Nenke M, Rankin W, Lewis J, Torpy D. Corticosteroid-binding globulin: a review of basic and clinical advances. *Horm Metab Res.* 2016;48: 359 –71.
- Molefe K, Mwanza M. Serum biochemistry in cows of different breeds presented with reproductive conditions. *Onderstepoort J Vet Res.* 2019 Aug 29;86(1):e1-e7. doi: 10.4102/ojvr.v86i1.1742. PMID: 31478736; PMCID: PMC6739554.
- Moretti P, Probo M, Morandi N, Trevisi E, Ferrari A, Minuti A, Venturini M, Paltrinieri S, Giordano A. Early post-partum hematological changes in Holstein dairy cows with retained placenta. *Anim Reprod Sci.* 2015 Jan;152:17-25. doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.11.019. Epub 2014 Dec 8. PMID: 25515153
- Movahedin, M. R., C. Amirinia, A. Noshary, and S. A. Mirhadi. 2010. Detection of genetic variation in sample of Iranian proofed Holstein cattle by using microsatellite marker. *Afr. J. Biotechnol.* 9:9042-9045.
- Mueller RL. 2006. Evolutionary rates, divergence dates, and the performance of mitochondrial genes in Bayesian phylogenetic analysis. *Syst Biol.* 55:289-300. doi:10.1080/10635150500541672.
- Muin N, Sonjaya H, Garantjang, S. 2013. Identifikasi Keragaman Gen Hsp 70 Dikaitkan Daya Tahan Panas Pada Sapi Bali Dan Bali Persilangan. *J. Sains & Teknologi*, Desember 2013, Vol.13 No.3 : 283 – 290 ISSN 1411-4674.
- Murtidjo, B., 2012. *Beternak Sapi Potong*. Yogyakarta: Kanisius, Cetakan ke-20.

- Newman JH, Holt TN, Cogan JD, 2015. Increased prevalence of EPAS1 variant in cattle with high-altitude pulmonary hypertension. *Nat Commun.* 2015; 6: 6863.
- Ni'am, H.U.M., Purnomoadi, A. dan Dartosukarno, S. 2012. Hubungan Antara Ukuran-Ukuran Tubuh Dengan Bobot Badan Sapi Bali Betina Pada Berbagai Kelompok Umur. *Animal Agriculture Journal.* 1: 541 – 556.
- Noor, Hikmawati, Gunawan, 2014. Identifikasi Ukuran Tubuh Dan Bentuk Tubuh Sapi Bali Di Beberapa Pusat Pembibitan Melalui Pendekatan Analisis Komponen Utama. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan* ISSN 2303-2227, Vol. 02 No. 1, Januari 2014 Hlm: 231-237
- Nordenson, N. J. 2002. White Blood Cell Count and Differential. [http://www.Lifesteps.com/gm.Atoz/ency/white\\_blood\\_cell\\_count\\_and\\_differential.jsp](http://www.Lifesteps.com/gm.Atoz/ency/white_blood_cell_count_and_differential.jsp).
- Nozad S, Ramin AG, Moghadam G, Asri-Rezaei S, Babapour A, Ramin S. 2012. Relationship between blood urea, protein, creatinine, triglycerides and macro-mineral concentrations with the quality and quantity of milk in dairy holstein cows. *Vet Res For.* 3:55-59.
- Nugroho H. 2012. Productive Performances of PO cattle and its crosses at Small Holders Conditions at Different Altitudes of East Java. [PhD Dissertation]. Post Graduate Program in Animal Science. University of Brawijaya, Malang, Indonesia
- Paul D. N. Hebert, Alina Cywinska, Shelley L. Balland Jeremy R. deWaard. "Biological identifications through DNA barcodes". *Proceedings of the royal society*, 2010; 313 – 321.

- Pane, I. 2006. Produktivitas dan breeding sapi Bali. Proseding Seminar Nasional Sapi Bali. 2-3 September 1991. Fakultas Peternakan Universitas Hasanudin. Ujung Pandang
- Pannier L, Mullen M, Hamill RM, Stapleton PC, Sweeney T. 2010. Association analysis of single nucleotide polymorphisms in DGAT1, TG and FABP4 genes and intramuscular fat in crossbred *Bos taurus* cattle. *Meat Sci*, 85:515–8
- Permadi, A.G., Aryanto, R., 2011. Bobot badan dan ukuran tubuh sapi perah betina Fries Holland di wilayah kerja koperasi peternak garut selatan. *Buana Sains*, 11 (2): 163-170.
- Permana, R. Utama,I.H, Sulabda,I.N, 2021. Globulin Serum Level Of Bali Cattle (*Bos Sondaicus*) Post Transportation In Slaughterhouses Of Pesanggaran Denpasar Bali. *Indonesia Medicus Veterinus* November 2021 10(6): 887895 pISSN: 2301-7848; eISSN: 2477-6637 DOI: 10.19087/imv.2021.10.6.887 online pada <http://ojs.unud.ac.id/php.index/imv>
- Pertiwi, N.P.D, Mahardika I.G.n.k, Watiniasih, N. L. 2015. Optimasi amplifikasi DNA menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pada ikan karang anggota famili *pseudochromidae* (dottyback) untuk identifikasi spesies secara molekular. *Jurnal Biologi* 19 (2) : 1 – 5. ISSN : 1410-5292
- Persada, PA. Duryadi,D. Affandi. Ridwan. 2020. Karakterisasi genetik ikan Belida (*Chitala Lopis*) asal Pulau Sumatera dan Kalimantan berdasarkan gen COI. Scientific repository. IPB University.

- Petersen, J. L., J. R. Mickelson, E. G. Cothran, L. S. Andersson, J. Axelsson, E. Bailey and D. Bannasch. 2013. Genetic diversity in the modern horse illustrated from genome-wide snp data. *PloS One*. 8:e54997. doi:10.1371/journal.pone.0054997.
- Pierce, M.D, Dzama, K, Muchadeyi, F. 2018. Genetic Diversity of Seven Cattle Breeds Inferred Using Copy Number Variations. *Front. Genet., Sec. Livestock Genomics* <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00163>.
- Pinem, U. Hamdan & N.D Hanafi, 2015. Estimasi Jarak Genetik dan Faktor Peubah Pembeda Rumpun Kelinci melalui analisis morfometrik. *Jurnal Peternakan Integratif*. 2 (3) : 264-286.
- Pradana, W. 2022. Dua Bulan PMK di KBB: 500 Ekor Ternak Mati-Kerugian Capai Rp 17 M. *Detikjabar*. <https://www.detik.com/jabar/berita/d-6212873/>
- Prihandini, Primasari, Luthfi, Effendy, Pamungkas. 2020. Genetic Diversity of Mitochondrial DNA Cytochrome *b* in Indonesian Native and Local Cattle Populations *JITV* 25(2) : 39-47. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334>.
- Priyanto, D. 2011. Strategi Pengembangan Ternak Sapi dan Kerbau dalam mendukung PSDS Tahun 2014. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. Balai Penelitian Ternak, Bogor. 30(3):108- 116.
- Puppel, K dan Kuczynska, B. 2016. Metabolic profiles of cow's blood; a review. *Journal of Science of Food and Agriculture*. <http://doi.org/10.1002/jsfa.7779>.
- Purnama, Y. dan Cahyo, Y., 2010. *Pembesaran Sapi Secara Intensif*. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Purnomoadi A, W. Bela, S. Dartosukarno. 2003. Eating behavior of Ongole *crossbred* and Limousin *crossbred* steers fed fermented ricestraw and concentrate. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 8 (4): 276-280
- Putra, W.P.B, Hartatik,T. Sumadi and Saumar, H. 2014. Accuracy of hearth girth for predicting
- Porter TM, Hajibabaei M. Over 2.5 million COI sequences in GenBank and growing. *PLoS One*. 2018;13(9):e0200177. Published 2018 Sep 7. doi:10.1371/journal.pone.0200177
- Rachma Sri AB, H Harada and Ishida. 2011. The estimation of growth curve of Bali cattle at bone and barru districts, South Sulawesi, Indonesia using ten body measurements. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 36(4), hal. 228-236. doi: 10.14710/jitaa.36.4.228-236.
- Rahayu, D.A. & Nugroho, E.D., 2015, *Biologi molekuler dalam perspektif konservasi*, Plantaxia, Yogyakarta.
- Rahayu, D.A dan Jannah, M. 2019. *DNA barcode Hewan dan Tumbuhan Indonesia*. Yayasan Inspirasi Ide Berdaya ISBN: 9786239162306 DOI: 10.17605/OSF.IO/TY7E5.
- Ratnasingham S.Hebert P.D.N.: 2007. BOLD: the Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Mol. Ecol. Notes*7: 355–364.
- Rianto, Endang. 2009 *Panduan Lengkap Sapi Potong*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Ribak MP (2010) *Assessing the phylogenetic utility of DNA barcoding using the New Zealand Cicada Genus Kikihia*. Thesis. The University of Connecticut.



- Ribeca, C. Bonfatti, V. Cecchinato, A. Albera, A. 2013. Effect of polymorphisms in candidate genes on carcass and meat quality traits in double muscled Piemontese cattle. *Journal of Meat Science* 96 (3): 1376-1383. DOI 10.1016/J.meatsci.2013.11.028.
- Rivera, J. and Currie, D.C. (2009), Identification of Nearctic black flies using DNA barcodes (Diptera: Simuliidae). *Molecular Ecology Resources*, 9: 224-236. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02648.x>
- Rennstam Rubbmark O, Sint D, Horngacher N, Traugott M. A broadly applicable COI primer pair and an efficient single-tube amplicon library preparation protocol for metabarcoding. *Ecol Evol.* 2018;8(24):12335-12350. Published 2018 Dec 11. doi:10.1002/ece3.4520
- Rock J, Costa FO, Walker JD, North WA, Hutchinson FW, Carvalho RG (2008) DNA barcodes of fish of the Scotia Sea, Antarctica indicates priority groups for taxonomic and systematics focus. *Antarctic Science* 20 (3): 253-262
- Rodrigues MS, Morelli KA, Jansen AM. Cytochrome c oxidase subunit 1 gene as a DNA barcode for discriminating *Trypanosoma cruzi* DTUs and closely related species. *Parasit Vectors.* 2017;10(1):488. Published 2017 Oct 16. doi:10.1186/s13071-017-2457-1.
- Roe, A.D. and Sperling, F.A.H. (2007). Patterns of evolution of mitochondrial cytochrome c oxidase I and II DNA and implications for DNA barcoding. *Mol. Phylogen. Evol.*, 44: 325-345.
- Roland L, Drillich M and Iwersen M. 2014. Hematology As A Diagnostic Tool in Bovine Medicine. . Vol.26 (5) 592-598.

- Rubinoff, D. 2006. Utility of mitochondrial DNA barcodes in species conservation. *Conserv Biol* 20:1026–1033
- Rusfidra, A. 2007. Quo Vadis Sapi Pesisir. <https://bunghatta.ac.id/artikel-126-quo-vadis-sapi-pesisir.html>. Diakses 2 November 2017
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighborjoining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406-425.
- Saleky dan Dailami. 2021. Konservasi genetik ikan kakap putih (*Lates colenifer*, Bloch 1790) melalui pendekatan DNA barcoding dan analisis filogenetik di Sungai Kumbe Merauke Papua. *Jurnal Kelautan Tropis*. Jilid 24. Terbitan 2. Hal 141-150.
- Salman, H. Al-Hadithy, A. Mahmood M.M. 2013. The Hematological Parameters and Serum Protein Values in Tuberculin Reactor and Non Reactor Dairy Cattle. *Al-Anbar J. Vet. Sci.*, Vol.: 6 No. (1), 2013. ISSN: 1999-6527
- Sambrook, J. & D.W. Russell. 2001. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. 3rd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Saravanan, P. Iqbal, Z. Selvaraj, D.P.R. Aparna, M. Umaphathi, V. 2020. Comparison of chemical extraction methods for determination of 146S content in foot-and-mouth disease oil-adjuvanted vaccine. *Journal of Applied Microbiology*. <http://doi.org/10.1111/jan.14465>.
- Sari, E.M. 2011. Keragaman Genetik Gen Hormon Pertumbuhan (Gh) Dan Hubungannya Dengan Kualitas Karkas Pada Sapi Aceh. Disertasi. Sekolah Pascasarjana IPB Bogor.

- Sari, D. P. (2018). Perbedaan Jumlah Leukosit Darah EDTA Diperiksa Segera Dan Ditunda 2 Jam. *Klinikal Sains: Jurnal Analisis Kesehatan*, 6(2), 30–36.
- Saputra F, Jakaria, Sumantri C. 2013. Genetic variation of mtDNA cytochrome oxidase sub unit I (COI) in local swamp buffaloes in Indonesia. *Media Peternakan*. 36:165-170 doi:10.5398/medpet.2013.36. 3.165.
- Saputra, DA., Maskur, M, Rozi, T. 2019. Karakteristik Morfometrik (Ukuran Linier dan Lingkar Tubuh) Sapi Bali Yang Dipelihara Secara Semi Intensif Di Kabupaten Sumbawa. *Indonesian Journal of Animal Science and Technology* Vol 5 No 2 (2019). DOI: <https://doi.org/10.29303/jitpi.v5i1.53>
- Sato M, Sato K. Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. *Biochimica et biophysica acta*. 2013;1833(8):1979–1984.
- Savić, M., Aleksić, S., Živković, D. (2013). Breeds of Choice in Organic Production System. 10th International Symposium, 1205.
- Scott AS dan Elizabeth F. 2009. *Body Structure and Function Eleventh Edition*. United States of America : Delmar.
- Setiyono, AHA Kusuma dan Rusman. 2017. Pengaruh bangsa, umur, jenis kelamin terhadap kualitas daging sapi potong di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Buletin Peternakan*, 41(2), hal. 176–186. doi: 10.21059/bulletin peternak.v41i2.9935.

- Setyawan, S, I.R. Hidayat, dan D Yulistiani. 2016. Ketersediaan hasil samping tanaman tebu di Provinsi Jawa Barat dalam mendukung ketersediaan pakan ternak ruminansia. Prosiding Seminar Nasional dan Ekspose Inovasi Teknologi BPTP Jawa Tengah “Penyediaan Inovasi dan Strategi Pendampingan untuk Pencapaian Swasembada Pangan” Kabupaten Semarang. p. 1051 -1058.
- Sesuri, 2012. Pemeriksaan Fungsi Hati, online,[http://sesuri.blogspot.com/2012/11/pemeriksaan-fungsi-hati\\_287.html](http://sesuri.blogspot.com/2012/11/pemeriksaan-fungsi-hati_287.html).
- Shabthar S.M, Rosli, M.K, Mohd-Zin N,Romano S.M., Fazly-Ann Z.A Mahani, M.C, Abas-Mazni O, Zainuddin R,Yaakop S, Md-Zain B. M. 2013. The molecular phylogenetic signature of Bali cattle revealed by maternal and paternal markers. *Mol Biol Rep* (2013) 40:5165-5176.
- Sharma A, Pal A, Arjava, T. K. Bhattacharya, P. N. Chatterjee, and A. K. Chakravarty. 2011. Molecular characterization and SNP detection of CD 14 gene of crossbred cattle. Research article. *Molecular Biology International* Volume 2011, Article ID 507346, 13 pages doi:10.4061/2011/507346
- Sharma, P and Lobayashi, T. 2014. Are “universal” DNA primers really universal?. *J Appl Genetics* DOI 10.1007/s13353-014-0218-9.
- Sharma, R., A. Kishore., M. Mukesh, S. Ahlawat, A.K. Pandey, & M.S. Tantia. 2015. Genetic diversity and relationship of indian cattle inferred from microsatellite and mitochondrial DNA markers. *J .BMS Genetics* 16(73):1-12.

- Shettar, M. Nalini, T, Anjan Kumar Shettar, M.; Nalini, T. S.; Anjan Kumar, K. R.; Ravikumar, P. & Azeemulla, H. R. 2011. Hematological and biochemical studies in tuberculin test positive reactors. 2(4): 16-22
- Siddappa CM, Saini M, Das A, Doreswamy R, Sharma AK, Gupta PK. Sequence Characterization of Mitochondrial 12S rRNA Gene in Mouse Deer (*Moschiola indica*) for PCR-RFLP Based Species Identification. *Mol Biol Int.* 2013;2013:783925. doi:10.1155/2013/783925
- Simamora, Bilson. 2005. *Analisis Multivariate Pemasaran*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Siswanto, Sulabda I.N, Soma I.G. 2014, Kerapuhan Sel Darah Merah Sapi Bali, Laboratorium Fisiologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Bali.
- Siti, B. Kresno. 2001. Diagnosis imunologi and prosedur pengujian Laboratorium edisi IV. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal 4-5
- Subandiyah, S. 2006. Polymerase Chain Reaction untuk Deteksi atau Identifikasi Patogen Tumbuhan. Beberapa Metode Ekstraksi DNA. Pelatihan dan Workshop Identifikasi DNA dengan Aplikasi PCR. Malang. hlm. 43-50
- Sudrajad, P., A. Prasetyo, dan Subiharta. 2018. Identifikasi Potensi Genetik Sapi Bali Bernilai Ekonomi Tinggi Melalui Analisis Asosiasi Berbasis Total Genom. Laporan Akhir Kegiatan INSINAS (Tahun Ke-1). Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Tengah, Semarang.

- Sudrajad. P, Volkandari D.S, Cahyadi. M, Prasetyo. A, Komalawati, Wibowo. S, Subiharta. 2021. Pemanfaatan informasi genom untuk eksplorasi struktur genetik dan asosiasinya dengan performan ternak di Indonesia *Livest. Anim. Res.* 19(1): 1-12
- Suharto, K., Indrarosa, D., Andajani, PT. 2015. *Buku Pintar Peternakan. Jilid II. Media Nusantara Creative. Malang.*
- Sodiq dan Ali, M. (2016). *Karakteristik Dan Korelasi Antara Ukuran Tubuh Sapi Madura Muda Di Pulau Madura. Universitas Brawijaya.*
- Sodiq A, Suwarno, Fauziyah FR, Wakhidati YN, Yuwono P. 2017. Sistem produksi peternakan sapi potong di pedesaan dan strategi pengembangannya. *Agripet.* 17(1):60-66.
- Souza HV, Marchesin SR, Itoyama MM. Analysis of the mitochondrial COI gene and its informative potential for evolutionary inferences in the families Coreidae and Pentatomidae (Heteroptera). *Genet Mol Res.* 2016 Feb 5;15(1). doi: 10.4238/gmr.15017428. PMID: 26909963.
- Stockham, S.L. and Scott, M.A. (2008) *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology.* 2nd Edition, Blackwell Publishing, Ames, 61-64.
- Suastika, P. Agustina, KK. Susari, NYW. 2020. Molecular analysis of Taro and Bali cattle using cytochrome oxidase sub unit I (COI) in Indonesia. *Biodiversitas.* Volume 22, Number 1, January 2021. Pages 165-172. DOI:10.13057/biodiv/d220122
- Sudrajat S. 2003. *Operasionalisasi Program Terobosan menuju kecukupan daging sapi tahun 2005. Jurnal analisis kebijakan pertanian (AKP) Vol 1 (1).*

- Sudarmono A.S. dan Sugeng Y.B. 2008. Edisi Revisi Sapi Potong. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sudarmono dan Sugeng. 2009. Sapi Potong (edisi revisi). Penebar Swadaya. Jakarta.
- Suh, S., Y.-S. Kim, C.-Y. Cho, M.-J. Byun, S.-B. Choi, Y.-G. Ko, C. W. Lee, K.-S. Jung, K. H. Bae, and J.-H. Kim. 2014. Assessment of genetic diversity, relationships and structure among Korean native cattle breeds using microsatellite markers. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 27:1548-1553.
- Sulis, Priyanto. R, Sumantri. C, Jakaria. J, 2020. Polimorfisme g.-371T>A Promotor Gen Miostatin pada Sapi Pedaging Indonesia. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, April 20. ISSN 0853-4217.
- Supriyantono, Iyai, Ollong. 2020. Peningkatan Produktivitas Sapi Potong Melalui Introduksi Pakan Konsentrat Dengan Bahan Lokal Pada Masyarakat Asli Papua. *Jurnal Pengabdian Masyarakat*, Oktober 2020, hal. 21 – 29.
- Sunaryo W, 2012. Review: Aplikasi DNA barcoding untuk analisis keragaman genetik lai-durian (*Durio zibethinus* x *kutejensis*) asal Kalimantan Timur. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indonesia*. Volume 1, Nomor 6, September 2015.
- Suriana, Jamili, Parakassi. 2018. Karakteristik Gen Sitokrom C Oksidase Sub Unit I (CO1) Lebah Liar Apis cerena (Hymenoptera: apidae) Asal Pulau Hoga Sulawesi Tenggara. *Jurnal Vet* Vol 19. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2018.19.1.116>.

- Suriana, Marwansyah, dan Amirullah. (2019). Karakteristik Segmen Gen Sitokrom C Oksidase Subunit I (COI) Ngengat Plusia chalcites (Lepidoptera: Noctuidae). *BioWallacea : Jurnal Penelitian Biologi (Journal of Biological Research)*, 6(2), 985-994.
- Susanti, I., M. Nur Ihsan dan Sri Wahjuningsih. 2015. Pengaruh bangsa pejantan terhadap pertumbuhan pedet hasil IB di wilayah Kecamatan Bantur Kabupaten Malang. *J. Ternak Tropika* Vol. 16, No.1: 41-47, 2015.
- Sutrisno H, Zein MSA, Sulandari S. 2013. DNA barcode. In: Zein MSA, Prawiradilaga DM, editors. *DNA barcode fauna Indonesia*. Jakarta
- Suryana. 2009. Pengembangan Usaha Ternak Sapi Potong Berorientasi Agribisnis dengan Pola Kemitraan. *Jurnal Litbang Pertanian*, 28(1), hal. 29-37.
- Sutarno, Setyawan AD. Review: Genetic diversity of local and exotic cattle and their crossbreeding impact on the quality of Indonesian cattle. *Biodiversitas* 2015;16:327-54.
- Sutrisno, H., Zein, MS., Sulandari, S. 2013. DNA barcode, Dalam: Zein, MS & Prawiradilaga, DM. (Eds). *DNA barcode fauna Indonesia*. Kencana, Prenadamedia Group.
- Suyadi S, Hakim L, S. Wahjuningsih, H. Nugroho. 2014. Reproductive performance of Peranakan Ongole (PO) and Limousin x PO Crossbred (Limpo) cattle at different altitude areas in East Java, Indonesia. *J Appl Sci Agric* 9 (11): 81-85



- Syaiful FL, Khasrad dan S Maulida. 2020. Identifikasi ukuran tubuh sapi Bali dan simbal (Simmental-Bali) di kecamatan Luhak Nan Duo Kabupaten Pasaman Barat. *Jurnal sains peternakan*, 15(2), hal. doi:10.31186/jspi.id.15.2.219-226
- Syam, J., A.L.Tolleng dan Umar. 2016. Pengaruh pemberian pakan konsentrat dan Urea Molasses Blok (UMB) terhadap hematokrit sapi potong. *Jurnal Ilmu dan Industri Perternakan*. 2(3) : 1-6
- Syamsul, F. dan D. Ruhyadi. 2012. *Bisnis Penggemukan Sapi*. PT Agromedia pustaka. Jakarta
- Thomas, V. M. 1991. *Beef Cattle Production*. Wafel and Press. Montana University. USA
- Syed, D.G., Agasar, D. and Pandey, A. 2009. Production and Partial Purification of Amylase from a Novel Isolate *Streptomyces gulbargensis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36, 189-194. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0484-9>
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipki, A., Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30(12): 2725-2729.
- Tamura, K., Stecher, G., Kumar, S. 2021. MEGA 11. Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version. *Mol Biol E*.vol2021 Jun 25;38(7):3022-3027.doi: 10.1093/molbev/msab120.

- Tawaf, R. dan S. Kuswaryan. 2006. Kendala kecukupan daging 2010. hlm. 173–185. Dalam B. Suryanto, Isbandi, B.S. Mulayatno, B. Sukanto, E. Rianto, dan A.M. Legowo (Ed.). Pemberdayaan Masyarakat Peternakan di Bidang Agribisnis untuk Mendukung Ketahanan Pangan. Prosiding Seminar Nasional 2006, Semarang. Universitas Diponegoro.
- Timorria, F.I. 2022. Kebutuhan Impor Daging Sapi 2022 Capai 266.000 Ton. *Bisnis.Com*.
- Toda S, Murai T. 2007. Phylogenetic analysis based on mitochondrial COI gene sequences in Thripstabaci Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in relation to reproductive forms and geographic distribution *Appl. Entomol. Zool.* 42: 309–316
- Ubaidillah, R & Sutrisno, H. 2012. Pengantar Bisosistemika: Teori dan Praktek. LIPI Press.
- Urbinati, Stafuzza, Oliveira, Chud, Higa, Regitano, Alencar, Buzanskas dan Munari. 2016. Selection signatures in Canchim beef cattle. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 7:29 DOI 10.1186/s40104-016-0089-5.
- Valdez-Moreno M, Ivanova NV, Elias-Gutierrez M, Contreras-Balderas S, Hebert PDN (2009) Probing diversity in freshwater fishes from Mexico and Guatemala with DNA barcodes. *Journal of Fisheries Biology* 74: 377–402.
- Verdillo, JCM, JV Lazaro, NS Abes and CN Mingala. 2012. Comparative virulence of three Trypanosoma evansi isolates from water buffaloes in the Philippines. *Exp. Par.* 130 : 130–134

- Virgilio M, Jordaens K, Breman FC, Backeljau T, De Meyer M (2012) Identifying Insects with Incomplete DNA Barcode Libraries, African Fruit Flies (Diptera: Tephritidae) as a Test Case. PLoS ONE 7(2): e31581.<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031581>
- Volkandari,S.D, Nadila, A, Radiastuti, N, Margawati, E.T. Genetic Polymorphism of Calpastatin (CAST) Gene in Pasundan Cattle. Bulletin of Animal Science. Vol 42, No 4 (2018).
- Wahyu,D. 2018. Pergeseran sapi lokal oleh performans sapi persilangan. Dinas Peternakan Propinsi Jawa Timur.
- Ward RD, Zemplak TS, Innes B, Last, P. 2005. DNA Barcoding Australia's Fish Species. Philosophical Transactions of the Royal Society 360: 1847-185
- Ward RD. 2009. DNA barcode divergence among species and genera of birds and fishes. Mol Ecol Res 9 (4): 1077-1085.
- Watanabe, D., M. Abe, H. Saito, M. Inagaki, S. Abe, M. Uematsu, S. Endo, T. Hirano, and Y. Sugimoto. 2003. Genetic statistical analysis of carcass traits and serum total cholesterol of Japanese Black beef cattle entered in the meat fairs in Yamagata prefecture. Jpn. J. Large Anim. Clin. 26:2–8.
- Watanabe, S. M., dan M. F. Goodman. "Pada dasar molekuler mutasi transisi: frekuensi pembentukan 2-aminopurine. sitosin dan adenin. cytosine base mispairs in vitro. "Prosiding National Academy of Sciences di Amerika Serikat. U. S. Perpustakaan Nasional Kedokteran, Mei 1981. Web. 14 Mar. 2017.

- Wijaya, Tony dan Santi Budiman. 2016. *Analisis multivariate untuk penelitian manajemen*. Bantul. Pohon Cahaya.
- Wisesa, dkk. 2012. Analisis sekuens d-loop dna mitokondria sapi bali dan banteng dibandingkan dengan bangsa sapi lain di dunia. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(2) : 281 - 292 ISSN : 2301-7848
- Wiyatna MF, Gurnadi E, Mudikdjo K. 2012. Productivity of Peranakan Ongole cattle on the community husbandry in Sumedang District. *Jurnal Ilmu Peternakan* 12 (2): 22-25. [Indonesian]
- Wilson JJ. 2010. Assessing the value of DNA barcodes and other priority gene regions for molecular phylogenetics of Lepidoptera. *PLoS One*. 5:e10525. doi:10.1371/journal.pone.0010525.
- Wulandari A, Nurgartiningih V.M. A, Kuswati, Susilori T.O , Agung P.P. 2019. Filogeni Beberapa Sapi Lokal Indonesia Menggunakan DNA Mitokondria COI (*Cytochrome Oxidase Sub unit I*)
- Wong, E. H. K.; Hanner, R. H. DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. *Food Res. Int.* 2008, 41 (8), 828-837.
- Wares, J. P. & Cunningham, C. W. 2001 Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. *Evolution* 12, 2455–2469
- Webb JM, Sun L, McCafferty WP, Ferris VR (2007) A new species and new synonym in *Heptagenia* Walsh (Ephemeroptera: Heptageniidae: Heptageniinae) based on molecular and morphological evidence. *Journal of Insect Science* 7: 63.

- Widi, T. S. M. (2015). *Mapping the impact of crossbreeding in smallholder cattle systems in Indonesia*. Wageningen University and Research Centre. Retrieved from <http://edepot.wur.nl/345219>
- Xia X, Lemey P (2009) Assessing substitution saturation with DAMBE. In: Lemey P, Salemi M, Vandamme A-M (eds) *The phylogenetic handbook: a practical approach to DNA and protein phylogeny*. 2nd edition Cambridge University Press
- Xu Y, Zhang S, Wang H, Wang M, Li G. Mitochondrial Gene Sequence (*COI*) Reveals the Genetic Structure and Demographic History of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Erebidae: Lymantriinae) in and around China. *Insects*. 2019;10(5):146. Published 2019 May 22. doi:10.3390/insects10050146.
- Yuliani, Y., Yuniaty, A., dan Susanto, A.H. (2017). Variasi Sekuens DNA yang Diamplifikasi Menggunakan Primer Atpb-Rbcl pada Beberapa Kultivar Kacang Tanah. *Scripta Biologica*, 4(1), 11-14.
- Yu-Shi, G. Xiu-Jun, T. Jun-Xian, Xiaoyan, Z. 2011. Studies on the DNA barcoding of two newly discovered chicken breeds by mtDNA COI gene. *Biology. China Animal Husbandary and Veterinary Medicine*.
- Yan C, Duanmu X, Zeng L, Liu B, Song Z. 2019. Mitochondrial DNA: Distribution, Mutations, and Elimination. *Cells*.;8(4):379. Published 2019 Apr 25. doi:10.3390/cells8040379
- Yang Y, Wandler AM, Postletwait JH, Guillemin K: Dynamic evolution of the LPS-detoxifying enzyme intestinal alkaline phosphatase in zebrafish and other vertebrates. *Front Immunol* 2012, 3:314.

- YanSen. C, Liang Z, FuJun S., WenPing. Z, Rong. H, BiSong Y, Jing L. ZhiHe. Z. 2010. DNA barcoding of 18 species of Bovidae. Article. Biology Molecular. Chinese Science. doi: 10.1007/s11434-010-4302-1.
- Yasa, I.M.R., A.A.N.B. Kamandalu, I.N. Adijaya, S. Guntoro, P.A. Kertawirawan, I.P. Sugiarta, J Rinaldi, P. Anggoro, P. Sudiantara Cipta, dan P.Y. Priningsih. 2013. Model penggemukan sapi Bali berkelanjutan di daerah sentra pengembangan sayuran. Studi Kasus Kecamatan Baturiti, Kabupaten Tabanan, Bali. Laporan Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Bali, Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian. p. 36.
- Yuliani, D, U. Utina, dan S. Ratnawati. 2016. Sistem integrasi padi ternak untuk mewujudkan kedaulatan pangan. Prosiding Seminar Nasional Pertanian Lahan Kering “Inovasi Pertanian Lahan Kering untuk Mewujudkan Swasembada Pangan dan Daya Saing Produk Pertanian“, Kupang, 5 Nopember 2015. Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, bekerjasama dengan Universitas Nusa Cendana 2016. p. 309 – 322.
- Yulianto, P, Saparinto, C 2014. Beternak Sapi Limosin. Penebar Swadaya.
- Zeng,L., Cao,L., Wu,Z, Huang.M, Zhang. G, Lei.C and Zhao. Y, A. 2019. Missense Mutation of the HSPB7 Gene Associated with Heat Tolerance in Chinese Indicine Cattle. Animals communication.

- Zhang C. Y., Wang F. Y., Yan H. F., Hao G., Hu C. M., Ge X. J. (2012). Testing DNA barcoding in closely related groups of *Lysimachia* L. (Myrsinaceae). *Mol. Ecol. Resour.* 12, 98–108. 10.1111/j.1755-0998.2011.03076.x.
- Zhou, G.L., H.G. Liu, C. Liu, S.L. Guo, Q. Zhu, Y.H. Wu 2005. Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows. *J Biosci.*30::595-598
- Zubaidah S,. 2013. Manajemen Agribisnis Peternakan. Fakultas Pertanian Universitas Almuslim. Aceh.

**Lampiran 1 : Data Pemilik dan Performan Sapi Sampel**

## I. Data Pemilik Sapi Persilangan di Kabupaten Sidrap

No	Jenis Sapi Persilangan	Nama Pemilik	Alamat
1	Sp1 : Limousine × Bali	Bpk. Daru	Desa Bulo
2	Sp2 : Simmental × Bali	La Conde	Desa Bulo
3	Sp5 : Bali × Limousine × Limousine	La Conde	Desa Bulo
4	Sp6 : Bali × Limousine × Brahman	Samad	Desa Bulo
5	Sp7 : Bali × Brahman	Samad	Desa Bulo
6	Sp8 : Bali × Limousine × Madura	Samad	Desa Bulo
7	Sp9 : Bali × Brahman × Simmental	Asong	Desa Bulo
8	Sp10 : Bali × Madura	Asong	Desa Bulo
9	Sp11: Bali × Simmental × Limousine	Asong	Desa Bulo

## II. Data Pemilik Sapi Persilangan di Kabupaten Gowa

No	Jenis Sapi Persilangan	Nama Pemilik	Alamat
1	SpA : Limousine × PO	Rumah Sapi	Desa Bontonompo
2	SpB : Angus × PO	Rumah Sapi	Desa Bontonompo
3	SpE : Brahman × PO	Rumah Sapi	Desa Bontonompo
4	SpF : Simmental × PO	Rumah Sapi	Desa Bontonompo

III. Identitas Sapi *Purebred* BBIB Singosari

No	Nama Sapi	Bangsa	Kode Bull	Asal	Kode sampel
1	Sally-djo	Ongole	21538	Indonesia	S1
2	Tanjung	Bali	11289	Indonesia	S2
3	Wulf	Limousine	816124	Australia	S3
4	Konang	Madura	161536	Indonesia	S4
5	Madeira	Angus	171623	Australia	S5
6	Mr. Manso	Brahman	41868	Indonesia	S6
7	Mansoon	Simmental	61689	Australia	S7



IV. Foto Sapi persilangan Kabupaten Sidrap



Sp1 : Limousine × Bali



Sp2 : Simmental × Bali



Sp5 : Bali × Limousine × Limousine



Sp6 : Bali × Limousine × Brahman



Sp7 : Bali × Brahman



Sp8 : Bali × Limousine × Madura



Sp9 : Bali × Brahman × Simmental



Sp10 : Bali × Madura



Sp11: Bali × Simmental × Limousine

#### V. Foto Sapi Persilangan Kabupaten Gowa



SpA : Limousine × PO



SpB : Angus × PO



Sp E : Brahman × PO

VI. Foto Sapi *Purebred* BBIB Singosari



S1 Ongole



S2. Bali



S3. Limousine



S4. Madura



S5. Angus



S6. Brahman



S7. Simmental

Lampiran 2 : Standar SNI Pengukuran Kuantitatif Ukuran Tubuh Sapi PO dan Bali jantan umur diatas 36 bulan (Klas I,II,dan II)

<b>No</b>	<b>Jenis Sapi</b>	<b>LD(cm)</b>	<b>PB(cm)</b>	<b>TB(cm)</b>
<b>1</b>	PO			
	I	175	139	133
	II	160	133	130
	III	149	129	127
<b>2</b>	Bali			
	I	189	132	127
	II	173	125	121
	III	167	118	115

(SNI, 2013 dan 2015)

**Lampiran 3 : Pengukuran konsentrasi DNA Sapi *Purebred* dan Persilangan**

No	Sample ID	Konsentrasi Nukleotida	Unit	A260	A280	260/280	260/230
1	spA	419.7	ng/μl	8.394	4.657	1.8	1.88
2	spB	431.4	ng/μl	8.627	4.776	1.81	1.86
3	spF	570.6	ng/μl	11.411	6.357	1.8	1.91
4	spE	418.4	ng/μl	8.368	4.65	1.8	1.86
5	sp1	438.4	ng/μl	8.767	4.884	1.8	1.75
6	sp2	437.9	ng/μl	8.758	4.845	1.81	1.88
7	sp5	484.5	ng/μl	9.69	5.369	1.8	1.91
8	sp6	444.1	ng/μl	8.882	4.933	1.8	1.81
9	sp7	398	ng/μl	7.96	4.428	1.8	1.84
10	sp8	587.7	ng/μl	11.754	7.196	1.63	1.74
11	sp9	764.6	ng/μl	15.293	8.502	1.8	1.81
12	sp10	471	ng/μl	9.419	5.237	1.8	1.86
13	sp11	372.6	ng/μl	7.452	4.15	1.8	1.84
14	Ongole	473.6	ng/μl	9.471	5.238	1.81	1.89
15	Bali	479.2	ng/μl	9.584	5.283	1.81	1.91
16	Limousine	461.6	ng/μl	9.232	5.052	1.83	1.96
17	Madura	412.6	ng/μl	8.252	4.544	1.82	1.9
18	Angus	450.9	ng/μl	9.019	4.941	1.83	1.95
19	Brahman	484.2	ng/μl	9.683	5.33	1.82	1.69
20	Simmental	488.4	ng/μl	9.767	5.367	1.82	1.89

**Lampiran 4 : Komposisi Nukleotida Sampel Sapi *Purebred* dan Persilangan**

Sampel	T(U) (%)	C (%)	A (%)	G (%)	Total
HQ860420.1 Bos taurus	27,48	28,40	27,48	16,64	655
HM102289.1 Bos taurus	26,76	28,48	27,70	17,06	639
reference S1 ONGOLE	29,33	26,54	27,27	16,86	682
reference S2 BALI	28,95	27,18	26,88	16,99	677
reference S3 LIM	28,18	27,88	27,30	16,64	685
reference S4 MADURA	28,91	27,30	27,15	16,64	685
reference S5 ANGUS	28,32	27,74	27,15	16,79	685
reference S6 BRAHMAN	28,47	27,74	27,15	16,64	685
reference S7 SIM	28,32	27,59	27,45	16,64	685
SP8	28,45	25,86	27,30	18,39	696
SpA	29,40	26,35	27,37	16,89	687
SpE	28,65	26,65	27,94	16,76	698
Sp10	28,51	26,90	27,34	17,25	684
Sp11	28,76	27,15	27,30	16,79	685
SpF	29,30	26,38	27,41	16,91	686
SpB	31,56	23,28	28,61	16,55	713
Sp1	28,70	27,22	26,48	17,60	676
Sp2	29,93	25,84	27,30	16,93	685
Sp5	29,86	26,11	26,67	17,36	720
Sp6	29,17	25,14	28,61	17,08	720
Sp7	28,92	26,89	27,03	17,15	688
Sp9	28,59	27,00	27,29	17,13	689
Rata-Rata	28,86	26,78	27,38	16,99	686,59

**Lampiran 5 : Keragaman SNP Nukleotida dan Mutasi Asinonim Sapi *Purebred* dan persilangan**

No	SNP	JENIS SAPI / PUREBREED						
		S1 (Posisi basa ke-)	S2 (Posisi basa ke-)	S3	S4 (basa ke	S5	S6 (basa)	S7 Basa
1	C > T	10 titik 312,370,505,544 590,609,627,636 660,681	19 titik 228,312,370,373,455, 505,508,513,518,521 ,538544,590,593,609, 627,636, 660,681 Mutasi asinonim : 11 a. 455 (S>L); 505 (S>L); 636 (S>L); 681 (S>L) b. 508 (T>I), 538 (T>I), 660 (T>I) c. 521 (P>L), 544 (P>L), 627 (P>L) d. 609 (S>F)	-	4 titik 174,288 678 711	-	-	1 (11)
2	T > C	3 titik 372, 413,572	12 titik 240,243,294,332,372,41 3,423,458,548,709,712, 730 Mutasi asinonim : 5 413 (L>P); 458 (F>S); 423 (I>T); 709 (L>P) 712 (F>S)	1(196)	1 (718)	-	-	-
3	A > G	6 titik 448,452,473,557 641,691 Mutasi asinonim 691 (Q>R)	9 titik 109,336,448,452,473,55 7,570,641,700 Mutasi asinonim : 5 452 (Q>R); 473 (E>G) 557 (Y>C); 641 (Y>C) 700 (E>G)	-	1 (204)	-	-	-
4	G > A	4 titik 606,642,687,693	6 titik (384, 568 606,642,656,687) Mutasi asinonim : 3 606 (R>H); 642(C>Y), 687 (R>Q)	-	1 (546)	-	-	-
5	C > A	5 (95, 673 690,317,323)	2 titik 317, 323	-	-	-	-	-
6	A > C	2 titik (383, 598)	3 titik (383,598,641) Mutasi asinonim : 1 598 (Y>S)	-	-	-	-	-
7	A > T	1 titik (455)	4 titik 300,455,715,732 Mutasi asinonim : 3 455 (E>V) 715 (Y>L); 732 (Y>F)	-	1 (420) Mutasi asinonim 420 (*>L)	-	1 (7)	1 (7)
8	G > C	1 titik (514)	1 titik (514) Mutasi asinonim 1/ S>T	-	-	-	-	-
9	T > A	-	2 titik (40, 716)	-	-	-	-	1 (12)
10	- > T	2 titik (100, 546) Mutasi asinonim:1 546 (->L)	2 titik (39,141)	-	-	-	-	-
11	- > A	-	1 titik (110)	-	-	-	-	-
12	- > C	3 titik (99,378,689)	-	-	-	-	-	-
13	- > G	1 titik (404)	1 titik (404)	-	-	-	-	-
	<b>Total SNP</b>	<b>38 titik Mutasi asinonim = 2</b>	<b>62 titik Mutasi asinonim = 29</b>	<b>1</b>	<b>8</b> Mutasi asinonim= 1	<b>-</b>	<b>1</b>	<b>3</b>
Keterangan : * asam amino tidak spesifik		S1 : Ongole	S2 : Bali	S3 : Limousine	S4 : Madura			
		S5 : Angus	S6 : Brahman	S7 : Simmental				



## Keragaman SNP Nukleotida dan Mutasi Asinonim Sapi Persilangan Kabupaten Gowa

No	SNP	SpA (Posisi basa ke-)	SpB (Posisi basa ke-)	SpE (Posisi basa ke-)	SpF (Posisi basa ke-)
1	C > T	23 titik 88,128,147,174,207 213,228,312,370,373 441,481,485,500,503 516,539,590,593,627, 636,665,692	28 titik 128,168,171,174,213,226,261 303,310,312, 429,436,445 ,476,485, 500,503,558,585 ,482,588,594,602, 627,654 673,681,708	17 titik 83,128,147,174,228 ,436,476,485,500,503, 539,578,585,604,622, 631,660	19 titik 83,128,174,207,2 28,312,370,373,4 76,485,500,503,5 16,585,609,622,6 31,639,665
2	T > C	12 titik 23,50,240,243,294, 372, 407,418, 428,463, 543, 577. Mutasi asinonim: 1 407 (M>T)	10 titik 62,224,294,308,311, 314,440,614,629,718	13 titik 23,50,98,240,243, 294,413,423,458,543, 709,712,718	11 titik 23,243,294,372, 413,423,458,543, 572, 714,717
3	A > G	5 titik 453,457,552 ,570,646	8 titik 109,178,407,410,417, 473,519,552	8 titik 107,184,442,448, 452,473,565,641	5 titik 448,452,552,676, 705
4	G > A	5 titik 363,505,606, 642,661	8 titik (105,106,138,160,405, 409,522,610)	10 titik 101,105,108,363,550 552,601,637,656,687	6 titik 26,37,601,637, 661,692
5	C > A	2 titik 317, 323	7 titik (125, 317 406, 479, 538, 539, 557)	2 titik 311,323	2 titik 317,323
6	A > C	1 titik 597	7 titik (107,306 ,507,587,590593, 645)	1 titik 593	1 titik 593
7	A > T	2 titik 300, 460	10 titik 255,309,498,555,565, 612,641,663,670,671 Mutasi asinonim :2 612 (Y>L); 641 Y>F	2 titik 300, 455	3 titik 36,300,455
8	T > A	2 titik 206, 221	10 titik 78,210,223,237,488 583,586,592,607,709	3 titik 40,201,221	1 titik 206
9	C > G	-	3 titik 28, 61, 622 Mutasi asinonim : 1 622 (P>R)	-	-
10	T > G	1 titik 60	5 titik 59,221,556,595,613	1 titik 60	1 titik 60
11	G > T	-	4 titik 222,318,418,625	-	1 titik 405
12	G > C	1 titik 509	1 titik 411	1 titik (509)	1 titik 509
13	C > -	1 titik 369	8 titik 101,102,403,562, 577,608,624,703	1 titik 369	-
14	->A	-	7 titik 110,103,541,598, 630,644,704	5 titik 101,102,104 124,130	-
15	->T	1 titik 39	4 titik 63,79,217,218	6 titik 38,39,99,103, 123,141	-
16	->C	1 titik 378	7 titik 225,316,404,559, 560,627,705	2 titik 129, 378	1 titik 378
17	->G	-	-	2 titik 100, 110	2 titik 39,404
	total	<b>57</b> Mutasi asinonim : 1 titik	<b>127</b> Mutasi asinonim : 3 titik	<b>44</b>	<b>55</b>

Keterangan : SpA = Limousine-PO SpB = Angus-PO SpE = Brahman-PO SpF = Simmental -PO

## Keragaman SNP Nukleotida dan Mutasi Asinonim Sapi Persilangan Kabupaten Sidrap

No	SNP	Sp1 (Posisi basa ke-)	Sp2 (Posisi basa ke-)	Sp5 (Posisi basa ke-)	Sp6 (Posisi basa ke-)
1	C > T	15 titik 174,190,228,312,370 373,476,485,500,585 588,604,622,631,660	25 titik 83,174,190,213,228, 262,312,370,373,436, 476,479,485,500,503, 516,539,581,585,588, 604,622,631,660,681 Mutasi asinonim : a. 479,485,500,631, 681 (S>L) b. 503, 660 (T>I) c. 476,516,539,622 (P>L) d. 604 (S>F)	17 titik 174,207,228,370,373 ,436,471,500,516, 539,585,596,604,605 ,631,660,724 Mutasi asinonim : a. 436 (S>F) b. 476,516 (P>L) c. 500, 596 (S>L)	22 titik 102,174,228,288, 356,369,373,436, 461,485,500,533, 540,558,585,588 604,622,631,639 660,678 Mutasi asinonim a. 461,622 (P>L) b. 485,500,631,678 (S>L) c. 533 (T>I) d. 604 (S>F)
2	T > C	11 titik 240,243,284,372,413, 423,458,572,642,709, 712	13 titik 23,50,240,243,294, 372,413,423,458,572, 642,709,718 Mutasi asinonim 458 (F>S)	10 titik 240,243,294,372,413 ,423,458,572,595, 607 Mutasi asinonim a. 413 (L>P) b. 423 (I>T) c. 458 (F>S) d. 572 (L>S)	5 Titik 294,372,441,571, 680
3	A > G	11 titik 92,109,204,336,396, 448,452,473,552,641, 700	5 titik 452,473,552,641, 700 Mutasi asinonim 452 (Q>R), 473 (E>G) 552, 641 (Y>C)	11 titik 92,109,184,204,396 448,452,473,552,641 700 Mutasi asinonim a. 452 (Q>R) b. 473 (C>G) c. 552,641 (Y>C)	5 titik 448,473,552,641, 702 Mutasi asinonim a. 473 (E>G) b. 641 (Y>C)
4	G > A	3 titik 601,656,687	5 titik 550,601,637,656, 687 Mutasi asinonim 601 (R>H) 637 (C>Y) 687 (R>Q)	6 titik 108,209,384,550,601 ,637	2 titik 550, 637 Mutasi asinonim 637 (C>Y)
5	A > C	3 titik 300,383,593	2 titik (593, 723) Mutasi asinonim 593 (Y>S)	2 titik 383,721	3 titik 391,535,593
6	C > A	2 titik (317, 323)	3 titik (317,323, 724)	3 titik (317,323,672)	7 titik 323,386,393,479, 482, 503,538 Mutasi asinonim a. 482 (T>N) b. 503 (T>K)
7	T > A	-	1 titik (716)	1 titik (206)	6 titik 210,224,273,496, 564,599
8	T > G	1 titik (139)	-	2 titik (40,139)	2 titik (20, 240)
9	G > T	1 titik (405)	-	2 titik (138,405)	1 titik (682)
10	A > T	1 titik 455	3 titik 455,715,727 Mutasi asinonim 455 (E>V)	4 titik 455,593,656,727 Mutasi asinonim a. 455 (E>V) b. 593 (Y>F)	3 titik 565,570,645
11	G > C	-	1 titik 509 ( S>T)	2 titik (91, 509)	3 titik (21,101,687) Mutasi asinonim 681 (R>P)
12	C > G	-	-	1 titik (386)	2 titik (168,681)
13	G > -	3 titik (91,108,138)	-	-	-

No	SNP	Sp1 (Posisi basa ke-)	Sp2 (Posisi basa ke-)	Sp5 (Posisi basa ke-)	6 (Posisi basa ke-)
14	T > -	1 titik (40)	-	-	
15	C > -	1 titik (369)	1 titik (369)	-	
16	- > T	3 titik (39,141,378)	1 titik (378)	9 titik 39,141,378,598,608, 617,623,638,675	9 titik 29,333,377,395, 561,562,576,598, 674
17	- > A	3 titik (94,110,703)	-	9 titik 94,110,134,225,365, 388,395,649,674	8 titik 388,432,449,560, 575,644,651,704
18	- > G	1 titik (404)	1 titik (689)	5 titik 389,404,609,624,630	9 titik 100,199,200,355, 365,577,650,689, 703
19	- > C	-	-	3 titik (377,387,597)	7 titik 345,387,416,514,559, 649,675
	<b>Total</b>	<b>60</b>	<b>61</b> Mutasi asinonim=21	<b>87</b> Mutasi asinonim=12	<b>94</b> Mutasi asinonim=14

No	SNP	Sp7 (Posisi basa ke-)	Sp8 (Posisi basa ke-)	Sp9 (Posisi basa ke-)	Sp10 (Posisi basa ke-)
1	C > T	12 titik 83,174,213,228,312, 370,485,500,585,604, 622,631	18 titik 83,174,207,228,282, 288,312,325,424,436, 482,485,500,596,604, 622,631,681 Mutasi asinonim 681 (S>L)	18 titik 83,147,174,228,312, 370,373,436,476,485, 500,585,588,604, 622,631,639,660	16 titik 83,174,207,213, 228,291,312,370, 482,485,500,512, 585,604,622,631
2	T > C	10 titik 23,240,243,294,372, 402,413,458,572,642	9 titik 23,243,294,372,423, 572,592,642,709	12 titik 23,50,240,243,294, 372,413,423,458,572, 712,718	11 titik 23,240,243,294, 372,402,413,458, 572,642,712
3	A > G	8 titik 41,452,552,584,612, 641,670,700	9 titik 41,201,204,216,396, 455,473,641,700 Mutasi asinonim 641 (Y > C)	12 titik 41,107,109,181,184, 204,448,452,473,552, 641,700	7 titik 41,336,396,452,55 2,641,700
4	G > A	6 titik 37,42,563,601,637	4 titik 32, 601, 687,698	11 titik 26,37,42,105,108, 363,550,601,637,656, 687	5 titik 37,601,637,656, 687
5	A > C	1 titik (593)	1 titik (593)	2 titik (383,593)	-
6	C > A	2 titik (317,323)	1 titik (213)	2 titik (317,323)	2 titik (317,323)
7	A > T	3 titik (36,300,455)	1 titik (92)	3 titik (36,300,455)	1 titik (455)
8	T > A	1 titik (40)	5 titik 40,249,266,270,273	3 titik 40,206,221	1 titik (40)
9	T > G	1 titik (60)	2 titik (240,364)	1 titik (60)	1 titik (60)
10	C > G	-	1 titik (30)	-	-
11	G > C	-	-	1 titik (509)	-
11	G > T	1 titik (405)	-	-	-
12	- > G	2 titik (38,94)	3 titik (79,218,689)	2 titik (38,703)	1 titik (38)
13	- > C	-	2 titik (29,225)	3 titik (52,378,705)	1 titik (705)
14	- > T	3 titik (39,378,705)	3 titik (39,63,177)	1 titik (39)	2 titik (39,378)
15	- > A	-	4 titik 94,217,638,703	1 titik (110)	
16	C > -	1 titik (369)	-	1 titik (369)	1 titik (369)
17	T > -	-	-	-	1 titik (709)
18	A > -	-	-	-	1 titik (36)
19	G > -	-	-	-	1 titik (42)
	<b>Total</b>	<b>51</b>	<b>63</b> Mutasi asinonim=2	<b>73</b>	<b>52</b>

No	SNP	Sp11 (Posisi basa ke-)
1	C > T	15 titik 83,174,190,213,227,312,485,500,585,588,604,622, 631,660,706
2	T > C	10 titik 23,240,243,294,413,423,458,572,642,718
3	A > G	6 titik (396,448,452,552,641,70
4	G > A	6 titik (26, 601,656,687,709,712)
5	T > A	1 titik (40)
6	A > T	1 titik (455)
7	T > G	1 titik (60)
8	G > C	1 titik (509)
9	A > C	1 titik (593)
10	C > A	2 titik (317, 323)
11	-> T	1 titik (39)
	<b>total</b>	<b>45</b>

**Lampiran 6. Nukleotida spesifik sapi *purebred* dan persilangan.**

No	Jenis sapi	Nukleotida spesifik	Posisi basa ke	No	Jenis Sapi	N spesifik	Posisi basa ke	
<b>1</b>	Ongole	C > A	95,688	<b>7</b>	Sp2	C>T	579	
		-> T	539			A>C	720	
		->C	687			C>A	737	
		<b>8</b>		G>A	691	Sp5	A>C	718
				A>G	689		C>T	721,603
							->G	763
							T>C	593
							T>C	605
							C>A	670
							G>C	91
		G>T	138					
		->A	225					
<b>2</b>	Bali	T>C	332,722	<b>9</b>	Sp7	->G	94	
		C>T	511			A>G	582,610,668	
		->C	738			->T	702	
<b>3</b>	Limousine	T>C	196	<b>10</b>	SpE	->T	38	
						T>C	98	
						G>A	101	
						A>G	442	
						C>T	578	
<b>4</b>	Madura	G>A	544	<b>11</b>	Sp10	C>T	210, 510	
		A>T	420					
<b>5</b>	Simmental	T>A	12	<b>12</b>	SpF	->G	39	
<b>6</b>	Sp1	T>C	12	<b>13</b>	Sp8	C>G	30	
						G>A	32	
						A>G	201,216	
						T>G	223,364	
						T>A	249,266,270	
						C>T	282,325,424	
						T>C	590	
						->G	762	
<b>14</b>	Sp6	->T	19	<b>15</b>	SpB (102)	G>A	9 titik	
		->C	539			C>G	3 titik	
		->A	702			T>G	4 titik	
		T>G	20			T>C	9 titik	
		G>C	21,101			T>A	11 titik	
		C>T	102,461,538, 676			C>T	26 titik	
		C>G	118,168			C>A	5 titik	
		A>C	119,533			A>C	6 titik	
		T>C	122,441,569, 675,678			A>G	5 titik	
		T>A	224,494,562 597			G>T	5 titik	
		A>T	568,643			A>T	12 titik	
		G>T	680			G>C	1 titik	
						->C	3 titik	
						->A	5 titik	

Lampiran 7. Jarak Genetik dan Hematologi Sapi Sampel *Purebred* dan Persilangan

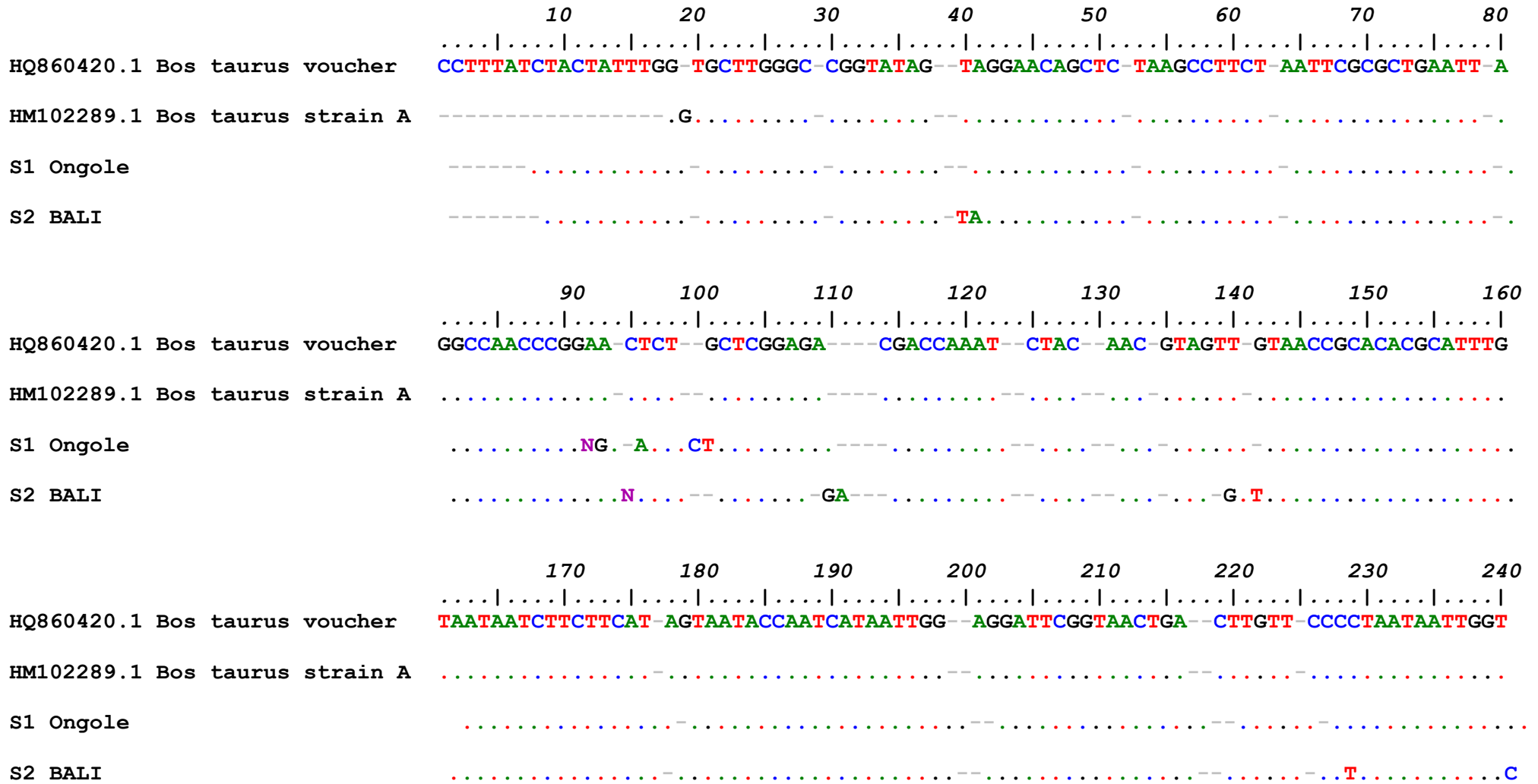
Jarak Genetik

No	Sampel Sapi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1	HQ860420.1 Bos taurus																						
2	HM102289.1 Bos tauru	0,000																					
3	reference_S1_LONGOLF	0,055	0,055																				
4	reference_S2_BALI	0,095	0,095	0,060																			
5	reference_S3_LIM	0,002	0,002	0,057	0,097																		
6	reference_S4_MADURA	0,013	0,013	0,068	0,110	0,015																	
7	reference_S5_ANGUS	0,000	0,000	0,055	0,095	0,002	0,013																
8	reference_S6_BRAHMAN	0,000	0,000	0,055	0,095	0,002	0,013	0,000															
9	reference_S7_SIM	0,000	0,000	0,055	0,095	0,002	0,013	0,000	0,000														
10	SP8	0,090	0,090	0,098	0,121	0,091	0,093	0,090	0,090	0,090													
11	SpA	0,105	0,105	0,070	0,055	0,107	0,113	0,105	0,105	0,105	0,106												
12	SpE	0,113	0,113	0,084	0,070	0,115	0,117	0,113	0,113	0,113	0,119	0,030											
13	Sp10	0,077	0,077	0,064	0,071	0,079	0,084	0,077	0,077	0,074	0,055	0,073											
14	Sp11	0,086	0,086	0,063	0,055	0,088	0,086	0,086	0,086	0,086	0,091	0,040	0,054	0,031									
15	SpF	0,090	0,090	0,062	0,052	0,092	0,097	0,090	0,090	0,090	0,098	0,026	0,040	0,045	0,040								
16	SpB	0,248	0,248	0,269	0,296	0,250	0,253	0,248	0,248	0,248	0,288	0,289	0,297	0,282	0,287	0,289							
17	Sp1	0,081	0,081	0,054	0,041	0,082	0,088	0,081	0,081	0,081	0,089	0,050	0,064	0,040	0,024	0,043	0,277						
18	Sp2	0,109	0,109	0,073	0,055	0,111	0,112	0,109	0,109	0,109	0,106	0,040	0,057	0,059	0,036	0,046	0,291	0,048					
19	Sp5	0,101	0,101	0,075	0,068	0,103	0,108	0,101	0,101	0,101	0,115	0,062	0,077	0,079	0,070	0,062	0,306	0,050	0,071				
20	Sp6	0,126	0,126	0,129	0,129	0,128	0,134	0,126	0,126	0,126	0,139	0,137	0,143	0,138	0,134	0,132	0,299	0,124	0,139	0,155			
21	Sp7	0,077	0,077	0,064	0,068	0,079	0,084	0,077	0,077	0,077	0,085	0,048	0,066	0,023	0,038	0,042	0,282	0,048	0,059	0,086	0,138		
22	Sp9	0,107	0,107	0,079	0,068	0,109	0,111	0,107	0,107	0,107	0,110	0,031	0,028	0,057	0,038	0,038	0,294	0,045	0,048	0,064	0,135	0,0537	0,000

### Similarity Index / Homologi

No	Sampel Sapi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1	HQ860420.1 Bos taurus																						
2	HM102289.1 Bos tauru	100,000%																					
3	reference S1 PO	94,488%	94,488%																				
4	reference S2 BALI	90,482%	90,482%	93,950%																			
5	reference S3 LIM	99,840%	99,840%	94,312%	90,291%																		
6	reference S4 MADURA	98,705%	98,705%	93,248%	88,952%	98,541%																	
7	reference S5 ANGUS	100,000%	100,000%	94,488%	90,482%	99,840%	98,705%																
8	reference S6 BRAHMAN	100,000%	100,000%	94,488%	90,482%	99,840%	98,705%	100,000%															
9	reference S7 SIM	100,000%	100,000%	94,488%	90,482%	99,840%	98,705%	100,000%	100,000%														
10	SP8	91,049%	91,049%	90,179%	87,884%	90,860%	90,683%	91,049%	91,049%	8,951%													
11	SpA	89,508%	89,508%	93,042%	94,476%	89,313%	88,741%	89,508%	89,508%	89,508%	89,428%												
12	SpE	88,725%	88,725%	91,566%	93,042%	88,527%	88,345%	88,725%	88,725%	88,725%	88,068%	97,034%											
13	Sp10	92,288%	92,288%	93,576%	92,869%	92,102%	91,554%	92,288%	92,288%	92,288%	92,553%	94,462%	92,657%										
14	Sp11	91,378%	91,378%	93,739%	94,469%	91,190%	91,390%	91,378%	91,378%	91,378%	90,912%	96,023%	94,624%	96,873%									
15	SpF	91,014%	91,014%	93,764%	94,828%	90,824%	90,265%	91,014%	91,014%	91,014%	90,169%	97,380%	96,017%	95,503%	96,023%								
16	SpB	75,188%	75,188%	73,090%	70,387%	74,952%	74,734%	75,188%	75,188%	75,188%	71,150%	71,074%	70,305%	71,754%	71,301%	71,074%							
17	Sp1	91,939%	91,939%	94,646%	95,855%	91,753%	91,202%	91,939%	91,939%	91,939%	91,098%	94,991%	93,567%	96,028%	97,553%	95,688%	72,306%						
18	Sp2	89,133%	89,133%	92,704%	94,469%	88,937%	88,756%	89,133%	89,133%	89,133%	89,438%	96,048%	94,312%	94,114%	96,379%	95,351%	70,897%	95,191%					
19	Sp5	89,921%	89,921%	92,513%	93,223%	89,729%	89,161%	89,921%	89,921%	89,921%	88,484%	93,772%	92,320%	92,145%	93,042%	93,772%	69,379%	95,003%	92,894%				
20	Sp6	87,398%	87,398%	87,051%	87,066%	87,202%	86,619%	87,398%	87,398%	87,398%	86,063%	86,272%	85,673%	86,220%	86,640%	86,846%	70,069%	87,620%	86,082%	84,453%			
21	Sp7	92,299%	92,299%	93,584%	93,223%	92,114%	91,566%	92,299%	92,299%	92,299%	91,461%	95,160%	93,377%	97,712%	96,195%	95,844%	71,781%	95,153%	94,121%	91,413%	86,231%		
22	Sp9	89,313%	89,313%	92,125%	93,223%	89,118%	88,937%	89,313%	89,313%	89,313%	89,043%	96,864%	97,203%	94,284%	96,195%	96,189%	70,562%	95,515%	95,187%	93,592%	86,470%	94,632%	100,000%

Lampiran 8 : Perubahan Nukleotida dan Asam amino Sapi Ongole dan Bali





	250	260	270	280	290	300	310	320
HQ860420.1 Bos taurus voucher	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
	GCTCCCGATATAGCATTTCCTCCCGAATAAATAATAAGCTTCTGACTCCTCCCTCCCTCATTCCCTACTACTCCT--CGCA							
HM102289.1 Bos taurus strain A	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
S1 Ongole	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
S2 BALI	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
	330	340	350	360	370	380	390	400
HQ860420.1 Bos taurus voucher	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
	TCTCTATAGTT-GAAGCTGGGGC-AGGAACAGG-CTGAACCGT-GTACCCCTCCCT--TAGCAGGC--AACCT-AGCCC							
HM102289.1 Bos taurus strain A	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
S1 PO	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
S2 BALI	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
	410	420	430	440	450	460	470	480
HQ860420.1 Bos taurus voucher	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
	AT--GCAGGAGCTTC-AGTAGATCTAACCAT-TTCTCTTTACACTTA-GCAGGAGTTTCCTCAATTTTAGGAGCCATCA							
HM102289.1 Bos taurus strain A	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
S1 PO	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
S2 BALI	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
	M Q E L Q * I * P F S L Y T * Q E F P Q F * E P S							
	M Q E L Q * I * P F S L Y T * Q E F P Q F * E P S							
	M S G A S V D L T I F S L H L A G V S S I L G A I							
	M Q E P Q * T * P F S L Y T W R V S P Q F * G P S							

	490	500	510	520	530	540	550	560
HQ860420.1 Bos taurus voucher	ACTTCATTACAACAATTATCAACATAAAGCCCCCGCAATGTCACAATACCAAACCCCTCTGTTCGTATGATCC							
HM102289.1 Bos taurus strain A	T S L Q Q L S T * S P P Q C H N T K P L C S Y D P							
S1 Ongole	T S L Q Q L S T * S P P Q C H N T K P L C S Y D P							
S2 BALI	N F I T T I I N I N P P A M S Q Y Q T L S V R V I							
	T L L Q Q L L I * T P L Q C H N I K L P C S C D P							

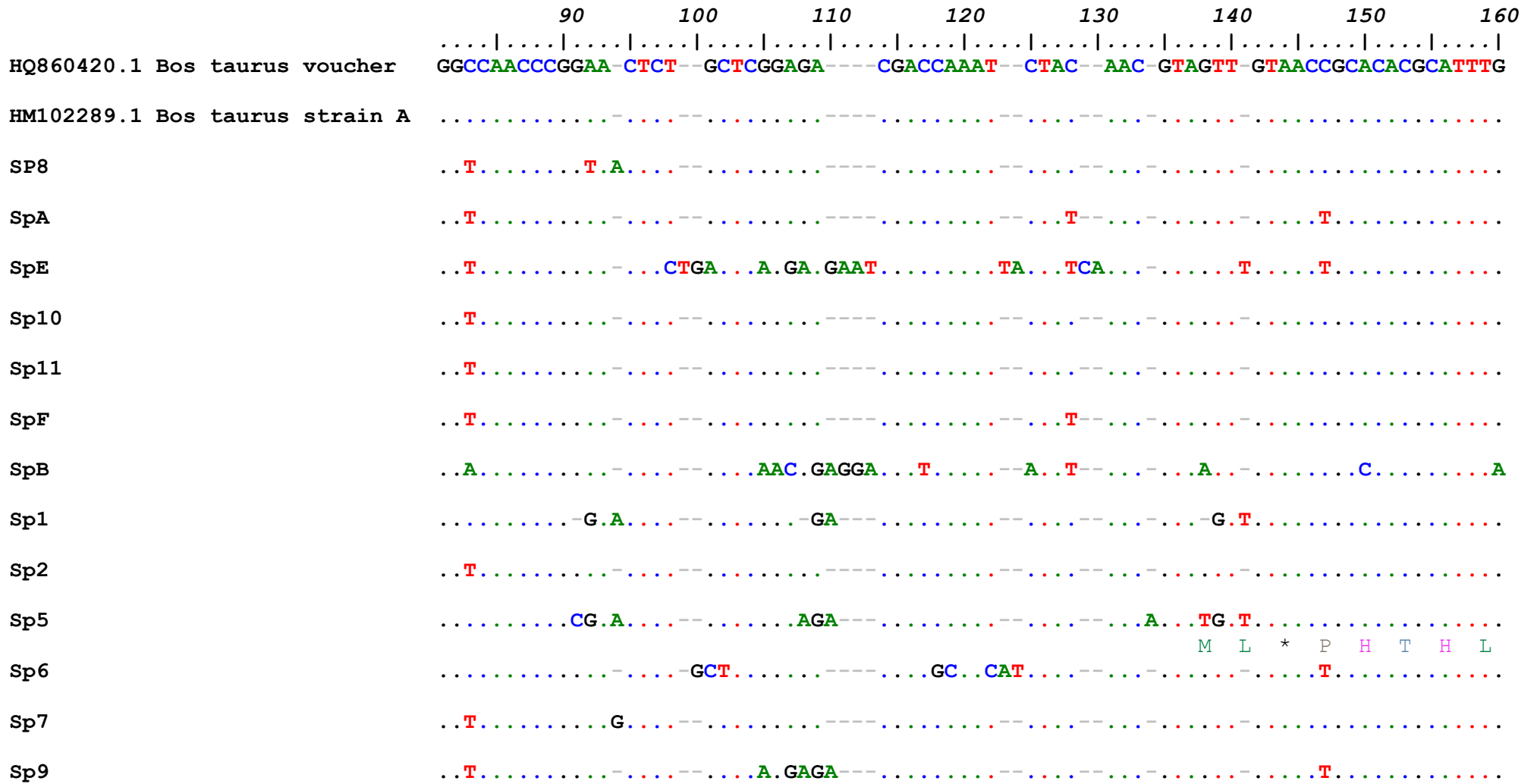
	570	580	590	600	610	620	630	640
HQ860420.1 Bos taurus voucher	GTAATAATTACCGCCGTACTACTACTCTCGCTCCCTGTATTAGCAGCCGGCATCACAAATGCT							
HM102289.1 Bos taurus strain A	* * L P P Y Y Y Y S R S L Y * Q P A S Q C							
S1 Ongole	* * L P P Y Y Y Y S R S L Y * Q P A S Q C							
S2 BALI	R N N H R R I T T P L T S C I S S W H Y N T							
	A G * * L P P Y Y Y S S H F L Y * Q L A L Q Y							

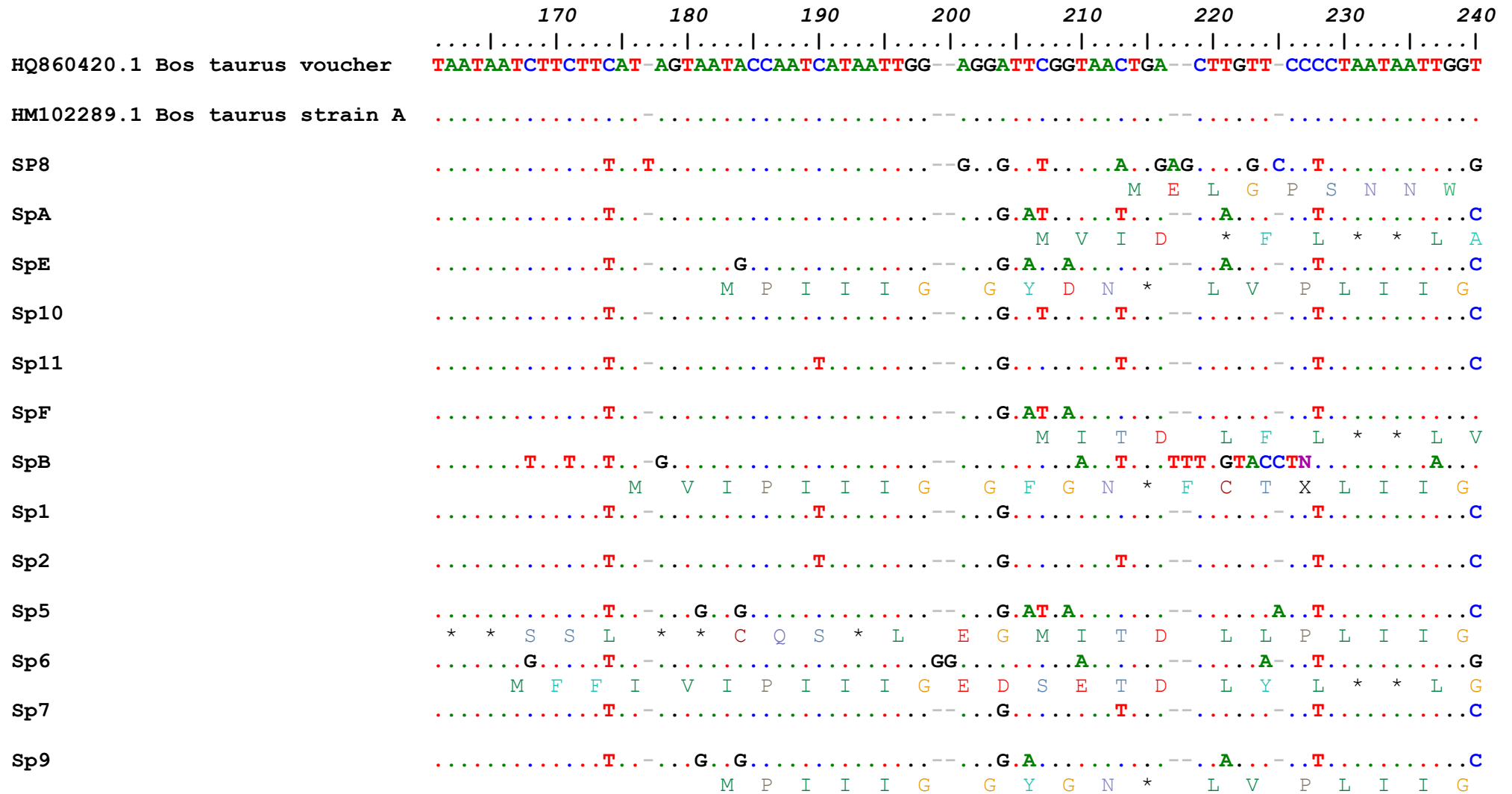
	650	660	670	680	690	700	710	720
HQ860420.1 Bos taurus voucher	ATT AACA	GACCGGAACCTA	AATACAACC	TTCTTCGACCCGG	CAGGAGGAGGAGA	CCCTATTCTATATCA		
HM102289.1 Bos taurus strain A	Y * Q	T G T *	I Q P	S S T R	Q E E E	T L F Y I		
S1 Ongole	G			A	T	A.CAG.A		
S2 BALI	G	A	T	T	A	G	C	C.TA
	C * Q	T R I *	I Q P	S L T Q	Q E E G	T P S L I		

	730	740	750	760	770
HQ860420.1 Bos taurus voucher	ACACTTA	TTC			
HM102289.1 Bos taurus strain A	.....TTC				
S1 Ongole	.....	..TGATTTTTTG	GTCACCC	TGAAGTTTAAAA	
S2 BALI	...C.T	..CGATTTTTTG	GTCACCC	TG AAGTTTAAAA	
	N T Y	S D F L V T L K F K			
	N T Y	S D F L V T L K F K			
	N T F	S D F L V T L K F K			

Lampiran 9. : Perubahan Nukleotida dan Asam amino Sapi Persilangan

	10	20	30	40	50	60	70	80
HQ860420.1 Bos taurus voucher	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....	CCTTTATCTACTATTTGG	TGCTTGGGC	CGGTATAG	TAGGAACAGCTC	TAAGCCTTCT	AATTCGCGCTGAATT	A
HM102289.1 Bos taurus strain A	-----	.G.	.....	.....	.....	.....	.....	.....
SP8	...A...T.....	.....C.....	CG.A.....	-TAG.....	.....N.....	.....T.....	.....G.	
SpA	...A.C.....	.....C.A.....	.....TA.....	.....C.....	.....G.....	.....	.....	
SpE	...A.CT.A.....	.....G.....	.....C.A.....	.....TTAGA.....	.....C.....	.....G.....	.....	
Sp10	...A.C.A.....	.....C.....	.....AGTAG.....	.....G.....	.....	.....	.....	
Sp11	...A.C.....	.....C.A.....	.....TA.....	.....G.....	.....	.....	.....	
SpF	...A.C.T.....	.....C.A.....	.....TA-G.....	.....G.....	.....	.....	.....	
SpB	-----	TT.....C.....	.....AGC.....	.....G.....	.....G.....	GCT.....	.....AT.	
Sp1	-----	T.C.....	.....T.....	.....	.....	.....	.....	
Sp2	...A.CT.T.....	.....C.A.....	.....C.....	.....G.....	.....	.....	.....	
Sp5	..C.ATCT.....	.....TG.....	.....	.....	.....	.....	.....	
Sp6	..CAA.A.TA.....	.....C.TGC.....	.....T.....	.....	.....	.....	.....	
Sp7	...A.CT.T.....	.....C.A.....	.....TAGTAGA.....	.....G.....	.....	.....	.....	
Sp9	...A.CT.T.....	.....C.A.....	.....TAGTAGA.....	.....C.C.....	.....G.....	.....	.....	





	250	260	270	280	290	300	310	320
HQ860420.1 Bos taurus voucher	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
	GCTCCCGATATAGCATTTCCTCCCGAATAAATAATAAAGCTTCTGACTCCTCCCTCCCTCATTCTACTACTCCT--CGCA							
HM102289.1 Bos taurus strain A	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....							
SP8	..C.....A.....A.....A.....T.....T.....C.....T.....							
	G P R N S I S P K K K N K L L T S P P L I P T T S R							
SpA	..C.....C.....T.....T.....A.....							
	P P I * H F P E * I I * A S D S S P P L S Y Y F * H							
SpE	..C.....C.....T.....T.....A.....							
	A P D I A F P R I N N I S F * L L P P S F L L L L A							
Sp10	..C.....T.....C.....T.....A.....							
Sp11	..C.....C.....T.....A.....							
SpF	..C.....C.....T.....T.....A.....							
	P P I * H F P E * I I * A S D S S P P L S Y Y F * H							
SpB	.....T.....T.....A.....C.....T.....C.CTTCT.CTCAT..							
	A P D I A F P R I N K I S F * L L P P S F L P S P H H							
Sp1	..C.....C.....C.....T.....A.....							
Sp2	..C.....T.....C.....T.....A.....							
Sp5	..C.....C.....T.....A.....							
	A P D I A F P R I N N I S F * L L P P S F L L L L A							
Sp6	.....A.....T.....C.....T.....							
	L P I * H F P E * I K * A S D F S P P H S Y Y F S H							
Sp7	..C.....C.....T.....T.....A.....							
Sp9	..C.....C.....T.....T.....A.....							
	A P D I A F P R I N N I S F * L L P P S F L L L L A							

	330	340	350	360	370	380	390	400	
HQ860420.1 Bos taurus voucher	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....	TCC	TATAGTT	GAAGCTGGGGC	AGGAACAGG	CTGAACCGT	GTACCCTCCCT	TAGCAGGC	AACCTAGCCC
HM102289.1 Bos taurus strain A	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
SP8	.....T.....	.....	.....	.....	.....G.....	.....C.....	.....	.....G.....	
SpA	.....A.....	.....	.....	.....	.....A.....	.....T.CT.....	.....C.....	.....C.....	
SpE	.....A.....	.....	.....	.....	.....A.....	.....CT.....	.....C.....	.....C.....	
Sp10	.....A.....	.....G.....	.....	.....	.....	.....T.C.....	.....T.....	.....G.....	
Sp11	.....A.....	.....G.....	.....	.....	.....A.....	.....T.CT.....	.....T.....	.....C.....	
SpF	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....T.CT.....	.....C.....	.....	
SpB	.....A.G.....	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....T.....	.....T.....	
Sp1	.....A.....	.....G.....	.....	.....	.....	.....T.CT.....	.....T.....	.....C.....	
Sp2	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....T.CT.....	.....T.....	.....	
Sp5	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....A.....	.....T.CT.....	.....CT.....	
Sp6	.....A.....	.....T.....	.....C.....	.....GT.....	.....G.....	.....T.....	.....CT.....	.....CTN.....	
Sp7	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....T.C.....	.....T.....	.....	
Sp9	.....A.....	.....	.....	.....	.....A.....	.....T.CT.....	.....C.....	.....C.....	



	410	420	430	440	450	460	470	480
HQ860420.1 Bos taurus voucher	AT--GCAGGAGCTTC-AGTAGATCTAACCAT-TTCTCTTTACACTTA-GCAGGAGTTTCCTCAATTTTAGGAGCCATCA							
HM102289.1 Bos taurus strain A	M Q E L Q * I * P F S L Y T * Q E F P Q F * E P S							
SP8	CT		T			G		G
SpA	CTG	C	C	T	G	G	T	C
SpE	C	C	T	G	G	T	C	G
Sp10	C	C			G	T	C	
Sp11	C	C			G	G	T	C
SpF	GT	C	C		G	G	T	C
SpB	GCAAG.AGC	AGT	T	T	C	T	A	T
Sp1	GT	C	C		G	G	T	C
Sp2	C	C	T		G	G	T	C
Sp5	GT	C	C	T	G	G	T	C
Sp6	C	C	A	T	C	GA	T	G
Sp7	C	T	C		G	T	C	
Sp9	C	C	T		G	G	T	C

	490	500	510	520	530	540	550	560
HQ860420.1 Bos taurus voucher	ACTTCATTACAACAATTATCAACATAAAGCCCCC	CGCAATGTCACAAT	ACCAAACCC	CTCTGTTCGTATGATCC				
HM102289.1 Bos taurus strain A	T S L Q Q L S T * S P P Q C H N	T K P L C S Y D P						
SP8	T..T.....T.....	F Y Y N N Y * H K A P R N V T I	P N P S V R M I					
SpA	...T.....T..T...C.....-T.....	L Y Y N N Y * Y K P P C N V T I	P N S P V H V I					
SpE	...T.....T..T...C.....-T.....-C.....A.G.....	N F I T T I I N I N P P A M S Q	Y Q T P L F M * S					
Sp10	T..T.....T.....T.....		M S Q Y Q T P L F V * S					
Sp11	...T.....T.....C.....-T.....	N F I T T I I N I N P P A M S Q	Y Q T P L F V * S					
SpF	...T.....T..T...C.....-T.....-C.....G.....	N F I T T I I N I N P P A M S Q	Y Q T P L F V * S					
SpB	T..T..A.....T..T..T...C.....-G..A.....TT.....AA.A.....G..TGATCC	F Y N N N F * Y T A P R D I T I Y Q K H S V R V * S						
Sp1	...T.....T.....	N F I T T I I N I K P P A M S Q	Y Q T P L F V * S					
Sp2	...T.....T..T...C.....-T.....-T.....-A.G.....	T L L Q Q L L I * T P L Q C H N	T K L L C S C D P					
Sp5	...T.....T.....C.....-T.....-T.....-A.G.....	T S L Q Q L L T * T P L Q C H N	T K L L C S C D P					
Sp6	A..T.....A..T..A.....-T.C..A.TC.....A.G.....TCA	N L L Q Q I L K * S P P Q C H N	I Q T P L F M * S H					
Sp7	...T.....T.....		M S Q Y Q T P L F V * S					
Sp9	...T.....T.....C.....-T.....-A.G.....	N F I T T I I N I N P P A M S Q	Y Q T P L F M * S					

	570	580	590	600	610	620	630	640	
HQ860420.1 Bos taurus voucher	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...
	---GTAATA-ATTAC---CGCCGTACTACTACTACTC---TCGCTCCCT---GTATTAG-CAGCC---GGCAT-CACAAATG-CT								
	* * L	P P Y Y Y Y S	R S L	Y *	Q P	A S	Q C		
HM102289.1 Bos taurus strain A	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	
	* * L	P P Y Y Y Y S	R S L	Y *	Q P	A S	Q C		
SP8	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ...	
	...C...CC...T...A...T...T...A...								
	R N N H	R R T T T P	F T S	C I S	S W	H Y	N D		
SpA	...G...C...T...T...C...A...T...T...A...								
	R D N H	R R I I T P	L T S	C I S	S W	H Y	N T		
SpE	...G...T...T...C...A...T...T...A...								
	V I I T	A V L L L L	S L P	V L A A	G I	T I	L		
Sp10	...C...T...C...A...T...T...A...								
	V I I T	A V L L L L	S L P	V L A A	G I	T I	L		
Sp11	...C...T...T...C...A...T...T...A...								
	V I I T	A V L L L L	S L P	V L A A	G I	T I	L		
SpF	...G...C...T...C...A...T...T...A...T...								
	V I I T	A V L L L L	S L P	V L A A	G I	T I	L		
SpB	TG...T...T...G...ATTACT.C.ACTG.TA...T...AGTA.TGC...GCGTAT.CA...								
	W L Y I T	R R L L P L L	S F P V L Q	Q R V Y T Q C					
Sp1	...C...T...T...C...A...T...T...A...								
	V I I T	A V L L L L	S L P	V L A A	G I	T I	L		
Sp2	...C...T...T...T...C...A...T...T...A...								
	* * S	P L Y Y Y S S	H F L	Y *	Q L	A L	Q Y		
Sp5	...C...T...T...CTCT...A...TT...CTG...T...TG...GT...AT...								
	* * S	P P Y Y Y F L F T F L V L V S L	G M Y N I						
Sp6	TTAAT...TC...ATG...T...T...C...TA...T...T...A...T...								
	* Y I Y M R R I I T P L R F L Y *	Q L A L Q Y							
Sp7	A.G...C...GT...C...A...T...G...T...T...A...								
	M I I T	A V L L L L	S L P	V L A A	G I	T I	L		
Sp9	...C...T...T...C...A...T...T...A...T...								
	V I I T	A V L L L L	S L P	V L A A	G I	T I	L		

	650	660	670	680	690	700	710	720
HQ860420.1 Bos taurus voucher	ATT AACA	GACCGAACCTA	AATACAACC	TTCTTCGACCCGG	CAGGAGGAGGAGA	CCCTATTCTATATCA		
HM102289.1 Bos taurus strain A	Y * Q	T G T *	I Q P	S S T R	Q E E E	T L F Y I		
SP8	GC			T	A.G	A.GAGA	C	
SpA	C * Q	T G T *	I Q P	S L T Q	A G G R R	P H S I S		
SpE	G	A	T		A	G	C	C
Sp10	L T	D Q N L N T T	F F D P	A G G G D	P I L Y Q			
Sp11	GC	A	T		A	G	T	C
SpF	L T	D Q N L N T T	F F D P	A G G G D	P I L Y Q			
SpB	T	AC	T	A	TATCTT	TT	T	GAAG
Sp1	GC	A	T		A	G	A	C
Sp2	L T	D Q N L N T T	F F D P	A G G G E	P H P I S			
Sp5	GC	A	T	T	A.G	G	C	C
Sp6	C * Q	T R I *	I Q P	S L T Q	A G G G D	P I L N Q		
Sp7	G	N	A	N	A	AT	G	
Sp9	C X T	R P E S X I Q	T F L R P G	R R R G	P Y S I S			
	G	AT	CGA	T	TC	CT	CGT	C
	C Y T R	D R N L N T T	S L R T P	A G G R R N	P I L Y Q			
	GC	A	G		A	G	T	
	L T	D Q N L N T T	F F D P	A G G G D	P Y S I S			
	G	A	T		A	G	G	C
	L T	D Q N L N T T	F F D P	A G G G E	P L S Y T			

	730	740	750	760	770
HQ860420.1 Bos taurus voucher	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....	ACACTTA	TTC		
	N T Y				
HM102289.1 Bos taurus strain A	.....TTC				
	N T Y				
SP8	.....	...TGATTTTTTG	GTCACCTGGAATGGTAATT		
	T L	I L I F W	S P G M V I		
SpA	.....	...TGATTTTTTG	GTCACCCTGAAGTTTAAAT		
	T L	I L I F W	S P * S L N		
SpE	.....	...TGATTTTTTG	GTCACCCTGAAAGTTTAAA		
	H L	F * F F	G H P E S L		
Sp10	.....	...TGATTTTTTG	GTCACCCTGAAGTTTAAAA		
	H L	F * F F	G H P E V *		
Sp11	.....	...TGATTTTTTG	GTCACCTGAAAATTTAAAT		
	H L	F * F F	G H L K F *		
SpF	.....	...TGATTTTTTG	GTCACCTGAAAGTTTAAAA		
	H L	F * F F	G H L K V *		
SpB	.....	T.CATAATTTTTTG	ACCCCCAGAAATAATAAAA		
	T L	I H N F L	T P Q N N K		
Sp1	.....	...TGATTTTTTG	GTCACCCTG-AAGTTTAAA		
	T L	I L I F W	S P * S L		
Sp2	..CA..T	...TGATTTTTTG	GTCACCCTGAAGTTTAAAA		
	P F	F * F F	G H P E V *		
Sp5	C..T..TCTTCAC TTAT..	TGATTTTTTG	TGTCACCCTGGAAGTG TAAA		
	P F S S L I S D F L C H P G S V				
Sp6	.....	...TGATTTTTTG	TTCACCCCAAGTTTAAAA		
	H L	F * F F	V H P Q V *		
Sp7	.....	...TGATTTTTTG	GTCACCCTGAAGTTTAAAA		
	T L	I L I F W	S P * S L K		
Sp9	.....	...TGATTTTTTG	GTCACCC-GGAAGTTTAAA		
	N T Y	S D F L	V T R K F K		



# Professor Nidom Foundation

*Yayasan Professor Nidom*

**Institutional Animal Care and Use Committee**

Jl. Wisma Permai Blok AA-2, Surabaya, 60115, Telp/Fax.(031) 5922972

Nomor : 010221/IACUC/VII/2021  
Perihal : **Persetujuan Protokol IACUC**

Surabaya, 26 Februari 2021

Kepada Yth.

**Drh. Sri Utami, M.Sc**

**Program Studi Sains Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan**

**Universitas Airlangga**

Bersama ini diberitahukan *The Institutional Animal Care and Use Committee* - Professor Nidom Foundation (IACUC-PNF) telah menyetujui Protokol Penggunaan Hewan Coba pada penelitian yang berjudul :

## **PENGGUNAAN DNA BARCODE UNTUK DETEKSI KERAGAMAN GENETIK SAPI PERSILANGAN DI SULAWESI SELATAN**

Adapun persetujuan ini berlaku selama 2 (dua) tahun :

**Tanggal Persetujuan : 25 Februari 2021**

**Tanggal Berakhir : 25 Februari 2023**

Selama masa persetujuan ini, dilakukan evaluasi dan peninjauan setiap tahun dan evaluasi berikutnya dilakukan tidak melebihi tanggal 25 Februari 2023.

Demikian Surat Persetujuan disampaikan untuk menjadi pegangan selama melakukan penelitian yang menggunakan hewan coba.

Atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Ketua IACUC-PNF

Dr. Setyarina Indrasari, drh. MVet.