

**Fokus Kegiatan:
Peternakan**

LAPORAN PENELITIAN

**PENELITIAN PRIORITAS NASIONAL
MASTERPLAN PERCEPATAN DAN PERLUASAN PEMBANGUNAN EKONOMI INDONESIA
2011 – 2025
(PENPRINAS MP3EI 2011-2025)**

**FOKUS / KORIDOR:
PETERNAKAN / BALI - NUSA TENGGARA**

TOPIK KEGIATAN

**PERCEPATAN PERTUMBUHAN POPULASI DAN PRODUKTIVITAS
SAPI BALI MELALUI APLIKASI MARKA GENETIK DAN TEKNOLOGI
PRODUKSI SEMEN BEKU UNTUK MENGHASILKAN
SAPI BAKALAN UNGGUL**

**Peneliti Utama: Dr. Ir. Maskur, M.Si.
Anggota 1: Prof. Ir. Chairussyuhur Arman, MSc., PhD.
Anggota 2 : drh. Rodiah, M.Si**



**UNIVERSITAS MATARAM
Desember 2013**

Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penugasan Penelitian Prioritas Nasional Masterplan Percepatan dan Perluasan Pembangunan Ekonomi Indonesia (MP3EI). Tahun Anggaran 2012 Nomor : 222/SP2H/PL/Dit.Litabmas/V/2012, tanggal 23 Mei 2012

HALAMAN PENGESAHAN
PENPRINAS MP3EI

Judul Kegiatan : Percepatan pertumbuhan populasi dan produktivitas sapi Bali melalui aplikasi marka genetik dan teknologi produksi semen beku untuk menghasilkan sapi bakalan unggul

Kode>Nama Rumpun Ilmu : 211 / Ilmu Peternakan

Fokus Koridor : Bali-Nusa Tenggara

Ketua Peneliti

A. Nama Lengkap : MASKUR

B. NIDN : 0031126813

C. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala

D. Program Studi : Produksi Ternak

E. Nomor HP : +628175785862

F. Surel (e-mail) : maskur07@yahoo.co.id

Anggota Peneliti (1)

A. Nama Lengkap : CHAIRUSSYUHUR ARMAN

B. NIDN : 0008065107

C. Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS MATARAM

Anggota Peneliti (2)

A. Nama Lengkap : drh. RODIAH M.Si.

B. NIDN : 0018106005

C. Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS MATARAM

Institusi Mitra

A. Nama Institusi Mitra : BIBD Banyumulek

B. Alamat : Banyumulek Mataram

C. Penanggung Jawab : -

Lama Penelitian Keseluruhan : 2 Tahun

Penelitian Tahun ke : 2

Biaya Penelitian Keseluruhan : Rp 327.950.000,00

Biaya Tahun Berjalan : - diusulkan ke DIKTI Rp 177.950.000,00
- dana internal PT Rp 0,00
- dana institusi lain Rp 0,00
- inkind sebutkan

Mengetahui,
Ketua Lembaga Penelitian



Dr. Ir. Annuddin, M.Si
NIP. 19621231 198703 1 024



Menyetujui,
Rektor Universitas Mataram




Prof. Ir. Sunarpi, Ph D.
NIP. 19620804 198609 1 001



Mataram, 16 – 12 - 2013

Ketua Peneliti,



Dr. Ir. Maskur, M.Si
NIP. 19681231 199402 1 001

PERCEPATAN PERTUMBUHAN POPULASI DAN PRODUKTIVITAS SAPI BALI MELALUI APLIKASI MARKA GENETIK DAN TEKNOLOGI PRODUKSI SEMEN BEKU UNTUK MENGHASILKAN SAPI BAKALAN UNGGUL

ABSTRAK

Penelitian dalam rangka mempercepat pertumbuhan populasi dan produktivitas sapi Bali melalui aplikasi marka genetik dan teknologi produksi semen beku untuk menghasilkan sapi bakalan unggul. Penelitian ini bertujuan untuk mengatasi permasalahan rendahnya pertumbuhan populasi dan produktivitas peternakan sebagai pendukung pangan nasional. Terbatasnya jumlah pejantan berkualitas yang tersedia di masyarakat dan rendahnya tingkat reproduktivitas/ kegagalan perkembang biakan melalui inseminasi buatan (IB) merupakan pemicu utama permasalahan peternakan di Indonesia khususnya di NTB. Integrasi teknologi MAS dan teknologi reproduksi untuk menjamin ketersediaan semen beku berkualitas bagi keperluan inseminasi buatan diharapkan dapat mendorong percepatan pertumbuhan populasi dan kemajuan genetik sapi Bali. Pada tahap pertama penelitian ini akan dilakukan seleksi menggunakan marka genetik *SNP Nt17* (gen IGF-1) untuk menghasilkan pejantan unggul sebagai pemacek dan sebagai donor semen beku berkualitas. Pada tahap selanjutnya akan dilakukan uji lapang dan validasi semen beku yang diproduksi sebelum dikomersilkan dan digunakan oleh peternak. Pola seleksi dengan pendekatan kawasan yang berbasis pada kelompok-kelompok peternak binaan diharapkan juga dapat menjadi model penyediaan pejantan unggul di masyarakat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata karakteristik spermatozoa sapi Bali yang diperoleh masih termasuk dalam kisaran normal jika dibandingkan dengan karakteristik semen yang dilaporkan oleh peneliti lain pada ternak sapi. Tingkat retensi implant norgestomet (Crestar) yang digunakan pada sinkronisasi birahi mencapai 100 persen dengan respon sinkronisasi birahi sapi percobaan dalam penelitian ini mencapai angka 100 persen. Angka konsepsi (conception rate) yang diperoleh pada perkawinan dengan inseminasi buatan mencapai hampir 91,4 %. Pemeriksaan kebuntingan pada 196 ekor sapi sampel yang mengindikasikan kebuntingan tersebut melalui teknik palpasi rectal menunjukkan 182 ekor (92,85 %) sapi terdiagnosa positif dalam keadaan bunting dan 14 ekor negatif. Evaluasi genetik keturunan pertama (F1) sapi Bali menunjukkan adanya dua kelompok genotipe *SNP Nt17* dan tiga kelompok genotipe pada *SNP Nt241*. Penggunaan sperma dari pejantan donor terseleksi untuk program IB menyebabkan terjadinya akumulasi alel dan genotipe *SNP Nt17* dan *SNP Nt241* pada populasi F1 sapi Bali. Distribusi frekuensi alel *SNP T(17)C* pada populasi F1 sapi Bali menunjukkan bahwa alel C dan T berturut-turut 0.58 dan 0.42 ; sedangkan distribusi frekuensi genotipe CT dan CC berturut-turut: 0.85 dan 0.15. Berbeda dengan *SNP Nt17*, distribusi alel A dan G *SNP Nt241* dalam populasi F1 sapi Bali memiliki perbedaan distribusi frekuensi yang sangat kontras yaitu A=0,23 dan G=0,77. Distribusi genotipe *SNP Nt241* dalam populasi F1 sapi Bali yaitu AG, GG dan AA dengan frekuensi berturut-turut: 0.23; 0.66 dan 0.11.

Kata Kunci : *Seleksi, Pejantan, Marka genetik, genotype SNP dan spermatozoa*

ACCELERATION OF POPULATION RATE AND BALI CATTLE PRODUCTIVITY BY APPLYING GENETIC MARKERS AND FROZEN SEMEN PRODUCTION TECHNOLOGY TO PRODUCE SUPERIOR CALVES

Abstract

This research is in order to accelerate population rate and productivity of Bali cattle through the application of genetic markers and the frozen semen production technology to produce superior calves. The aims of this research to resolve the problems of population rate and productivity of livestock as supporting national food security. The limited number of qualified males in the farmer community and low levels of reproductivity / failure breeding through artificial insemination (AI) is the principal problems of farming in Indonesia, particularly in West Nusa Tenggara. Integration of marker assisted selection with reproductive technologies to ensure the availability of frozen semen for artificial insemination purposes is expected to accelerate the growth of population and the genetic progress of Bali cattle. In the first phase of this study will be conducted selection using genetic markers SNP Nt17 (gene IGF-1) to produce a superior bull as a donor of good quality frozen semen. In the next step will be field testing and validation of frozen semen produced before commercialized and used by farmers. The selection pattern with the region approach based on the target of farmer groups is also expected to be a model of providing superior bull in the community. The results of this study showed that the average characteristics of Bali cattle sperm is still in the normal range when compared with sperm characteristics reported by other researchers in cattle. Retention rate of norgestomet implant (Crestar) that used to synchronize estrus reached 100 percent and estrus synchronization response up to 100 percent, while the rate of conception (conception rate) obtained reached nearly 91.4%. Examination of pregnancy through rectal palpation technique on 196 heads of bali cattle samples showed that 182 (92.85%) heads in a state of positive pregnant and 14 heads negative. Genetic evaluation on F1 progeny of bali cattle population indicate that there are two groups of SNPs Nt17 genotypes and three groups of SNP Nt241 genotypes. The used of sperm from selected bull on artificial insemination programme caused accumulation of an allele and genotype SNP NT17 and SNP Nt241. The distribution of allele SNPs $T(17)C$ showed a balance frequencies in the population in which the frequency of C allele = 0.58 and than the T allele = 0.42 ; while the genotype SNPs showed an imbalance frequencies in the population in which CT genotype = 0.85 is higher than CC genotype = 0,15. The differencies with SNP Nt17, The distribution of allele SNPs Nt241 showed an imbalance frequencies in the population in which the frequency of A allele = 0.23 is lower than the G allele = 0.77; while the genotype SNPs frequencies in the population ie. AG=0.23, GG= 0.66 and AA = 0.11.

Key word : Selection, Bull, genetic marker, genotype SNP and spermatozoa

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Alloh S.W.T. atas segala rahmat dan karunianya sehingga penelitian dan penulisan laporan akhir ini dapat dilaksanakan dan diselesaikan sesuai dengan yang telah direncanakan. Sungguh disadari bahwa penelitian ini aplikasikan dan laporan ini dapat kami susun seperti yang telah direncanakan adalah berkat bantuan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Semoga Alloh S.W.T. memberikan imbalan yang sepadan atas jasa-jasa yang telah diberikan.

Melalui kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang tulus dan mendalam kepada yang terhormat Bapak Menteri Pendidikan Nasional melalui DP2M DIKTI yang telah mendanai pelaksanaan penelitian ini melalui skim “Penelitian Prioritas Nasional Masterplan Percepatan dan Perluasan Pembangunan Ekonomi Indonesia 2011 – 2025 (Penprinas Mp3ei 2011-2025)”. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada bapak Rektor Universitas Mataram, bapak Dekan Fakultas Peternakan dan bapak ketua dan sekretaris Lembaga Penelitian Universitas Mataram. Akhirnya kepada semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu-persatu kami ucapkan banyak terima kasih.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa apa yang didapatkan dalam penelitian ini masih perlu dikaji lebih lanjut sehingga benar-benar dapat dimanfaatkan dalam rangka upaya meningkatkan kinerja produksi sapi Bali untuk mengurangi/menghilangkan ketergantungan pada produk-produk impor melalui program breeding yang terarah dan berkesinambungan. Penulis berharap hasil penelitian ini ada manfaatnya dalam upaya meningkat produktivitas dan pertumbuhan populasi sapi lokal khususnya dan produksi peternakan pada umumnya. Akhirnya, semoga apa yang kita upayakan melalui penelitian-penelitian ini benar-benar dapat terwujud yaitu meningkatkan kesejahteraan masyarakat pada umumnya.

Mataram, Desember 2013.

Penulis,

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK.....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	2
1.3. Urgensi Penelitian.....	2
BAB II. STUDI PUSTAKA.....	5
2.1. Produktivitas Sapi Bali.....	5
2.2. Status Reproduksi Sapi Bali.....	6
2.3. Inseminasi Buatan dan Infertilitas Pada Sapi Bali	7
2.4. Marka Genetik dari Gen Pengontrol Sifat Produksi pada Sapi Bali	8
2.4.1. Gen <i>Insulin-Like Growth Factor I (IGF-I)</i>	8
2.4.1. Gen <i>Growth Hormone Receptor (GHR)</i>	14
BAB III. PETA JALAN PENELITIAN.....	19
BAB IV. MANFAAT PENELITIAN.....	20
BAB V. MATERI DAN METODE.....	21
5.1. Bagan Alir Penelitian	21
5.2. Prosedur Penelitian.....	21
5.2.1. Inseminasi Buatan pada Peternakan Rakyat.....	22
5.2.2. Evaluasi Genotipe Keturunan Pertama (F1) sapi Bali.....	26
5.2.3. Analisis Statistik	26
BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
6.1. Produksi dan Evaluasi Semen Beku.....	27
6.1.1. Penilaian Spermatozoa Segar Secara Makroskopis dan Mikroskopis..	27
6.1.2. Penilaian Spermatozoa Pasca Pelelehan	29
6.2. Inseminasi Buatan Pada Peternakan Rakyat.....	30
6.2.1. Sinkronisasi Estrus	30
6.2.2. Inseminasi Buatan.....	31
6.3. Evaluasi Genotipe Keturunan Pertama (F1).....	33
6.3.1. Analisis <i>SNP Nt241</i> dan <i>SNP Nt17</i>	33
6.3.2. Distribusi Frekuensi genotipe dan alel <i>SNP Nt17</i> pada populasi F1 sapi Bali.....	33

6.3.3. Distribusi Frekuensi Genotipe dan Alel <i>SNP Nt241</i> pada populasi F1 sapi Bali.....	
BAB VII. KESIMPULAN.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	38
	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Data produktivitas dan reproduktivitas sapi Bali	3
Tabel 2. Rata-rata bobot dan ukuran tubuh sapi Bali dewasa yang dipotong di provinsi NTB.....	6
Tabel 3. Sekuen primer yang digunakan untuk meng Analisis <i>SNP Nt241</i> dan <i>SNPNt17</i>	26
Tabel 4. Kualitas Spermatozoa Segar Sapi Bali Jantan Berdasarkan Kelompok Genotipe Gen <i>IGF-1/Rsa1</i>	27
Tabel 5. Kualitas Semen Beku Sapi Bali Jantan Berdasarkan Kelompok Genotipe Gen <i>IGF-1/Rsa1</i> dan <i>GHR/HpyCHIII</i> dengan lama inkubasi yang berbeda.....	29
Tabel 6. Data pemeriksaan kebuntingan dan kelahiran.....	31
Tabel 7. Frekuensi alel dan genotipe <i>SNP Nt17</i> pada populasi F1 sapi Bali.....	34
Tabel 8. Distribusi frekuensi alel <i>SNP</i> gen <i>IGF-1</i> pada beberapa bangsa sapi.....	35
Tabel 9. Frekuensi alel dan genotipe <i>SNP Nt241</i> pada populasi F1 sapi Bali.....	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Gene <i>IGF-1</i> pada kromosom 5 sapi.....	10
Gambar 2. Sekresi IGF-1. A. Somatomedin hypothesis. B. Autocrine /Paracrine action in muscle fiber (Lee, 2003)	12
Gambar 3. Interaksi antara growth hormone (GH), growth hormone receptor (GHR), insulin-like growth factor I (IGF-I) dan insulin-like growth factor binding proteins (IGF-BPs).....	13
Gambar 4. Struktur gen <i>GHR</i> pada kromosom 20 sapi (Longmire dan Wajnrajch 2010)	15
Gambar 5. Aktivitas <i>GH</i> pada sel target melalui ikatan dengan <i>growth hormone (GH) receptor</i> mengaktifkan <i>JAK2</i> . (Carter-Su <i>et al.</i> 1997).....	17
Gambar 6. Sistematika Penelitian Diagram Tulang Ikan (<i>fishbone diagram</i>).....	19
Gambar 7. Bagan alir penelitian.....	21
Gambar 8. Prosedur sinkronisasi birahi pada sapi.....	24
Gambar 9. a) Implanter beserta susuk norgetomet dan Crestar Injection; b). Pemasangan susuk menggunakan alat implanter pada telinga sapi..	25
Gambar 10. Keturunan pertama (F1) hasil IB.....	32
Gambar 11. Produk PCR Fragmen DNA <i>SNP Nt241</i> dan <i>SNP Nt17</i>	33
Gambar 12. Fragmen DNA <i>SNP Nt17</i> hasil pemotongan dengan enzim restriksi ,,,	34
Gambar 13. Distribusi frekuensi genotipe dan alel <i>SNP Nt17</i>	35
Gambar 14. Fragmen DNA <i>SNP Nt241</i> hasil pemotongan enzim restriksi.....	36
Gambar 15. Distribusi frekuensi genotipe dan alel <i>SNP Nt241</i>	37

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Perkembangan perekonomian Indonesia telah mengubah pola konsumsi dan preferensi masyarakat terhadap produk pangan. Permintaan akan daging sapi secara nasional terus meningkat. Pada tahun 2009, permintaan daging sapi mencapai 325900 tons, sedangkan produksi dalam negeri hanya mencapai 250800 tons. Sampai dengan tahun 2011, permintaan daging sapi meningkat mencapai 430000 ton yaitu setara dengan pemotongan 25 juta ekor. Sejalan dengan meningkatnya permintaan tersebut, impor daging sapi maupun sapi bakalan terus meningkat dari tahun ke tahun. Pada tahun 2009, impor daging sapi tercatat sebesar 70000 ton dan sapi bakalan sebanyak 570100 ekor kemudian meningkat mencapai 114000 ton dan 600000 ekor pada tahun 2011 (Kementerian Pertanian 2011). Bila kondisi ini tidak segera diantisipasi, maka kemandirian dan kedaulatan pangan hewani khususnya daging sapi semakin jauh dari harapan, yang pada gilirannya berpotensi masuk dalam *food trap* negara eksportir.

Dalam rangka mengurangi dan mencegah ketergantungan terhadap produk peternakan impor khususnya daging sapi, maka upaya untuk meningkatkan perkembangan populasi dan perbaikan produktivitas sapi lokal, serta peningkatan produksi daging sapi perlu terus dilakukan. Program nasional Pencapaian Swasembada Daging Sapi (PSDS) 2014 dan program Bumi Sejuta Sapi (NTB-BSS) pemerintah daerah NTB merupakan program akselerasi pertumbuhan populasi dan peningkatan produktivitas sapi lokal.

Permasalahan yang dihadapi dalam rangka mewujudkan target dari program-program tersebut khususnya di NTB adalah pertumbuhan populasi sapi lokal yang masih rendah (<7,5 %) serta rendahnya produktivitas dan reproduktivitas sapi lokal khususnya di daerah inseminasi buatan. Salah satu penyebab rendahnya pertumbuhan populasi sapi di NTB adalah rendahnya angka kelahiran ternak sementara permintaan daging untuk konsumsi dan pengiriman antar pulau semakin meningkat. Rendahnya angka kelahiran ini adalah akibat dari terbatasnya jumlah pejantan berkualitas yang tersedia di masyarakat dan rendahnya tingkat reproduktivitas/kegagalan perkembang biakan melalui inseminasi buatan (IB).

Penelitian ini adalah dalam rangka percepatan perkembangan populasi dan peningkatan produktivitas sapi potong melalui aplikasi teknologi reproduksi dan marka genetik dari gen pengontrol pertumbuhan untuk menghasilkan pejantan unggul dan semen beku berkualitas

1.2. Tujuan Penelitian

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk percepatan perkembangan populasi dan peningkatan produktivitas sapi potong melalui aplikasi integrasi teknologi reproduksi dan marka genetik (*marker assisted selection*) untuk mengatasi permasalahan rendahnya pertumbuhan populasi dan produktivitas peternakan sebagai pendukung pangan nasional

Penelitian ini juga dirancang dengan tujuan khusus antara lain :

- 1) seleksi pejantan unggul pada kelompok-kelompok peternak berdasarkan marka genetik *SNP Nt241*(gen GHR) dan *Nt17* (gen IGF-1)
- 2) produksi dan evaluasi kualitas semen beku dari pejantan yang terseleksi secara genetik pada setiap kelompok peternak
- 3) meningkatkan pertumbuhan populasi melalui perkawinan alam dengan pejantan terseleksi dan melalui inseminasi buatan menggunakan semen beku yang diproduksi sendiri
- 4) untuk mendapatkan sapi bakalan berkualitas dan calon pejantan unggul sebagai pemacek dan donor semen

1.3. Urgensi/Keutamaan Penelitian

a. Urgensi dalam upaya memecahkan permasalahan peternakan sapi potong di NTB dengan menjamin ketersediaan pejantan unggul dan semen beku (Straw) sapi Bali berkualitas

Masalah yang dihadapi peternakan sapi Bali di NTB adalah: Pertama, rendahnya pertumbuhan populasi sapi Bali, dimana dalam 5 tahun terakhir populasi sapi Bali di NTB meningkat dengan tingkat pertumbuhan yang masih rendah yaitu < 7,5 % pertahun (JICA, 2010) Kedua, penurunan produksi sapi Bali ditunjukkan dengan penurunan tinggi gumba, lingkaran dada dan bobot badan. Penurunan berat badan sapi Bali di P Lombok dari tahun 1980 sampai 1990 dilaporkan sebesar 29 kg/ ekor/ tahun (Dwipa dan Sarwono, 1992) Ketiga, penurunan reproduksi sapi Bali di NTB yang terlihat dari kelahiran pedet di daerah inseminasi buatan yang hanya mencapai 16,3-23,25% dari populasi betina

produktif (Dradjat, 2002) Keempat, kematian embrio dini yang tidak terdeteksi secara langsung, tetapi dapat menurunkan produksi anak Kematian embrio dini dilaporkan sebesar 6,7% (Lamming, 1980); 20% (Pope *et al*, 1976); 27,9% (Nakao *et al*, 1982)

Masalah peternakan sapi di NTB sangat jelas yaitu rendahnya pertumbuhan populasi, penurunan produksi dan penurunan reproduksi Penyebab utama masalah ini adalah rendahnya angka kelahiran akibat dari terbatasnya jumlah pejantan berkualitas yang tersedia di masyarakat dan rendahnya angka kelahiran akibat infertilitas dimana pada daerah yang menggunakan IB angka kebuntingan hanya mencapai 16,3-23,25% dari populasi betina produktif (Dradjat, 2002) Hasil survey di Pulau Lombok menunjukkan bahwa dari hampir 800 kandang kelompok yang ada, 486 kelompok melakukan usaha pembibitan, dan 200 di antara kelompok pembibitan ini tidak memiliki pejantan sapi Bali(Dahlanuddin *et al*, 2005)Keterbatasan pejantan yang berkualitas pada kelompok-kelompok peternak menyebabkan perkawinan *inbreeding* tak terhindarkan Apabila kondisi ini dibiarkan berlanjut maka kualitas genetik dan produktivitas sapi Bali di NTB akan menjadi semakin terancam

Tabel 1. Data produktivitas dan reproduktivitas sapi Bali

No	ITEMS	Province NTB (JICA)	BALI (ACIAR)	Province NTT
1	Persentase induk sapi Bali dari total populasi	4441	7195	9529
2	Angka kelahiran (percentage of calf borne to no of cows)	5861	6627	6655
3	Angka kematian (percentage of calf death to the no of calf born)	1864	846	4800
4	Calving interval (month)	2047	1811	1803
5	Increase of the population (%)	<7,5	nad	nad

Sumber : Data survey (2010)

Upaya untuk mengatasi permasalahan tersebut diatas akan dilakukan melalui dua pendekatan yaitu : 1) seleksi pejantan secara langsung pada kelompok-kelompok peternak yang tersebar diberbagai wilayah NTB baik untuk kebutuhan kawin alam di masing-masing kelompok maupun sebagai sumber semen beku berkualitas, 2) produksi semen beku dari pejantan yang sudah terseleksi untuk didistribusikan ke wialyah yang menggunakan IB

b. Urgensi dalam pengembangan model pemuliaan melalui integrasi teknologi reproduksi dan marka genetik

Upaya-upaya untuk mengatasi permasalahan rendahnya produktivitas dan reproduktivitas sapi potong telah dilakukan oleh pemerintah melalui pusat-pusat penelitian dan balai inseminasi seperti BPTU & UPTD serta BIB Upaya tersebut perlu dioptimalkan melalui peningkatan jumlah pejantan berkualitas yang tersedia di masyarakat dan produksi semen beku dari pejantan yang sudah terseleksi dengan baik Integrasi teknologi reproduksi dan bioteknologi molekuler dalam menghasilkan pejantan dan semen beku berkualitas untuk mendukung metode konvensional yang berbasis informasi fenotipik tentu akan memberikan dampak yang lebih baik dalam rangka meningkatkan percepatan perkembangan populasi dan perbaikan produktivitas sapi lokal

Marka genetik *SNP Nt241, Nt702, Nt755* (gen GHR) dan *Nt17* (gen IGF-1) yang ditemukan pada sapi Bali (maskur *et al*2012) dapat digunakan sebagai marka seleksi (marker assisted selection) untuk sifat produksi seperti berat lahir, berat sapih dan pertumbuhan Aplikasi marka genetik ini dapat meningkatkan kemajuan genetik secara cepat melalui peningkatan intensitas seleksi, akurasi dan efisiensi seleksi Penyediaan pejantan di masyarakat dan produksi semen beku dari pejantan yang terseleksi menggunakan marka genetik tersebut diharapkan dapat mempercepat perkembangan populasi dan perbaikan produktivitas sapi lokal Penggunaan pejantan unggul sebagai pemacek dan semen beku berkualitas untuk IB tentunya akan menghasilkan sapi bakalan berkualitas yang pada gilirannya akan meningkatkan pendapatan peternak

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Produktivitas Sapi Bali

Permasalahan utama usaha peternakan sapi potong di Indonesia khususnya di NTB adalah tingkat produktivitas dan reproduktivitas sapi bali yang masih rendah sehingga pertumbuhan populasi ternak menjadi lambat (<7,5 % per tahun) dibandingkan dengan beberapa provinsi lain seperti Bali dan NTT. Beberapa faktor yang menyebabkan rendahnya indikator tersebut diantaranya adalah : kurangnya pemahaman terhadap seleksi pejantan, deteksi terhadap ternak yang birahi, fertilitas dan infertilitas baik pada pejantan maupun betina induk. Infertilitas baik pada pejantan maupun induk sapi merupakan penyebab utama rendahnya tingkat reproduktivitas ternak (kegagalan perkembang biakan) di NTB.

Produktivitas seekor ternak potong dapat dinilai dari beberapa indikator yaitu sifat-sifat produksi dan sifat reproduksi seperti bobot lahir, bobot sapih, bobot dewasa, laju penambahan bobot badan, sifat-sifat karkas (persentase karkas dan kualitas karkas), dewasa kelamin, umur pubertas, jarak beranak (calving interval), persentase beranak, dan sebagainya. Lasley (1981) menyatakan bahwa yang termasuk dalam komponen produktivitas sapi potong adalah jumlah kebuntingan, kelahiran, kematian, panen pedet (calf crop), bobot tahunan (yearling weight), bobot potong dan penambahan bobot badan. Produktivitas seekor ternak merupakan gabungan sifat produksi dan reproduksi dari ternak tersebut dalam kurun waktu tertentu, serta dipengaruhi oleh faktor genetik, lingkungan dan interaksi keduanya (Hardjosubroto 1994).

Kinerja produksi sapi Bali masih tergolong rendah yang dicirikan dengan bobot lahir dan tingkat penambahan bobot badan yang masih relatif kecil dan sangat bervariasi. Pertambahan bobot badan harian sapi Bali yaitu rata-rata 0.28 kg/ekor/hari untuk sapi jantan dan 0.17 kg/ekor/hari untuk betina pra sapih (Pulungan dan Ma'sum, 1978), sedangkan setelah lepas sapih sampai umur dua tahun sekitar 0.38 kg untuk sapi jantan dan 0.34 kg untuk betina. Bobot lahir sapi Bali berkisar 9.9 - 19 kg (Astawa 1990; Pane 1990; Paat dan Winugroho 1990) dengan bobot pada umur satu tahun sekitar 112.5 - 196.2 kg (Liwa 1990).

Berbagai laporan penelitian menunjukkan bahwa sapi Bali telah mengalami penurunan performan produksi. Penurunan ini ditunjukkan dengan penurunan ukuran tubuh seperti tinggi gumba, lingkar dada dan bobot badan (Darmadja 1980). Data pada tabel 2 menunjukkan bahwa selama kurun waktu 20 tahun (1978 – 2006) terjadi penurunan bobot dan ukuran tubuh sapi Bali.

Tabel 2. Rata-rata bobot dan ukuran tubuh sapi Bali dewasa yang dipotong di provinsi NTB

Sex	Ukuran Tubuh (cm)				Bobot Badan (kg)	Sumber
	PB	TG	TP	LD		
Jantan (♂)	140	127	-	192	400	Bowker <i>et al.</i> (1978)
Betina (♀)	114	114	-	165	260	
Jantan (♂)	125	127	-	180	350 – 400	Pane (1991)
Betina (♀)	116	117	-	155	250 – 300	
Jantan (♂)	120.50 ± 7.72	115.55 ± 4.21	113.80 ± 2.62	160.07 ± 13.38	278.26 ± 74.93	Arman, <i>et al.</i> 2006
Betina (♀)	107.43 ± 6.33	108.90 ± 5.78	108.48 ± 4.99	145.85 ± 15.06	202.79 ± 54.48	

Keterangan: PB=Panjang Badan, TG=Tinggi Gumba, TP=Tinggi Pinggul, LD=Lingkar Dada

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa sapi Bali memberikan respon positif terhadap perbaikan pakan dengan meningkatnya laju pertambahan bobot badan. Suyasa *et al.* (1998) melaporkan bahwa sapi Bali yang diberikan pakan berupa pakan tambahan seperti dedak dan probiotik bioplus mampu memberikan pertambahan bobot badan 0.56 – 0.68 per ekor per hari. Soemarmi *et al.* (1985) melaporkan laju pertambahan bobot badan sapi Bali mencapai 690 g/hari yang diberi pakan rumput dan pucuk tebu ditambah konsentrat 1%.

2.2. Status Reproduksi Sapi Bali

Reproduktivitas ternak memiliki arti yang sangat penting dalam usaha peternakan. Sifat-sifat reproduksi pada sapi potong yang mempunyai nilai ekonomi penting antara lain: umur pubertas dan perkawinan pertama, siklus estrus, *service per conception* (S/C), jarak beranak, perkawinan pertama setelah beranak, lama digunakan dalam *breeding* dan umur penyapihan pedet (Lasley 1981; Hardjosubroto 1994).

Arman *et al.*, (2006) melaporkan bahwa sapi Bali jantan mencapai pubertas rata-rata pada umur 20.40±4,07 bulan sedangkan sapi Bali betina pada umur 18.55±2.91 bulan. Fordyce *et al.* (2002) mendapatkan umur pubertas sapi Bali baik jantan maupun betina pada umur 12 - 24 bulan dengan bobot badan berkisar antara 100 - 150 kg.

Umur perkawinan pertama yang mampu menghasilkan kebuntingan pada sapi betina adalah pada umur 21.19 ± 3.60 bulan setelah melakukan perkawinan 2.15 kali (service per conception) (Arman *et al.* 2006). Fordyce *et al.* (2002) juga menemukan bahwa sapi Bali akan bisa bunting pada siklus birahi kedua sejak mencapai umur pubertas. Lama masa bunting sapi Bali berkisar antara 280-290 hari dan induk sapi yang telah beranak akan menunjukkan gejala birahi kembali setelah 1.75 ± 0.90 bulan dan jarak beranak rata-rata 14.21 bulan. *Calving rate* sapi Bali di NTB adalah sekitar 51.7% (Thalib *et al.* 2002), sedangkan hasil penelitian Arman *et al.* (2006) menunjukkan bahwa *calving rate* sapi Bali di NTB berkisar antara 63 - 78%.

2.3. Inseminasi Buatan dan Infertilitas Pada Sapi Bali

Inseminasi Buatan (AI) adalah teknik utama untuk meningkatkan mutu genetik ternak terutama untuk sifat-sifat yang memiliki nilai ekonomi tinggi pada sapi potong melalui distribusi semen dari sapi-sapi yang memiliki mutu genetik superior (Parmentier *et al.*, 1999). Dalam rangka meningkatkan percepatan kemajuan genetik, inseminasi buatan dapat dipadukan dengan teknik “marker assisted selection” dalam suatu konsep pemuliaan ternak sapi yang bersifat introgresif. Dalam beberapa dekade terakhir teknik ini telah menguasai sebagian besar pasaran dunia dalam bidang bioteknologi molekuler.

Di Nusa Tenggara Barat, Inseminasi buatan pada sapi Bali telah dilaksanakan sejak 1972, menggunakan semen beku import dari semen berbagai ras (Dradjat, 1999). Hal ini dilaksanakan dalam rangka meningkatkan kualitas genetik sapi Bali serta untuk meningkatkan produktifitas dan reproduktifitas per satuan ternak. Namun hingga saat ini program tersebut belum menunjukkan hasil yang signifikan, bahkan disinyalir bahwa dalam dasawarsa terakhir sapi bali menunjukkan penurunan performa produksi terutama berat badan yaitu sekitar 2,9 kg/ekor/tahun (Dwipa dan Sarwono, 1992) dan penurunan performa reproduksi terutama didaerah inseminasi buatan yang terlihat dari kelahiran pedet hanya mencapai 16,3 – 23,25% dari populasi betina produktif (Dradjat, 2002).

Optimalisasi reproduktivitas sapi dapat maksimal bila target jarak beranak 365 hari dapat dicapai. Jarak beranak satu tahun ini dapat memproduksi maksimum 75% sapi betina normal, umur produktif menghasilkan anak setiap tahun (Peter, 1996). Jarak beranak 365 hari tidak dapat dicapai, karena

disebabkan oleh anestrus post-partum atau *post-partum acyclic*, ketidak berhasilan atau kegagalan deteksi birahi dan rendahnya kesuburan setelah inseminasi.

Angka konsepsi dengan AI tergantung pada kuantitas dan kualitas semen yang dipengaruhi oleh lingkungan, manajemen, status fisiologis (khususnya hormon, seperti FSH, LH dan GH) dan faktor genetik (Mathevon et al., 1998). Konsentrasi sperma, motilitas dan tingkat sperma normal biasanya digunakan sebagai kriteria untuk evaluasi kualitas dari sperma (Colenbrander et al., 1993). Namun, tes laboratorium yang menguji kualitas sperma masih tidak dapat memprediksi kesuburan secara konsisten (Braundmeier dan Miller, 2001).

2.4. Marka Genetik dari Gen Pengontrol Sifat Produksi pada Sapi Bali

Beberapa *SNP* yang sudah ditemukan pada gen *GHR* dilaporkan berpengaruh terhadap berbagai proses metabolisme di dalam tubuh. Ekspresi gen *GHR* berhubungan erat dengan ekspresi mRNA *IGF-1* dalam hati dan level *IGF-1* dalam darah pada sapi (Kobayashi et al. 1999). *RFLP-Nsi1* pada daerah regulator gen *GHR* pada sapi berasosiasi dengan level serum *IGF-1* (Ge et al. 2003). Mutasi transisi A/G pada daerah *5'non coding* (Maj et al. 2004), daerah promotor (Garret et al. 2008), dan ekson 10 (Ge et al. 2000; Vitala et al. 2006) telah dilaporkan berasosiasi dengan sifat produksi pada beberapa bangsa ternak. Dengan demikian, gen *GHR* merupakan kandidat utama marka seleksi untuk sifat produksi pada sapi.

Beberapa *SNP* pada gen *IGF-1* juga dilaporkan berpengaruh terhadap berbagai proses metabolisme di dalam tubuh. *SNP* T/C pada posisi 512 bp sebelum kodon pertama (ATG) ekson 1 ditemukan pada sapi Angus. *SNP* ini berasosiasi dengan konsentrasi serum *IGF-1* dalam darah (Ge et al. 2001). Ini menunjukkan bahwa mutasi dapat mengubah level ekspresi gen *IGF-1*. Davis dan Simmen (2000) sebelumnya melaporkan bahwa sapi Angus jantan dengan konsentrasi *IGF-1* yang lebih rendah memiliki ketebalan lemak punggung yang lebih tinggi.

Gen *GHR* dan *IGF-1* berperan dalam menentukan bobot lahir dan pertumbuhan setelah lahir pada sapi Bali. Maskur et al. (2012a ; 2012b) menemukan beberapa *SNP* baru pada gen *GHR* (*SNP Nt241, Nt702, Nt755*) dan gen *IGF-1* (*SNP Nt17*) pada sapi Bali. Hasil analisis menunjukkan bahwa *SNP*

Nt241 dan *SNP Nt17* berasosiasi dengan sifat produksi seperti berat lahir, berat sapi dan rata-rata penambahan berat badan harian sehingga kedua *SNP* tersebut dapat digunakan sebagai marka seleksi pada sapi Bali.

2.4.1. Gen *Insulin-Like Growth Factor I (IGF-I)*

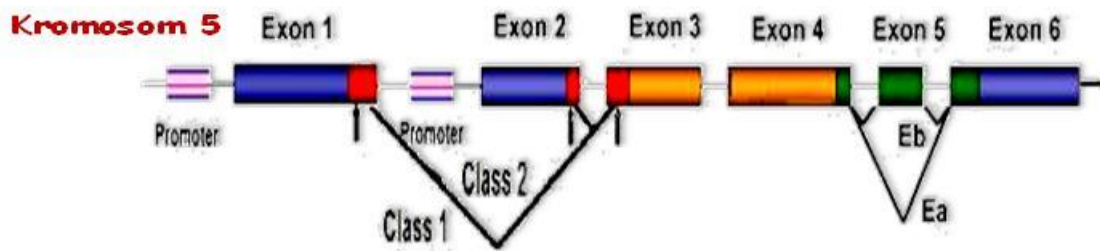
Insulin-Like Growth Factors (IGF-I and IGF-II) adalah faktor-faktor *pluripotent* yang mengatur pertumbuhan, diferensiasi dan pemeliharaan fungsi diferensiasi (Werner *et al.*, 1994), embryogenesis dan regulasi metabolisme (Siadkowska *et al.*, 2006). *IGFs* dihasilkan dalam jumlah besar oleh hati dan dikeluarkan ke dalam peredaran darah, dimana mereka berfungsi sebagai agen-agen endokrin klasik yang berinteraksi dengan permukaan sel reseptor yang spesifik yang ada pada jaringan target (Werner *et al.*, 1994). Pemurnian dan penjajaran sekuen asam amino mengungkap keberadaan dua molekul yang terpisah yaitu *Insulin-Like Growth Factor I and II*, yang ditandai oleh derajat homologi yang tinggi dengan hormon insulin (Rinderknecht dan Humbel, 1978).

IGF-I dan *IGF-II* berada dalam satu famili yang berhubungan secara struktural, termasuk hormon insulin dan relaksin. Anggota dari keluarga hormon ini memperlihatkan 40-50% homologi asam amino satu sama lain (Blundell *et al.*, 1983; Daughaday dan Rotwein, 1989; Sussenbach, 1989; Rechler dan Nissley, 1990; Werner *et al.*, 1994). *IGF-I* dan *IGF-II* menunjukkan ekspresi lebih luas pada perkembangan jaringan spesifik dibanding faktor pertumbuhan yang lain (Schofield, 1992; Schofield *et al.*, 1993), dan memainkan suatu peran yang sangat penting dalam memacu pertumbuhan embrio dan fetus (Engström *et al.*, 1998).

Struktur Gen *IGF-1*

Pada sapi gen *IGF-1* berlokasi pada kromosom 5 (Miller *et al.*, 1991 ; Bishop *et al.*, 1991). *IGF-1* adalah suatu polipeptida dengan berat molekul 7,5 kDa dengan 70 asam amino (Daughaday dan Rotwein, 1989). Pada manusia, babi, kambing, tikus dan ayam, sekuen nukleotida adalah sekitar 70 -90 kb (Rose, 2002). Jumlah ekson gen *IGF-1* berbeda antara species; sebagai contoh, kambing, babi dan domba memiliki 6 ekson (Mikawa, *et al.*, 1995), dan pada manusia dan tikus 5 ekson (Rotwein *et al.*, 1986). Wang *et al.*, (2003) melaporkan bahwa gen *IGF-1* sapi memiliki 6 ekson yang bertanggungjawab dalam

mengekspresikan mRNA. Sekuen asam amino dari *IGF-1* adalah identik pada manusia, sapi, anjing dan babi (Nixon *et al.*, 1999).



Gambar 1: Struktur Gene *IGF-1* pada kromosom 5 sapi

Gen *IGF-1* membentuk dua transkrip yang disebabkan oleh adanya dua alternatif “splicing” yaitu pada ekson 1 (*IGF-1* klas 1) dan pada ekson 2 (*IGF-1* klas 2). Transkrip *IGF-1* klas 1 dihasilkan dari transkripsi yang dimulai dari situs awal pada ekson 1 dengan mekanisme pelepasan sambungan sehingga memisahkan ekson 2 dari transkrip *IGF-1*. Transkrip *IGF-1* klas 1 ini mengandung 1155 nukleotida. Transkripsi *IGF-1* klas 2 dimulai dari situs awal transkripsi pada ekson 2 dengan mengeluarkan ekson 1 dari transkrip *IGF-1*. Transkrip *IGF-1* klas 2 ini mengandung 750 nukleotida (Lee, 2003).

Produksi kedua transkrip ini dikontrol oleh dua promotor yang berbeda yang masing-masing mengandung sekuen regulator -TATA- box dan -CCAAT- box (Jansen *et al.*, 1991). Ini menunjukkan bahwa transkrip dari kedua klas terekspresikan secara berbeda pada berbagai jaringan, dan paling banyak pada hati (Wang *et al.*, 2003). Pada semua jaringan yang diuji pada sapi, ekspresi *IGF-1* klas 1 lebih tinggi dari transkrip 2. Ini menunjukkan bahwa ekspresi *IGF-1* diatur dalam dua level transkripsi dan translasi (Wang *et al.*, 2003).

IGF-Binding Protein (IGFBP)

IGF-1 ditemukan dalam serum dan pada sebagian besar jaringan dan organ. *IGF-1* berasosiasi dengan pertumbuhan jaringan secara umum dan diproduksi di hati dibawah pengaruh dari hormon pertumbuhan. *IGF-1* diproduksi di hati dalam bentuk terikat dengan protein – *IGF-binding protein* (IGFBPs) yang berperan dalam sirkulasi, regulasi dan modulasi fisiologis dari aktivitas *IGF-1*. Di dalam darah, *IGFs* juga berasosiasi dengan enam spesifik *IGF-binding protein* (IGFBPs) (McCusker dan Clemmons, 1992), sebagian berasosiasi dengan

membran dan sebagian bersifat dapat larut (O'Dell dan Day, 1998). *IGF-binding protein* sudah dikarakterisasi pada berbagai species termasuk pada manusia dan mencit. *IGF-binding protein* mengatur kerja dari *IGF-1* melalui : 1) memperpanjang waktu paruh *IGF-1*, 2) mempengaruhi transport *IGF-1* dalam menyeberangi hambatan pembuluh darah, 3) modulasi ikatan dengan permukaan sel reseptor dan faktor pertumbuhan, dan 4) melokalisasi *IGF-1* pada tipe sel spesifik (Adam, 1998). Waktu paruh dari *IGF1* bebas dalam sirkulasi adalah kurang dari 10 menit, dengan berikatan dengan *IGFBP* waktu paruhnya dapat meningkat menjadi 30 – 90 menit dan meningkat menjadi 12 sampai 15 jam bila berikatan dengan *IGFBP* dan *acid labile subunit (ALS)*. *IGFBP* memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap *IGF-1* dibandingkan dengan *IGF* reseptor. Dengan demikian, *IGF-1* terlebih dahulu akan berikatan dengan *IGFBP* sehingga ketersediaan *IGF-1* bebas untuk reseptor menjadi lebih rendah. (Clemmons, 1999).

IGF-Receptors

IGFs menjalankan fungsi biologinya pada sel target dimediasi melalui dua tipe membran reseptor, yaitu *IGF*-reseptor tipe I dan tipe II (Engström dan Heath, 1988). Kedua tipe reseptor ditemukan pada sel otot pada manusia dan serangga. Reseptor tipe 1 memainkan peran utama untuk sebagian besar aktivitas biologi dari *IGF* (Lee, 2003). *IGF*-reseptor tipe I atau tipe II terdiri dari dua sub unit – α (ligand binding) dan dua trans membran sub unit - β yang mengandung domain *tyrosine kinase*. *IGF-1* berikatan dengan reseptor tipe 1 dan reseptor insulin dengan afinitas yang lebih rendah. *IGF-II* berikatan dengan afinitas yang lebih tinggi pada reseptor tipe II dan dengan afinitas yang lebih rendah pada reseptor tipe I (Pavelic *et al.*, 2007). Pengikatan *IGF*-reseptor tipe I atau tipe II diikuti dengan pengaktifan *intrinsic tyrosine kinase* dalam domain intraselluler dari subunit β yang kemudian mendorong terjadinya autofosforilasi tyrosine dan fosforilasi tyrosine dari beberapa substrat sitoplasma.

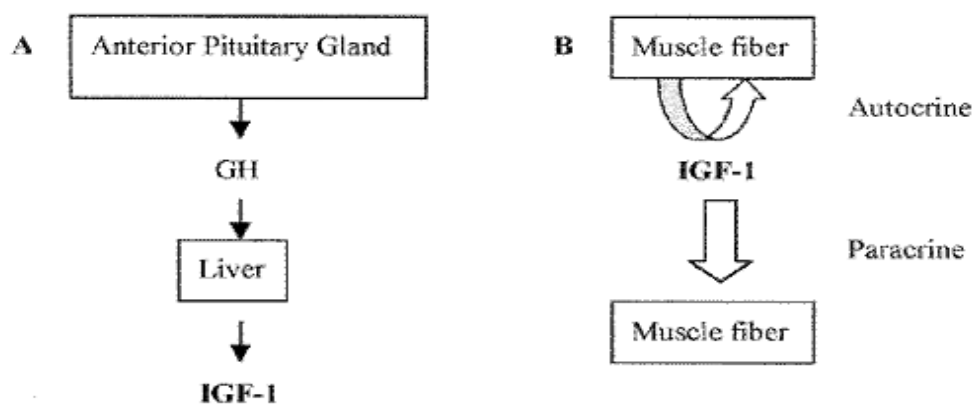
Dalam sirkulasinya, sebagian besar *IGF-1* berikatan dengan *IGFBP3* dan *ALS* membentuk kompleks *IGF-IGFBP*. *IGF-1* kemudian dilepaskan dari kompleks dan meninggalkan sirkulasi dan memasuki sel target melalui ikatan dengan reseptor *IGF-1*. Pengikatan *IGF-1* pada subunit α reseptor *IGF-1* menyebabkan perubahan pada konformasi dari reseptor yang kemudian menghasilkan

autofosforilasi subunit β dan menginduksi fosforilasi beberapa residu tyrosine pada protein sitoplasma.

Fisiologi Gen *IGF-1*

IGF-1 merupakan produk intermediet dalam hati melalui stimulasi hormon pertumbuhan, kemudian dibawa ke berbagai jaringan termasuk jaringan otot, ginjal dan menginduksi pertumbuhan dan perkembangan. Stimulasi sekresi *IGF-1* oleh hormon pertumbuhan ini dikenal sebagai *somatomedin hypotesis*. *IGF-1* juga menunjukkan aktifitas *autocrine* dan *paracrine* (Werner et al., 1994), dimana *IGF-1* menunjukkan ekspresi secara lokal dan disekresikan secara independen/tidak tergantung pada hormon pertumbuhan. *Autocrine* adalah suatu bentuk ekspresi *IGF-1* dimana *IGF-1* disekresikan dan diekspresikan pada sel yang sama, sedangkan *paracrine* adalah suatu bentuk ekspresi *IGF-1* dimana target sel berada didekat sel yang menghasilkan *IGF-1*.

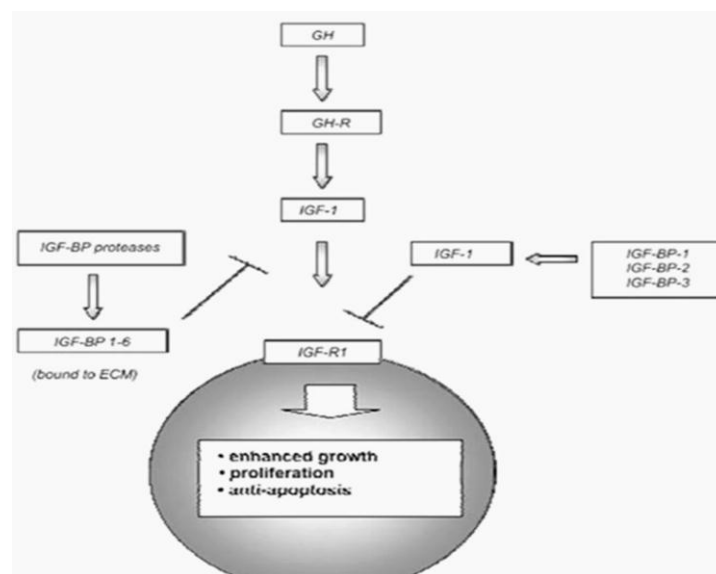
Gen *IGF-1* berperan dalam proses embriogenesis sehingga gen ini merupakan salah satu faktor kunci yang menentukan berat lahir. Peran fundamental dari gen *IGF-1* dalam mengatur berat lahir dan terutama dalam perkembangan sel otot sudah ditunjukkan menggunakan teknologi gen “knockout” pada tikus percobaan. Penghapusan gen *IGF-1* pada tikus dapat menurunkan berat lahir sebesar 40% dari berat normal dan dapat menyebabkan kematian pada umur 6 hari setelah kelahiran (Liu et al., 1993). Gen *IGF-1* merupakan faktor kunci dalam proses perkembangan awal dengan mendorong fungsi diferensiasi berbagai tipe sel, termasuk sintesis matrik ekstraselluler seperti fibronectin, collagen dan glycosaminoglycan (Hill, 1996).



Gambar 2 : Sekresi IGF-1. A . Somatomedin hypothesis. B. Autocrine / Paracrine action in muscle fiber (Lee, 2003)

Regulator utama pertumbuhan setelah lahir adalah gen hormon pertumbuhan (growth hormone gene), dimana gen ini menstimulasi hati untuk mensintesis dan mengontrol sirkulasi *IGF-1*. Gen *IGF-1* kemudian memegang peranan penting dalam mengatur pertumbuhan setelah lahir. Peran yang signifikan dari gen *IGF-1* dalam menginduksi hypertrophy sel otot sudah ditunjukkan dalam berbagai penelitian. Infusi secara langsung *IGF-1* pada otot Tibialis Anterior (TA) dapat meningkatkan massa otot, kandungan protein dan DNA pada tikus percobaan (Adam & McCue, 1998), dimana *IGF-1* menstimulasi regenerasi sel melalui aktivasi sel satelit (Barton *et al.*, 1999). Ekspresi yang berlebihan (overexpression) gen *IGF-1* juga dilaporkan menyebabkan hypertrophy yang signifikan pada myofiber (Coleman *et al.*, 1995).

Puasa dan pembatasan diet energi atau protein menginduksi penurunan yang signifikan level *IGF-1* pada serum dan meningkatnya sekresi hormon pertumbuhan pada manusia, babi, domba dan sapi (Thissen *et al.*, 1994) Meskipun sekresi hormon pertumbuhan tinggi, level *IGF* serum adalah rendah, indikasi bahwa kondisi ini menggambarkan keadaan resistensi *GH* yang mungkin berasosiasi dengan hilangnya reseptor *IGF-1* hati, reduksi mRNA *IGF-1* atau reduksi reseptor *GH* (Thissen *et al.*, 1994).



Gambar 3 : Interaksi antara growth hormone (GH), growth hormone receptor (GHR), insulin-like growth factor I (IGF-I) dan insulin-like growth factor binding proteins (IGF-BPs).

Hasil penelitian pada beberapa bangsa sapi menunjukkan bahwa level *IGF-1* dalam darah berhubungan dengan proliferasi sel dan pertumbuhan. Level *IGF-1*

dalam darah lebih tinggi secara signifikan pada sapi potong simental dibandingkan dengan sapi perah Holstein, dan perbedaan level ini diketahui berhubungan dengan kecepatan pertumbuhan (Schlee *et al.*, 1994 ; Sirotkin *et al.*, 2000). Asosiasi antara level *IGF-1* yang tinggi dalam darah dengan pertumbuhan yang cepat pada sapi juga dilaporkan oleh peneliti-peneliti lain seperti Istasse *et al.*, (1990), Yelich *et al.*, (1990), dan Barash *et al.*, (1998). Hasil yang berbeda dilaporkan oleh David dan Simmen (1997) dan Ge *et al.*, (2001) dimana terdapat korelasi yang negatif antara level *IGF-1* dalam darah dengan berat badan pada sapi Angus.

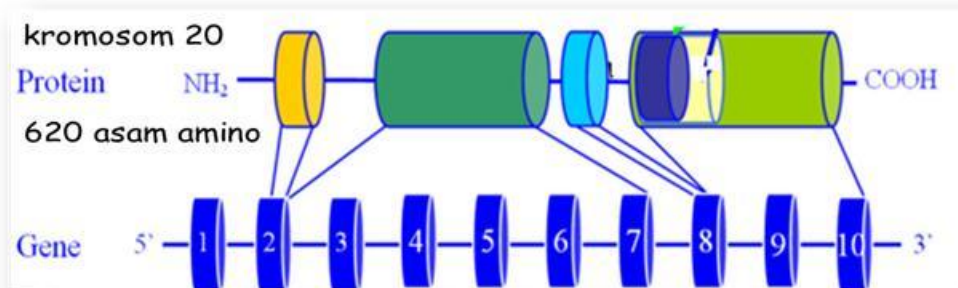
Polimorfisme sekuen nukleotida gen *IGF-1* sapi dan hubungannya dengan kecepatan pertumbuhan sudah banyak dilaporkan. Polimorfisma mikrosatelit pada daerah pengapit '5 dan SSCP pada intron 3 sudah dilaporkan oleh Kirkpatrick (1992 dan 1993). Pada sapi Hereford polimorfisma mikrosatelit ditunjukkan berasosiasi dengan berat lahir, berat sapih dan kecepatan pertumbuhan (Moody *et al.*, 1994, 1996). SSCP juga ditemukan pada daerah pengapit '5 gen *IGF-1* oleh Ge *et al.*, (1997) pada sapi Angus. Polimorfisma ini kemudian teridentifikasi sebagai RFLP- SnaB1 yang berlokasi pada sekuen regulator 512 bp dari kodon awal (initiation codon) dan diketahui disebabkan oleh mutasi transisi T/C (Ge *et al.*, 2001). Li *et al.*, (2004) menemukan dua alel dan tiga genotipe. Alel A (nt pada posisi 472) memiliki frekuensi yang lebih tinggi dari alel B (nt C pada posisi 472) untuk kandungan *IGF-1* yang tinggi dalam darah.

2.4.2. Gen *Growth Hormone Receptor (GHR)*

Growth Hormone (GH) sudah terbukti sebagai regulator utama pertumbuhan postnatal dan metabolisme pada mammalia dan mempengaruhi kecepatan pertumbuhan, komposisi tubuh, kesehatan, produksi susu dan lama mengering melalui modulasi ekspresi beberapa gen seperti *IGF-1*. *GHR* memediasi aktivitas biologi dari *GH* pada target sel melalui transduksi *myogenic stimulating signal* menyeberangi membran sel dan menginduksi transkripsi banyak gen, termasuk *IGF-1* (Listrat *et al.* 2005). Mutasi pada gen *GHR* dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan pada manusia yang dicirikan oleh resistensi *GH* atau *GH insensitif*. Mutasi *GHR* dapat menonaktifkan *GH* dengan menghambat proses dimerisasi (Cunningham *et al.* 1991).

Struktur Gen *Growth Hormone Receptor*

Growth Hormone Receptor (*GHR*) merupakan anggota dari superfamili dari reseptor cytokine/haematopoietin. Famili dari reseptor ini terdiri atas *hormones like prolactin, erythropoietin, interferons, dan interleukins 3 - 7* (Carter-Su *et al.* 1997). *Growth Hormone Receptor* (*GHR*) terdiri atas sebuah domain ekstraselluler *ligand-binding*, sebuah domain transmembrane dengan 24 asam amino dan sebuah domain intraselluler dengan aktivitas *intrinsic tyrosine kinase* (Kopchick *et al.* 2000). Pada sapi, *GHR* dikode oleh gen tunggal yang berlokasi pada kromosom 20 (Moody *et al.* 1995; Moisio *et al.* 1998) terdiri atas 9 ekson pengkode (ekson 2-10) dan beberapa alternatif ekson bukan pengkode (Jiang dan Lucy 2001). *GHR* pada manusia terdiri atas 10 ekson yang mengkode sekitar 620 asam amino sepanjang membran. Ekson pertama tidak mengkode asam amino. Ekson 2 mengkode 18 signal peptida dan ekson 3 sampai 7 mengkode 246-asam amino domain ekstraselluler. Ekson 8 mengkode 24-aa segmen *transmembrane*, dan ekson 9 - 10 untuk 350-aa domain sitoplasmik. *GHR* pada tikus terdiri atas 11 ekson pengkode. Sembilan diantaranya memiliki ukuran dan sekuen yang sama dengan *GHR* pada manusia.



Gambar 4. Struktur gen *GHR* pada kromosom 20 sapi (Longmire dan Wajrajch 2010)

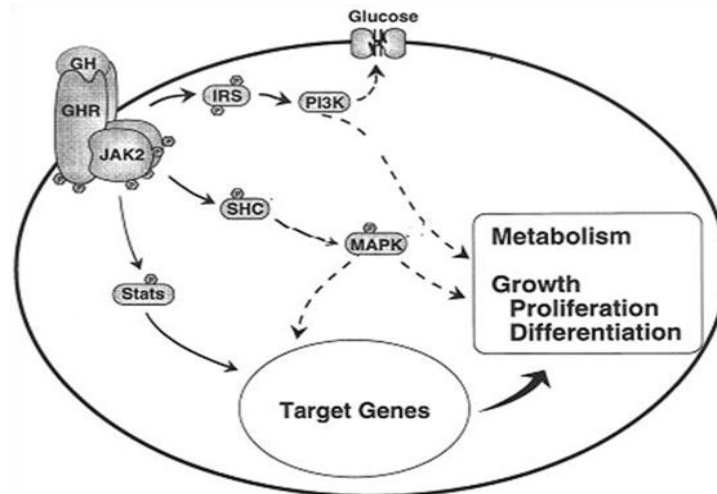
Fisiologi Gen *Growth Hormone Receptor*

Growth Hormone bekerja melalui reseptornya (*GHR*) dengan berbagai jalur signal transduksi pada sel target. *Growth Hormone* mendorong asosiasi reseptor *GH* dengan tirosin kinase *JAK2* (janus kinase 2), mengaktifkan *JAK2* dan mendorong posforilasi reseptor *GH* dan *JAK2* pada ujung tirosin. Sejumlah protein signal yang berada pada bagian hilir (downstream) dari *JAK2* sudah teridentifikasi sesuai dengan kemampuannya berikatan dengan tirosin terposforilasi pada kompleks reseptor *GH/JAK2*. Protein ini meliputi : 1) *Signal transducers and activators of transcription* (Stat) 1, 3, dan 5, yang sudah diketahui berimplikasi

sebagai regulator transkripsi berbagai gen 2) *Insulin receptor substrate (IRS) 1*, yang memediasi beberapa efek metabolik dari *GH*, dan 3) *Shc proteins*, yaitu protein yang berimplikasi terhadap regulasi pertumbuhan sel dan diferensiasi (Carter-Su *et al.* 1997).

Growth Hormone Receptor (GHR) memiliki peran sentral dalam metabolisme dan reproduksi pada hewan. Jumlah *GHR* menentukan tingkat aktivitas *GH* dalam jaringan. Jumlah *GHR* juga menentukan jumlah *IGF-I* yang disintesis dan dilepaskan sebagai respon terhadap *GH*. Penurunan jumlah *GHR* terjadi pada saat melahirkan. Pembatasan pakan dapat menurunkan tingkat mRNA *GHR* dan terjadi setelah tujuh hari pembatasan pakan. Jadi asupan pakan mengontrol ekspresi *GHR* setelah kelahiran (postpartum). Radcliff *et al.* (2004) menemukan bahwa kontrol metabolik *GHR* dan *IGF-I* berbeda antara hati dan jaringan reproduksi. Konsentrasi mRNA *GHR* dan *IGF-I* meningkat dalam jaringan uterus pada saat estrus.

Beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa mutasi delesi pada gen *GHR* mengakibatkan disfungsi dari reseptor dan menyebabkan *Laron Syndrome* yang ditunjukkan dengan pertumbuhan yang lambat, *trunkal obesity*, *insulin resistance* dan *hyperinsulinemia*. Defisiensi *GHR* ($GHR^{-/-}$) pada tikus menyebabkan kelambatan pertumbuhan, *proportionate dwarfism*, dan penurunan konsentrasi serum *Insulin Like Growth Factor-1(IGF-I)*. $GHR^{-/-}$ pada tikus juga diketahui dapat menurunkan level glukosa dan insulin, meningkatkan sensitivitas insulin dan menurunkan toleransi glukosa. Pada level molekuler, ketersediaan reseptor insulin dan fosforilasi *Insulin-Stimulated Receptor* meningkat di dalam hati pada tikus $GHR^{-/-}$. Hasil penelitian ini merupakan indikasi yang sangat kuat bahwa *GHR* terlibat dalam pertumbuhan sel, kerja insulin, produksi glukosa, homeostasis dan fungsi dari pankreas (Carter-Su *et al.* 1997).



Gambar 5. Aktivitas *GH* pada sel target melalui ikatan dengan *growth hormone (GH) receptor* mengaktifkan *JAK2*. *JAK2* memfosforilasi dan mengaktifkan transcription factors protein *Stat*, *SHC* dan *IRS* (Carter-Su *et al.* 1997).

Perubahan sekuen asam amino yang disebabkan oleh mutasi pada gen *GHR* berpengaruh terhadap aktivitas gen *GH*. Mutasi sekuen asam amino pada daerah ekstraselluler gen *GHR* mengakibatkan kerusakan pada ikatan dengan *GH*, sedangkan mutasi pada daerah intraselluler akan mengganggu proses signal dari *GHR* itu sendiri. Goujon *et al.* (1994) melaporkan bahwa substitusi asam amino prolin pada alanin di beberapa posisi sekuen *GHR* tidak mengubah aktivitas *GHR*, tetapi penggantian empat prolin dengan alanin mengakibatkan hilangnya aktivitas *GH*. Liao *et al.* (2003) melaporkan bahwa penggantian serin dengan tirosin pada posisi 332 dapat meningkatkan sintesis protein selluler sebesar 259.4 %, sedangkan penggantian tirosin dengan histidin pada posisi 168 meningkatkan sintesis protein selluler sebesar 56.8 %.

SNP yang, sudah ditemukan hingga saat ini sekitar 39 yang disebabkan oleh terjadinya mutasi sepanjang gen *GHR* (Waters *et al.* 2010). Blot *et al.* (2003) menemukan 10 *SNP* sepanjang gen *GHR* pada sapi Jersey dan Holstein. Empat *SNP* diantaranya berada pada daerah intron (dua *SNP* pada intron 2 yang disebabkan oleh mutasi delesi dan transisi T/C, satu *SNP* pada intron 8 yang disebabkan oleh mutasi transversi T/G dan satu *SNP* pada intron 9 yang disebabkan oleh mutasi transisi A/G), satu *SNP* yang disebabkan oleh mutasi transisi C/T berada pada posisi 3'UTR dan tiga *SNP* pada ekson 10 yang disebabkan oleh mutasi yang sama yaitu transisi C/T. Dua *SNP* terakhir merupakan mutasi non sinonim (missense mutation) yaitu transversi T/A pada

ekson 8 yang menyebabkan penggantian fenilalanin dengan tirosin dan transversi A/C pada ekson 10 yang menyebabkan penggantian asparagin dengan threonin.

Ge *et al.* (2000) menemukan 4 *SNP* pada ekson 10 gen *GHR* pada sapi Angus. *SNP* ini berlokasi pada posisi 76 bp (T/C), 200 bp (G/A), 229 bp (T/C) dan 257 (A/G). *SNP* pada posisi 200 bp dan 257 bp merupakan mutasi non sinonim (missense mutation) yang menginduksi perubahan sekuen asam amino protein dimana alanin menjadi threonin (Ala/Thr) dan serin menjadi glisin (Ser/Gly), sedangkan *SNP* pada posisi 76 dan 229 bp merupakan mutasi senyap (Silent mutation).

Beberapa mutasi yang ditemukan pada gen *GHR* ini dilaporkan berpengaruh terhadap berbagai proses metabolisme di dalam tubuh. Ekspresi gen *GHR* berhubungan erat dengan ekspresi mRNA *IGF-1* dalam hati dan level *IGF-1* dalam darah pada sapi. *RFLP-Nsi1* pada daerah regulator gen *GHR* pada sapi berasosiasi dengan konsentrasi *IGF-1* dan level serum *IGF-1* (Ge *et al.* 2003).

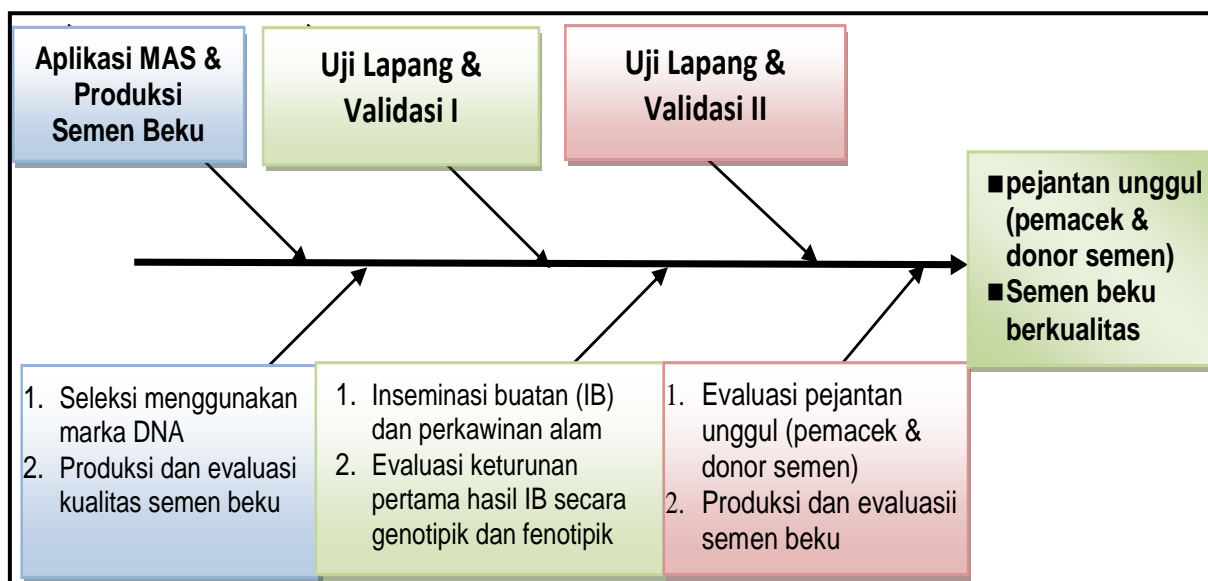
Asosiasi antara polimorfisme pada *GHR* dengan sifat produksi dan karkas sudah ditemukan pada beberapa bangsa sapi. Mutasi transisi A/G pada daerah *5'non coding* (Maj *et al.* 2004), daerah promotor (Garret *et al.* 2008), dan ekson 10 (Ge *et al.* 2000; Viitala *et al.* 2006) telah dilaporkan berasosiasi dengan sifat produksi seperti kecepatan pertumbuhan dan sifat karkas pada beberapa bangsa sapi potong seperti Limousin, Charolais dan Hereford.

BAB III. PETA JALAN PENELITIAN

Penelitian pada level DNA genom khususnya pada lokus-lokus sifat yang bernilai ekonomis (QTL) terkait dengan **pengembangan marka pembantu seleksi** (Marker Assisted Selection/MAS) yang sudah dilakukan oleh pengusul dalam beberapa tahun terakhir adalah :

1. 2006 – 2007 : Identifikasi Genetik Menggunakan Marker Mikrosatelit dan Hubungannya dengan Sifat Kuantitatif pada Sapi
2. 2007 – 2008 : Marka seleksi dari kandidat gen Pit-1, Leptin dan GH untuk sifat produksi pada sapi Bali (Penelitian KKP3T)
3. 2009 – 2011 : Marka genetik dari gen pengkode Growth Hormone, Growth Hormone Receptor dan Insulin Like Growth Factor-1 untuk sifat produksi pada sapi Bali (Penelitian Hibah Bersaing)

Adapun “Roadmap” utama pelaksanaan penelitian yang diusulkan kedepan adalah sebagai berikut :



Gambar 6. Sistematika Penelitian Diagram Tulang Ikan (*fishbone diagram*)

BAB IV. MANFAAT PENELITIAN

Adapun manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah :

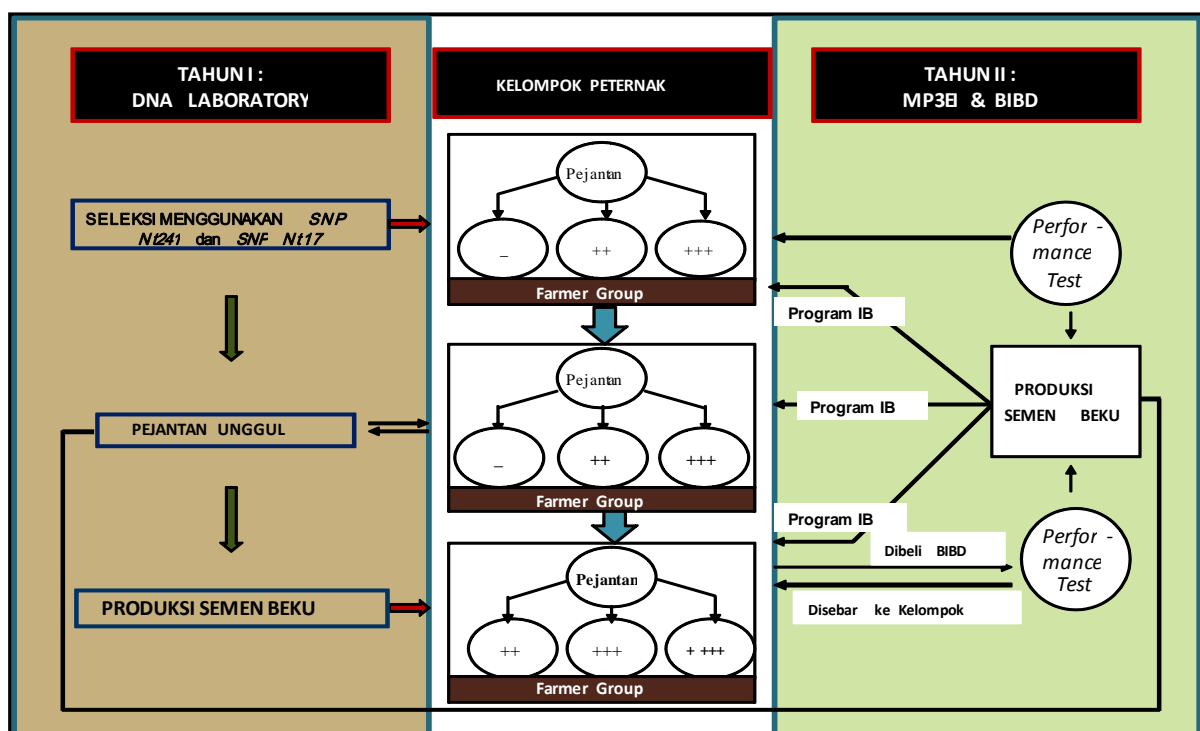
- 1) Menjamin ketersediaan pejantan unggul sebagai pemacek pada kelompok-kelompok peternak dan sebagai donor semen berkualitas untuk inseminasi buatan
- 2) Dapat memenuhi sendiri kebutuhan semen beku berkualitas untuk mendukung program inseminasi buatan di NTB
- 3) Mempercepat pertumbuhan populasi dengan pemenuhan kebutuhan akan sapi bakalan berkualitas
- 4) sebagai masukan dalam rangka percepatan pertumbuhan populasi dan perbaikan mutu genetik sapi Bali melalui aplikasi teknologi reproduksi dan marka genetik dalam program pemuliaan (breeding)

BAB V. METODE PENELITIAN

Penelitian ini akan dilakukan dalam 2 tahun, yaitu : 1) aplikasi MAS dan produksi semen beku, dan 2) uji lapang dan validasi I

5.1. Bagan Alir Penelitian

Tahapan kegiatan penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada bagan alir penelitian berikut ini



Gambar 7. Bagan alir penelitian

5.2. Prosedur Penelitian Tahun II

Penelitian pada tahun ke-2 ini adalah dalam rangka uji lapang dan validasi hasil penelitian pada tahun I

Penelitian periode kedua (Tahun II) : Semen beku yang dihasilkan dari pejantan-pejantan yang terseleksi secara genetik pada penelitian tahun pertama akan diuji lapang pada peternakan rakyat (kelompok-kelompok peternak) melalui Inseminasi buatan. Semen beku masing-masing kelompok genotipe yang berbeda akan di IB pada kelompok-kelompok peternak yang berbeda. Keturunan pertama

(FI) yang dihasilkan kemudian akan divalidasi secara genetik dan fenotipik untuk menghasilkan calon-calon pejantan unggul

5.2.1. Inseminasi Buatan pada Peternakan Rakyat

Evaluasi Kualitas Semen Beku Pasca Leleh

Penilaian semen beku dilakukan di Laboratorium Imunobiologi Universitas Mataram. Penilaian dilakukan untuk mengetahui perubahan kualitas semen beku dari masing-masing genotype ternak setelah pelelehan 0 menit, 30 menit, 60 menit dan 90 menit. Dua straw semen beku diambil dari dalam kontainer kemudian dicairkan kembali di dalam penangas air (37°C) selama 10 detik. Sampel semen dituang ke dalam tabung reaksi, kemudian diambil dengan pipet Pasteur dan satu tetes kecil diletakkan di atas slide kaca hangat untuk dilakukan pemeriksaan dan penilaian spermatozoa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Ambang batas motilitas spermatozoa pasca-leleh sebesar 50% adalah yang akan direkomendasikan untuk pemakaian IB.

Adapun beberapa parameter yang dievaluasi adalah motilitas, viabilitas (hidup-mati) dan morfologi spermatozoa setelah pembekuan (*post-freezing*) dan lain-lain. Untuk itu maka sebagian sampel semen diambil untuk dibuat preparat apus. Pembuatan preparat apus dilakukan dengan cara mencampur 50 µl zat warna Nigrosin-eosin dengan 150 µl semen (1:3). Larutan pewarna ini diaduk rata, lalu ditetaskan di atas slide kaca hangat dan dengan bantuan slide kaca lainnya tetesan didorong kedepan sehingga membentuk preparat apus. Pemeriksaan hidup-mati dan penilaian morfologi sperma dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali.

Penilaian mikroskopis meliputi:

- a) *Motilitas massa*, ditentukan dalam waktu 10-15 menit dari sejak penampungan semen. Motilitas makro/massa ditentukan secara subyektif dengan memeriksa semen yang tidak dicairkan pada *glass slide* hangat dan kemudian diperiksa dengan mikroskop fase-kontras perbesaran 400X.
- b) *Motilitas progresif* (individu) diperiksa secara subyektif setelah mengencerkan semen dengan satu atau dua tetes penyangga sitrat (pH 6.9) pada *glass slide* yang kemudian ditutup dengan *cover slip* dan memeriksanya di bawah mikroskop fase-kontras menggunakan perbesaran tinggi.

Penilaian motilitas dilakukan dengan memberikan skor (pembobotan) dari 0 - 5 berdasarkan kriteria berikut:

0	0%	Tidak ada motilitas;
1	1 – 20%	Sperma menunjukkan sedikit gerakan bergelombang; sebagian besar lemah dan

		bergerak di tempat;
2	20 – 40%	Sperma menunjukkan sedikit atau tidak terbentuk gerakan gelombang dan gerakan yang berlawanan arah; kemungkinan didapati sejumlah sperma yang tidak aktif;
3	40 – 60%	Sperma menunjukkan motilitas progresif; gerakan yang hebat; terbentuk gerakan gelombang perlahan dan berlawanan arah;
4	60 – 80%	Sperma menunjukkan motilitas progresif; terbentuk gerakan gelombang dan berlawanan arah yang sangat cepat;
5	80 – 100%	Sperma menunjukkan gerakan yang dahsyat dan progresif; terbentuk gerakan yang berlawanan arah dan gerakan yang sangat cepat

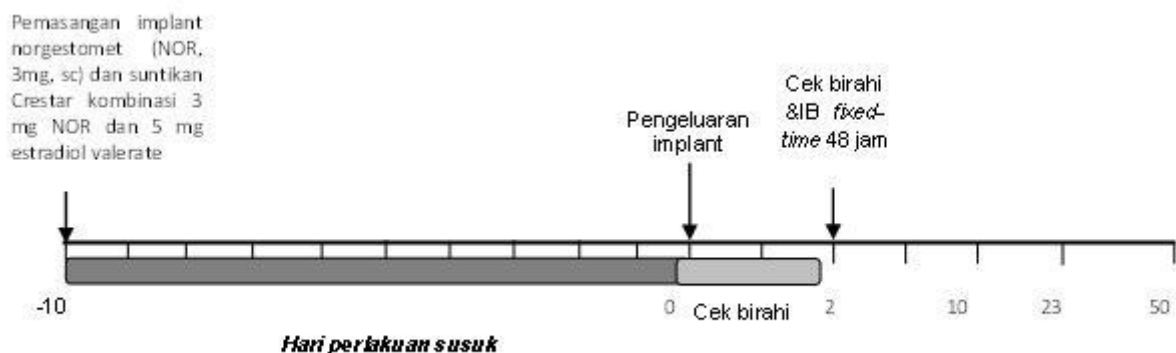
Hanya ejakulat yang mengandung paling sedikit 70 persen spermatozoa yang motil secara progresif atau skor 4 yang diterima untuk diproses lebih lanjut

- c) *Konsentrasi sel sperma per ml semen.* Konsentrasi sel sperma per ml semen dihitung menggunakan alat haemocytometer pada sampel semen yang telah diencerkan (1:200). Sampel semen yang telah diencerkan diisap ke dalam pipet sel darah merah standar lalu dilakukan penghitungan sel langsung pada hemocytometer improved Neubauer. Cairan pengencer terdiri atas larutan eosin lemah terbuat dari 50 ml air suling, 1 ml 2% eosin dan 1 ml 3% larutan NaCl
- d) *Jumlah spermatozoa hidup dan normal.* Jumlah sperma hidup-mati dan kelainan morfologi kepala dinilai menggunakan teknik pewarnaan vital eosin-nigrosin yang disiapkan segar pada pulasan (*smear*) semen segar Sebanyak 10 µl aliquot semen diletakkan di atas *glass slide* mikroskop, kemudian ditambahkan campuran pewarna nigrosin-eosin, secara perlahan-lahan diaduk merata lalu dengan bantuan *glass slide* lainnya dibentuk pulasan (*smear*) di atas *glass slide* pertama Smear selanjutnya dikeringkan dengan pengering rambut (*hair drier*) Jumlah spermatozoa hidup dan normal ditentukan dengan menghitung minimum 200 spermatozoa pada *glass slide*
- e) *Morfologi.* Morfologi individu spermatozoa ditentukan dengan memeriksa sampel semen yang diencerkan dalam 02% gluteraldehyde dalam PBS atau buffered formol saline, lalu diteteteskan di atas *glass slide* yang diberi *cover-slip* dan diperiksa di bawah mikroskop fase-kontras (perbesaran 400X), atau dengan membuat pulasan pewarnaan eosin-nigrosin pada *glass slide* yang diberi minyak imersi dan diperiksa di bawah mikroskop fase-kontras (perbesaran 1000X) Kelainan-kelainan morfologi individu spermatozoa - dihitung paling sedikit pada 400 sperma -diklasifikasikan ke dalam satu dari lima kategori berikut: (1) morfologi normal; (2) abnormalitas kepala; (3)

abnormalitas *mid-piece*; (4) abnormalitas ekor; atau (5) adanya tetesan sitoplasma. Morfologi dihitung paling sedikit pada 400 sperma

Sinkronisasi Estrus dan Pelaksanaan Inseminasi Buatan

Sinkronisasi birahi dilakukan dengan pemberian susuk (*implant*) berisi 3 mg progestogen sintetis norgestomet (17α -acetoxy- 11β -methyl-19-norpreg-4-en-3,20 dione) secara subkutan di bagian luar telinga sapi. Bersamaan dengan itu, sapi diberi suntikan secara intramuskuler 3 mg norgestomet dan 5 mg estradiol valerate (Crestar[®], Intervet, Australia Pty Ltd Castle Hill, NSW). Pemasangan susuk dan pemberian suntikan tersebut dilakukan pada hari minus 9 (-9) atau minus 10 (-10). Selanjutnya pada hari ke 0 dari program sinkronisasi estrus, susuk dikeluarkan dari telinga sapi. Pengamatan birahi sapi dilakukan 48 jam kemudian (hari kedua) dan sampai 72 jam (hari ketiga) sesudah pencabutan susuk (Arman et al, 2001). Gejala-gejala birahi sapi akan tampak sangat jelas yaitu keluarnya lendir (mucus) jernih dari vulva, bagian dalam vulva berwarna kemerahan dan vulva mengalami pembengkakan. Selain itu, selera makan dari semua sapi yang memperlihatkan tanda-tanda estrus menurun. Tanda-tanda birahi ini bertahan hingga 72 jam. Pada saat respon sinkronisasi birahi sapi mencapai angka 100 persen, memungkinkan operator atau petugas inseminasi memasukkan pipet inseminasi (insemination gun) dengan mudah dan lancar hingga posisi IV (sedikit dibagian ujung anterior dari cervix dekat dengan badan uterus).



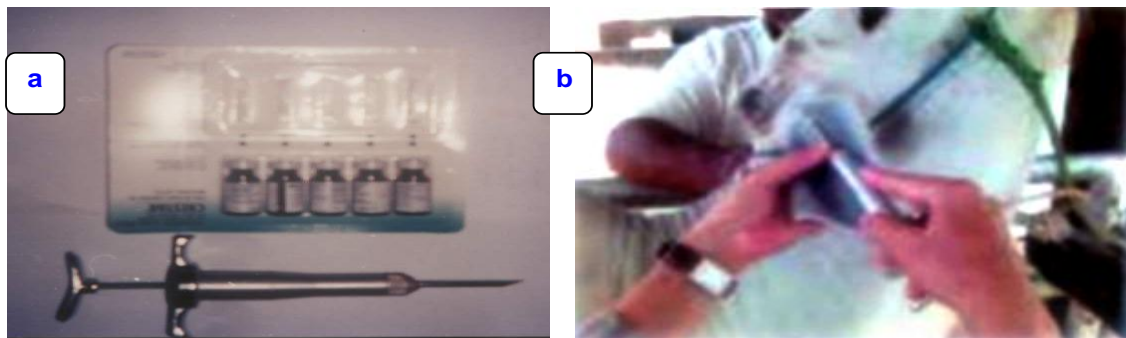
Gambar 8. Prosedur sinkronisasi birahi pada sapi

Prosedur Kerja Pemasangan Crestar®

Pemasangan susuk (implant) Crestar secara subcutan (di bawah kulit) dilakukan melalui langkah-langkah berikut :

1. Pertama, kulit telinga luar bagian atas di daerah tulang rawan digosokkan kapas yang telah dibasahi alkohol 70%, lalu di daerah tadi dibuat sayatan kecil menggunakan skalpel steril. Melalui sayatan tadi selanjutnya dimasukkan implanter (pemasang susuk) sehingga terbentuk saluran kecil antara kulit dan tulang rawan. Setelah itu implanter dicabut.
2. Setelah dicabut, bagian ujung implanter yang berlubang dipasangi susuk yang diambil dari kemasannya. Implanter dimasukkan kembali di bawah kulit berlubang tadi. Selanjutnya tangkai implanter didorong kedepan sampai susuk terlepas dan berada dibawah kulit telinga. Bekas luka sayatan didesinfeksi memakai Betadin, dan ditutup dengan Tensoplast. Susuk dibiarkan terpasang di telinga selama 9 atau 10 hari.
3. Setelah selesai implanter dicabut dari telinga sapi dan dibersihkan dengan air panas, digosok dengan kapas beralkohol, akhirnya dimasukkan kedalam kotak penyimpanannya.

Implanter dan preparat hormonal serta teknik pemasangan susuk Crestar pada telinga sapi dapat dilihat pada Gambar berikut



Gambar 9. a) Implanter beserta susuk norgestomet dan Crestar Injection; b) Pemasangan susuk menggunakan alat implanter pada telinga sapi

Bersamaan dengan selesainya pemasangan susuk, sapi Hissar diberi 2 ml Crestar injection yang mengandung kombinasi 3 mg norgestomet dan 5 mg estradiol valerate secara intramuskular di daerah leher bagian anterior. Setelah terpasang selama 9 atau 10 hari, maka implant dicabut atau dikeluarkan dari telinga sapi.

Adapun variable-variabel yang akan diamati pada tahapan ini adalah :

- Non-return rate (NR)

- Conception rate (CR)
- Service per conception (S/C)
- Calving rate
- Lama kebuntingan dan Sex

5.2.2. Evaluasi Genotipe Keturunan Pertama (F1) sapi Bali

Analisis *SNP Nt241* dan *SNPNt17*

Penentuan genotipe masing-masing individu didasarkan pada *SNP Nt241* dan *SNPNt17*. Genotyping dilakukan dengan mengamplifikasi fragmen-fragmen gen yang mengandung SNPs menggunakan mesin PCR kemudian melakukan pemotongan fragmen-fragmen gen tersebut menggunakan enzim restriksi spesifik Adapun komponen reaksi dalam pemotongan fragmen gen hasil amplifikasi PCR terdiri dari : 4 µl DNA produk PCR ditambahkan 0,5µl enzim restriksi (5U) ; 0,5µl buffer enzim dan 5 µl milique water sampai volume 10 µl, Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 16 jam Elektroforesis dilakukan dengan gel agarose pada konsentrasi 2% dan dijalankan pada tegangan 100 volt selama 30 - 45 menit Hasil elektroforesis diamati dan difoto dengan bantuan UV trans iluminator (Alpha Imager)

Table 3. Sekuen primer yang digunakan untuk meng Analisis *SNP Nt241* dan *SNPNt17*

Primer	Sekuen DNA	Posisi dalam gen	Suhu penem pelan	Sumber
<i>IGF-I</i>	F: 5' -CCACTCTAAAGCTAGGCCTCTCTC-3' R: 5' -GAAGTCTATGAGGGTATGAAT-3'	Intron 3-Ekson 4-Intron 4 (56127 - 56470 bp)	60°C	Reyna <i>et al.</i> (2010)
<i>GHR</i>	F: 5' -GGGCTAGCAGTGACATTATT- `3 R: 5' -ACCTCTGGGTCTTGGGAATAAA- `3	Exon 8- intron 8 (170271 - 170611 bp)	56 °C	Oikonomou <i>et al.</i> (2008)

5.2.3. Analisis Statistik-- menggunakan program *Statistic Analysis System (SAS)* dengan prosedur *General Linear Model (GLM)*

Assosiasi antara genotipe dengan sifat pertumbuhan pada masing-masing periode pemeliharaan dianalisis menggunakan program *Statistic Analysis System (SAS)* dengan prosedur *General Linear Model (GLM)* dan rata-rata kuadrat terkecil (least square means) dari genotipe masing-masing gen akan dibandingkan menggunakan F-test (SAS Institue Inc., 1999)

BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN

6.1. PRODUKSI DAN EVALUASI SEMEN BEKU

6.1.1. Penilaian Spermatozoa Segar Secara Makroskopis dan Mikroskopis

Produksi semen beku pejantan sapi Bali genotipe CT/GG dan CC/AG dilakukan untuk kebutuhan uji lapang. Semen beku yang diproduksi dari masing genotype adalah sebanyak 250 straw yang kemudian akan disebar di beberapa wilayah IB di kabupaten Lombok Barat, antara lain : Gerung, Banyumulek, Kediri, Lembar dan Labu Api.

Tabel 4. Kualitas Spermatozoa Segar Sapi Bali Jantan Berdasarkan Kelompok Genotipe Gen *IGF-1/Rsa1*

KARAKTERISTIK	GENOTIPE TERNAK		
	CT/GG	CC/AG	TT/AA
Volume (ml)	4,85	3,70	-
Warna	krem	krem	-
Konsistensi	kental	kental	-
Bau	khas	khas	-
pH	7	7	-
Motilitas Massa	+++	+++	-
Motilitas Individu	72,00	68,70	-
Konsentrasi (x 10 ⁶)	2421,50 ^a	1993,50 ^b	-

Rata-rata volume spermatozoa sapi Bali dengan genotipe CT/GG dan CC/AG adalah 4,85 dan 3,70. Volume sperma ini berada pada kisaran normal dan tidak berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sianturi dkk., (2004) yaitu 4,95 ml dan Burhan dkk., (2013) sebesar 4,33 ml.

Kualitas sperma segar juga ditunjukkan oleh warna, bau dan konsistensi sperma. Warna sperma umumnya putih susu sampai krem dengan bau yang khas. Menurut Partodihardjo (1992), adanya warna kuning pada spermatozoa segar disebabkan oleh adanya kandungan riboflavin yang disekresikan oleh kelenjar vesikula. Riboflavin tidak berpengaruh terhadap spermatozoa dan kesuburan sperma itu sendiri. Sperma sapi Bali yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki konsistensi kental. Konsistensi spermatozoa menunjukkan tingginya konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan.

Derajat keasaman (pH) sperma segar sapi Bali dalam penelitian ni adalah 7.0. Hasil ini adalah merupakan pH normal semen segar sapi pada umumnya.

Beberapa peneliti sebelumnya seperti Sianturi dkk., (2004); Bardan dkk., (2009) dan Ratnawati dkk., (2008) juga melaporkan bahwa pH sperma segar sapi Bali adalah 7.0.

Konsentrasi sperma atau kandungan spermatozoa per mililiter semen segar merupakan salah satu parameter untuk menentukan kualitas sperma karena akan menentukan jumlah straw semen beku yang dapat diproduksi dan jumlah betina yang dapat diinseminasi dengan sperma tersebut. Konsentrasi sperma sapi Bali dengan genotipe CT/GG dan CC/AG adalah berturut-turut $2421,50 \times 10^6$ dan $1993,50 \times 10^6$. Konsentrasi spermatozoa hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Sianturi dkk., (2004) yaitu $1351 \pm 330 \times 10^6$; Bardan dkk., (2009) $1560,08 \pm 241,07 \times 10^6$. Menurut Partodihardjo, (1992) bahwa rata-rata konsentrasi spermatozoa sapi adalah berkisar antara $1000 - 3600 \times 10^6$ per ml.

Spermatozoa memiliki kemampuan melakukan pergerakan baik secara individu (motilitas individu) maupun berkelompok atau bersama-sama (motilitas massa). Pergerakan spermatozoa secara bersama-sama akan membentuk gelombang tebal dan tipis pada permukaan. Pergerakan spermatozoa dapat divisualisasikan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100 kali (Ningsih, 2007). Motilitas massa spermatozoa sapi Bali dengan genotipe CT/GG dan CC/AG pada penelitian ini adalah (+++), sedangkan motilitas individu genotipe CT/GG dan CC/AG adalah 72,00 % dan 68,70%. Hasil penelitian ini adalah sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Ningsih, (2007) yaitu sebesar 70%.

Rata-rata karakteristik semen sapi Bali yang diperoleh dalam penelitian ini masih termasuk dalam kisaran normal jika dibandingkan dengan karakteristik semen yang dilaporkan oleh peneliti lain pada ternak sapi. Setchell (1991) melaporkan bahwa volume semen sapi berkisar antara 2–10 ml, pH antara 6.48-6.99, konsentrasi sperma $300-200 \times 10^6$ /ml. Demikian pula menurut Bearden dan Fuquay (1997), bahwa volume semen sapi perah mencatat ukuran 6 ml dengan pH berkisar antara 6.5 sampai 7.0, konsentrasi sperma 1.2×10^9 /ml dan persentase spermatozoa motil sebesar 70%; sedangkan persentase spermatozoa yang secara morfologi normal adalah 80%.

6.1.2. Penilaian Spermatozoa Pasca Pelelehan

Lama inkubasi spermatozoa pada suhu pelelehan tertentu (37°C) akan mempengaruhi kualitas spermatozoa, terutama sebelum digunakan untuk inseminasi. Hal ini dapat dipergunakan sebagai pertimbangan terutama untuk

pelaksanaan Inseminasi Buatan dilapangan yang memerlukan semen yang berkualitas.

Hasil analisis statistik tidak menunjukkan adanya interaksi ($p>0.05$) antara lama inkubasi dari 0 sampai 60 menit pada suhu 37°C terhadap motilitas massa, motilitas individu, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa, kemudian terjadi penurunan yang signifikan sampai inkubasi 90 menit. Perbedaan yang cukup signifikan terjadi antara genotipe yang berbeda pada lama inkubasi 0, 30 dan 60 menit, dimana genotipe CT/GG memiliki motilitas dan viabilitas yang lebih tinggi dengan abnormalitas yang lebih rendah dibandingkan dengan genotipe CC/AG.

Tabel 5. Kualitas Semen Beku Sapi Bali Jantan Berdasarkan Kelompok Genotipe Gen *IGF-1/Rsa1* dan *GHR/HpyCHIII* dengan lama inkubasi yang berbeda

waktu Pengamatan	Viabilitas (%)			Motilitas (%)			Abnormalitas (%)		
	CT/GG	CC/AG	TT/AA	CT/GG	CC/AG	TT/AA	CT/GG	CC/AG	TT/AA
0 menit	51.10	50.27	—	54.33	48.88	—	6.65 ^a	9.70 ^b	—
30 menit	59.00 ^a	51.36 ^b	—	52.98	49.00	—	4.00 ^a	8.80 ^b	—
60 menit	58.00 ^a	46.00 ^b	—	43.33	43.68	—	5.29	7.78	—
90 menit	45.00	44.55	—	27.60	33.00	—	4.08 ^a	7.80 ^b	—

Viabilitas merupakan gambaran banyaknya spermatozoa hidup yang mampu sampai ke saluran reproduksi betina dalam proses perkawinan hingga terjadinya fertilisasi. Pengamatan terhadap spermatozoa hidup dan mati dilakukan melalui prosedur pewarnaan. Spermatozoa hidup pada sapi Bali dengan genotipe CT/GG rata-rata 58% pada lama inkubasi 60 menit dan 59 % pada lama inkubasi 30 menit, sedangkan spermatozoa sapi Bali dengan genotipe CC/AG berturut-turut 46 % dan 51 % pada inkubasi 60 dan 30 menit.

Pada penelitian ini, abnormalitas spermatozoa sapi Bali dengan genotipe CT/GG rata-rata 4,0 – 5,29% pada lama inkubasi 30 – 60 menit, sedangkan genotipe CC/AG adalah 7.78 – 8.80 %. Abnormalitas spermatozoa adalah berkaitan dengan tingkat kesuburan/ fertilitas seekor pejantan sapi Bali. Menurut Toelihere (1993), bahwa spermatozoa abnormal tidak mampu membuahi sel telur dalam proses fertilisasi dan jumlahnya tidak boleh melebihi 5 -15 % dalam sperma. Abnormalitas spermatozoa sapi Bali dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Burhan dkk., (2013) yaitu 5.7 % dan Rizal (2009) sebesar 10.5 %.

6.2. INSEMINASI BUATAN PADA PETERNAKAN RAKYAT

6.2.1. Sinkronisasi Estrus

Perhatian terhadap penggunaan teknologi Inseminasi Buatan pada ternak sapi yang dipelihara di daerah tropis meningkat dalam beberapa dekade terakhir. Namun demikian deteksi tanda-tanda birahi secara akurat pada ternak sapi, tetap menjadi kendala penerapan teknologi Inseminasi Buatan tersebut dalam skala luas. Untuk mengatasi masalah tersebut, maka biasanya dilakukan teknik sinkronisasi untuk meningkatkan efisiensi deteksi birahi

Dalam penelitian ini induk sapi Bali yang belum menunjukkan tanda-tanda birahi disinkronisasikan birahinya menggunakan susuk (implant) norgestomet (Crestar). Semua induk sapi Bali yang disinkronisasikan birahinya menggunakan susuk (implant) norgestomet (Crestar), tidak satupun susuk yang terlepas dari telinga selama 9 atau 10 hari penanamannya di bawah kulit. Dengan demikian, tingkat retensi dari susuk adalah sebesar 100 persen. Pencabutan susuk pada hari ke-9 maupun ke-10, mendorong timbulnya birahi semua sapi dalam waktu dua hari (48 jam) setelah implant dicabut atau dikeluarkan dari telinga. Hasil penelitian ini tidak bertentangan dengan hasil penelitian yang dilaporkan Medrano et al. (1996), bahwa penggunaan preparat Synchronate B progesteron dalam susuk telinga pada 15 ekor sapi zebu betina dewasa di Mexico mendorong timbulnya respons birahi antara 31 dan 57 jam setelah pencabutan susuk.

Gejala-gejala birahi sapi yang tampak sangat jelas adalah keluarnya lendir (mucus) jernih dari vulva, bagian dalam vulva berwarna kemerahan dan vulva mengalami pembengkakan. Selain itu, selera makan dari semua sapi yang memperlihatkan tanda-tanda estrus menurun. Tanda-tanda birahi ini bertahan hingga 72 jam. Dengan demikian, respon sinkronisasi birahi sapi mencapai angka 100 persen. Hasil penelitian ini juga mendukung hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Arman et al. (2001) pada sapi-sapi Brahman dan Arman et al. (2004) pada sapi-sapi Bali yang juga mendapatkan angka retensi susuk dan respon birahi sebesar 100 persen pada kedua bangsa sapi tersebut. Cavalieri et al. (1997) melaporkan hasil penelitian di Australia bahwa penggunaan susuk norgestomet yang diikuti dengan IB tunggal tepat waktu pada sapi-sapi *Bos indicus* betina hasilnya lebih baik dibandingkan dengan penggunaan preparat hormon lainnya seperti prostaglandin F₂Alpha yang diberikan melalui suntikan.

Respon birahi yang ditunjukkan semua sapi yang diberi perlakuan hormonal melalui teknik sinkronisasi estrus memungkinkan operator atau petugas inseminasi memasukkan pipet inseminasi (insemination gun) dengan mudah dan lancar hingga posisi IV (sedikit dibagian ujung anterior dari cervix dekat dengan badan uterus).

6.2.2. Inseminasi Buatan

Sebanyak 352 straw dari 500 straw semen beku yang dihasilkan dari pejantan-pejantan yang terseleksi secara genetik pada penelitian tahun pertama kemudian di IB-kan pada peternakan rakyat di lombok barat (kecamatan Gerung, Kediri, labu api, Banyu mulek dan jembatan kembar). Semen beku masing-masing kelompok genotipe yang berbeda di IB pada kelompok-kelompok peternak yang berbeda. Keturunan pertama (F1) yang dihasilkan kemudian akan divalidasi secara genetik dan fenotipik untuk menghasilkan calon-calon pejantan unggul.

Tabel 6. Data pemeriksaan kebuntingan dan kelahiran

No.	Kode Semen	Jumlah akseptor (ekor)	Non-return to estrus (ekor)	return to estrus (ekor)	Palpasi rectal		Kelahiran	
					Positif	Negatif	♂	♀
1.	Awe (CT/GG)	123	105	18	73	14	35	18
2.	Afgan (CT/GG)	68	61	7	28	0	8	12
3.	Rider (CT/GG)	57	57	-	37	0	-	-
4.	Pedon (CC/AG)	58	57	-	18	0	5	4
5.	Baros (CC/AG)	46	42	4	26	0	5	3
Total		352	322	9	182	14	53	37

Pengamatan terhadap sapi-sapi yang kembali birahi (return to estrus) sejak hari ke-18 sampai ke-24 setelah IB terakhir menunjukkan bahwa 322 ekor sapi tidak menunjukkan kembali birahi (non-return to estrus) dari 352 ekor yang di IB. Dengan demikian angka konsepsi (conception rate) yang diperoleh mencapai hampir 91,4 %. Untuk mengkonfirmasi hasil tersebut maka 90 hari (3 bulan) setelah IB terakhir dilakukan pemeriksaan kebuntingan pada 196 ekor sapi sampel yang mengindikasikan kebuntingan tersebut melalui teknik palpasi rectal. Hasil yang diperoleh adalah 182 ekor (92,85 %) sapi terdiagnosa positif dalam keadaan

bunting dan 14 ekor negatif. Hingga laporan ini dibuat, dari 182 ekor sapi yang terdiagnosa bunting, 90 ekor sudah melahirkan dengan komposisi 53 ekor jantan dan 37 ekor betina.



Gambar 10. Keturunan pertama (F1) hasil IB

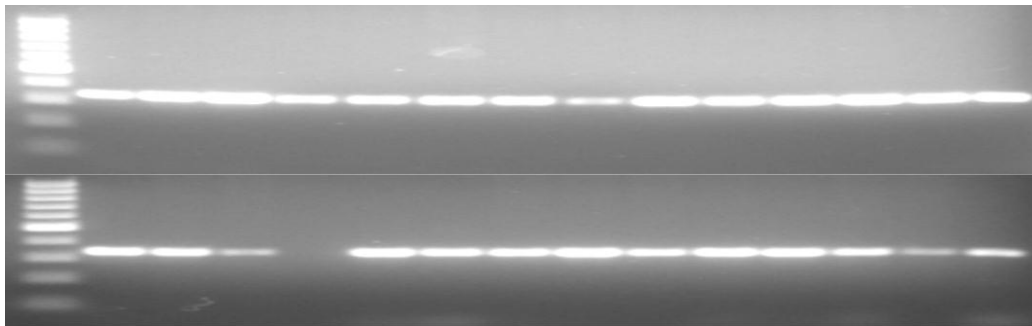
6.3. EVALUASI GENOTIPE KETURUNAN PERTAMA (F1)

6.3.1. Analisis *SNP Nt241* dan *SNP Nt17*

Penentuan genotipe masing-masing individu didasarkan pada *SNP Nt241* dan *SNP Nt17*. Genotyping dilakukan dengan mengamplifikasi fragmen-fragmen gen yang mengandung SNPs menggunakan mesin PCR kemudian melakukan pemotongan fragmen-fragmen gen tersebut menggunakan enzim restriksi spesifik.

Amplifikasi fragmen DNA genom sapi Bali pada *SNP Nt241* dan *SNPNt17* dilakukan menggunakan primer (Reverse & Forward Primer) yang telah dipublikasikan sebelumnya pada berbagai jurnal internasional. Panjang fragmen

DNA produk *PCR* berukuran sekitar 341 bp dan 340 bp. Berdasarkan ukuran produk yang dihasilkan yang ditunjukkan dengan *DNA ladder HindIII 100 bp* dapat dipastikan bahwa produk amplifikasi merupakan fragmen DNA target.

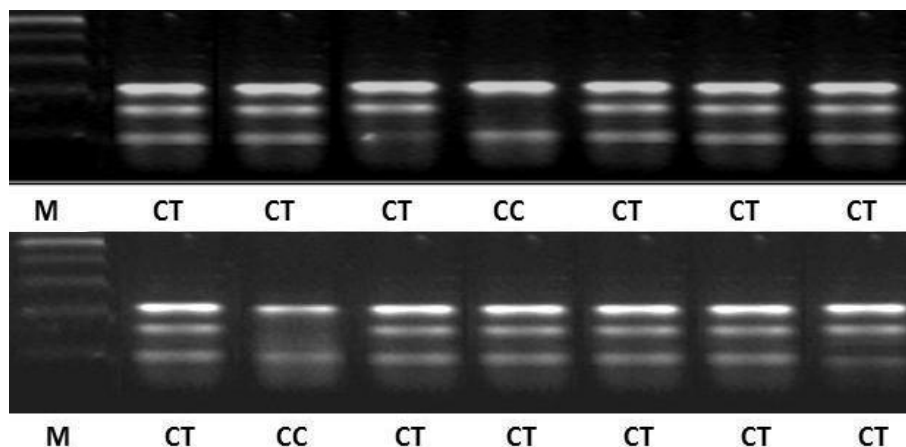


Gambar 11. Produk PCR Fragmen DNA *SNP Nt241* dan *SNP Nt17*

Identifikasi genotipe menggunakan teknik *RFLP* menghasilkan tiga genotype *SNP Nt241* pada populasi F1 sapi Bali yaitu GG, AG dan AA dan dua genotipe pada *SNP Nt17* yaitu CC dan CT. Individu dengan genotipe CT/GG memiliki berat lahir yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan genotipe CC/AG, CT/AG, CC/AA dan CT/AA ($P < 0,05$).

6.3.2. Distribusi Frekuensi genotipe dan alel *SNP Nt17* pada populasi F1 sapi Bali

Identifikasi mutasi transisi T/C pada *SNP Nt17* menggunakan teknik *RFLP-Rsa1* menghasilkan dua alel yaitu C dan T serta dua genotipe individu dalam populasi F1 sapi Bali dengan perbedaan distribusi frekuensi yang cukup seimbang. Distribusi frekuensi alel C dan T berturut-turut 0.58 dan 0.42 ; sedangkan distribusi frekuensi genotipe individu dalam populasi sapi Bali yaitu CT dan CC berturut-turut: 0.85 dan 0.15 (Tabel 6).



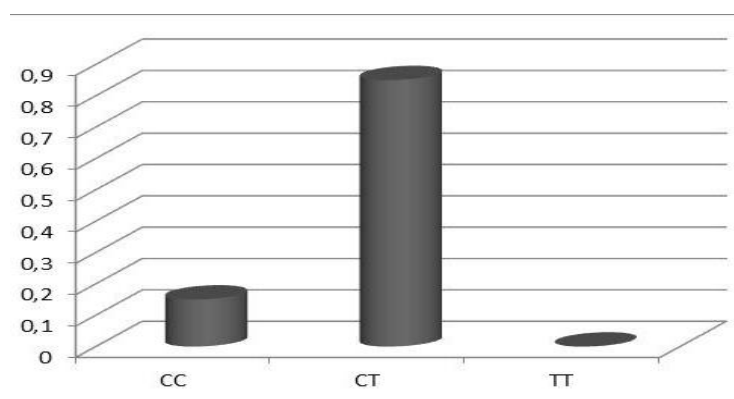
Gambar 12. Fragmen DNA *SNP Nt17* hasil pemotongan dengan enzim restriksi

Data pada tabel 6 menunjukkan adanya penurunan variasi genetik yang ditunjukkan dengan adanya akumulasi distribusi frekuensi pada salah satu genotipe. Menurunnya variasi genotype pada keturunan pertama (F1) sapi Bali hasil inseminasi buatan (IB) karena sperma/semén yang didistribusikan merupakan hasil seleksi dimana sebagian besar adalah bergenotype CT yang memang secara genetik memiliki kualitas yang lebih baik daripada genotype CC .

Tabel 7. Frekuensi alel dan genotipe *SNP Nt17* pada populasi F1 sapi Bali

Gen	N (ekor)	Frekuensi Genotipe			Frekuensi Alel	
		CT	CC	TT	C	T
<i>SNP Nt17</i>	90	0,85 (76)	0,15 (14)	0,00	0,58	0,42

Distribusi genotipe *SNP Nt17* pada populasi F1 sapi bali dalam penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang sangat kontras. Genotipe heterozigote CT memiliki frekuensi yang sangat tinggi dibanding frekuensi homozigote CC. Perbedaan distribusi frekuensi genotipe dan alel mengindikasikan adanya akumulasi genotipe heterozigote CT dalam populasi sapi Bali yang disebabkan oleh proses seleksi dan perkawinan dalam kelompok.



Gambar 13. Distribusi frekuensi genotipe dan alel *SNP Nt17*

Tabel 7 menunjukkan distribusi frekuensi alel *SNP* pada beberapa lokasi sepanjang gen *IGF-1* pada sapi perah, sapi potong dan beberapa sapi persilangan. Sebagian alel *SNP* menunjukkan pola distribusi frekuensi yang seimbang dan sebagian lagi tidak seimbang. Alel minor ditemukan pada beberapa bangsa sapi dengan frekuensi sekitar 0.03-0.48.

Tabel 8. Distribusi frekuensi alel *SNP* gen *IGF-1* pada beberapa bangsa sapi

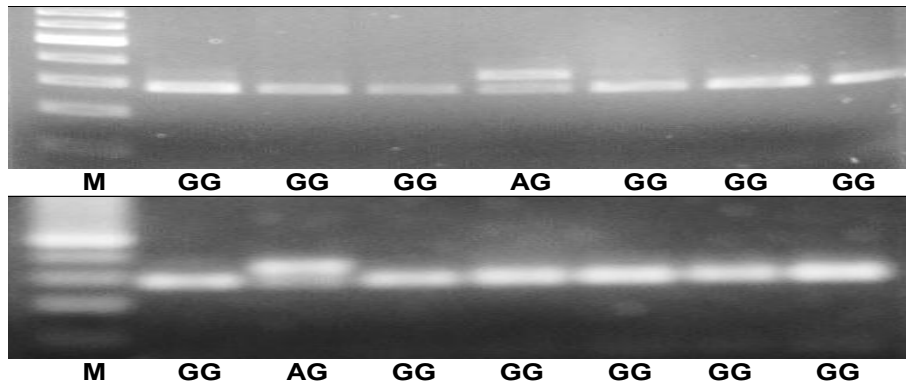
Nama <i>SNP</i>	Substitusi Alel	Lokasi	Bangsa Sapi	Frekuensi Alel	Sumber
AF017143	T/C	5'	Friesian Holstein	T=0.57; C=0.43	Mullen <i>et al.</i> (2011)
IGF1i1	T/A	intron	Friesian Holstein	T=0.65; A=0.35	Mullen <i>et al.</i> (2011)
IGF1i7	G/A	intron	Friesian Holstein	G=0.97; A=0.03	Mullen <i>et al.</i> (2011)
IGF1r8	G/T	3'	Friesian Holstein	G=0.96; T=0.04	Mullen <i>et al.</i> (2011)
IGF1r10	C/T	3'	Friesian Holstein	C=0.96; T=0.04	Mullen <i>et al.</i> (2011)
Nt270	T/C	intron 4	Charolais	T=0.72 ;C=0.28	Reyna <i>et al.</i> (2010)
			Beefmaster	T=0.30 ;C=0.70	Reyna <i>et al.</i> (2010)
AF210383	T/C	ekson 1	Hanwoo	T=0.72; C=0.28	Chung dan Kim (2005)
T(-512)C	T/C	5'	Angus	T=0.64; C=0.36	Ge <i>et al.</i> (2001)
			Iranian FH	T=0.44; C=0.56	Mehmanavaz <i>et al.</i> (2010)
			Polish FH	T=0.52; C=0.48	Siadkowska <i>et al.</i> (2006)
			Charolais	T=0.46 ;C=0.54	Reyna <i>et al.</i> (2010)
			Beefmaster	T=0.03 ;C=0.97	Reyna <i>et al.</i> (2010)
			Nellore	T=0.00 ;C=1.00	Curi <i>et al.</i> (2005)
			Canchim	T=0.35 ;C=0.65	Curi <i>et al.</i> (2005)
			Simmental x Angus	T=0.20 ;C=0.80	Curi <i>et al.</i> (2005)
			Angus x Nellore	T=0.32 ;C=0.68	Curi <i>et al.</i> (2005)

Transisi T/C pada daerah promotor (*SNP IGF-1/SnaB1*) menunjukkan pola yang hampir sama pada beberapa bangsa sapi dengan alel T merupakan alel minor dengan frekuensi 0.00 – 0.46, kecuali pada sapi Angus dan Polish FH. Distribusi frekuensi alel C *SNP IGF-1/SnaB1* pada beberapa bangsa sapi cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan alel T bahkan mencapai 100% pada sapi Nellore. Menurut Curi *et al.* (2005) bahwa alel C merupakan karakteristik dari sapi *Bos Indicus* karena keberadaan alel C yang sangat konservatif pada populasi sapi Nellore.

Transisi T/C pada ekson 4 pada populasi sapi Bali memiliki pola yang sama dengan *SNP IGF-1/SnaB1* yaitu alel C memiliki distribusi frekuensi yang lebih tinggi daripada alel T. Keberadaan alel C pada populasi sapi Bali disebabkan oleh adanya mutasi transisi dimana terjadi substitusi basa timin oleh sitosin, sedangkan tingginya frekuensi alel C kemungkinan adalah akibat seleksi yang intensif dan perkawinan dalam kelompok (endogami).

6.3.3. Distribusi Frekuensi Genotipe dan Alel *SNP Nt241* pada populasi F1 sapi Bali

Identifikasi genotipe *SNP Nt241* menggunakan teknik *RFLP/HpyCH4III* menghasilkan tiga genotipe individu dalam populasi F1 sapi Bali yaitu AG, GG dan AA dengan frekuensi berturut-turut: 0.23; 0.66 dan 0.11. Dua alel yaitu A dan G dalam populasi F1 sapi Bali memiliki perbedaan distribusi frekuensi yang sangat kontras yaitu A=0,23 dan G=0,77 (Tabel 8).



Gambar 14. Fragmen DNA *SNP Nt241* hasil pemotongan dengan enzim restriksi

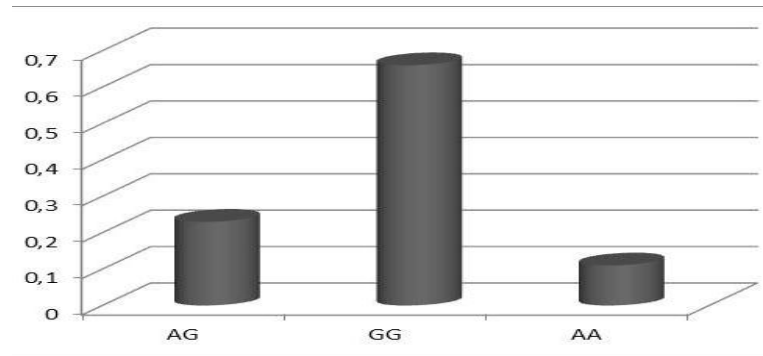
Data pada Tabel 8 menunjukkan bahwa alel A merupakan alel minor dengan frekuensi sangat rendah dibandingkan alel G. Distribusi genotipe dan alel *SNP Nt241* yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang sangat kontras. Laporan dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar alel *SNP* gen *GHR* pada beberapa bangsa sapi menunjukkan pola distribusi frekuensi yang tidak seimbang.

Tabel 9. Frekuensi alel dan genotipe *SNP Nt241* pada populasi F1 sapi Bali

Gen	N (ekor)	Frekuensi Genotipe			Frekuensi Alel	
		AG	GG	AA	A	G
<i>SNP Nt241</i>	90	0,23 (21)	0,66 (59)	0,11(10)	0,23	0,77

Distribusi genotipe *SNP Nt241* yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang sangat kontras yaitu genotipe homozigote GG memiliki frekuensi yang sangat tinggi dibanding frekuensi homozigote AA dan heterozigote AG. Perbedaan ini mengindikasikan adanya akumulasi genotipe homozigote GG dalam populasi disebabkan oleh seleksi yang intensif dan sistem perkawinan dalam kelompok yang terkontrol.

Pola distribusi frekuensi alel suatu *SNP* menunjukkan perbedaan pada bangsa sapi yang berbeda. Pada sapi Piemontese, *SNP Nt257* menunjukkan distribusi frekuensi alel yang seimbang, sedangkan pada sapi Angus, Friesian Holstein dan Polish FH menghasilkan distribusi frekuensi alel yang sangat kontras.



Gambar 15. Distribusi frekuensi genotipe dan alel *SNP Nt241*

Pada sapi Angus, distribusi frekuensi alel A (0.782) lebih tinggi daripada alel G (0.218) dengan frekuensi genotipe AA, AG dan GG berturut-turut 0.605 ; 0.355 dan 0.040. Hasil yang hampir sama ditemukan pada sapi Polish Holstein Friesian oleh Olenski *et al.* (2010) dimana distribusi frekuensi alel A (0.832) lebih tinggi daripada alel G (0.168) dengan frekuensi genotipe AA, AG dan GG berturut-turut 0.699 ; 0.266 dan 0.035.

BAB VII. KESIMPULAN

Sebelum diproduksi sebagai semen beku, spermatozoa segar dievaluasi terlebih dahulu secara makroskopis dan mikroskopis. Produksi semen beku pejantan sapi Bali genotipe CT/GG dan CC/AG dilakukan untuk kebutuhan inseminasi buatan (IB). Rata-rata karakteristik semen sapi Bali yang diperoleh dalam penelitian ini masih termasuk dalam kisaran normal jika dibandingkan dengan karakteristik semen yang dilaporkan oleh peneliti lain pada ternak sapi.

Rata-rata volume spermatozoa sapi Bali dengan genotipe CT/GG dan CC/AG adalah 4,85 dan 3,70 dengan konsentrasi berturut-turut $2421,50 \times 10^6$ dan $1993,50 \times 10^6$. Derajat keasaman (pH) sperma segar sapi Bali dalam penelitian ini adalah 7,0. Motilitas massa spermatozoa sapi Bali dengan genotipe CT/GG dan CC/AG pada penelitian ini adalah (+++), sedangkan motilitas individu 72,00 % dan 68,70%. Spermatozoa hidup rata-rata 58% pada lama inkubasi 60 menit dan 59 % pada lama inkubasi 30 menit, sedangkan spermatozoa sapi Bali dengan genotipe CC/AG berturut-turut 46 % dan 51 % pada inkubasi 60 dan 30 menit. Abnormalitas spermatozoa sapi Bali dengan genotipe CT/GG rata-rata 4,0 – 5,29% pada lama inkubasi 30 – 60 menit, sedangkan genotipe CC/AG adalah 7,78 – 8,80 %.

Salah satu kendala dalam penerapan teknologi Inseminasi Buatan dalam skala luas adalah deteksi tanda-tanda birahi secara akurat. Untuk mengatasi masalah tersebut, maka dalam penelitian ini dilakukan sinkronisasi menggunakan implant norgestomet (Crestar). Tingkat retensi implant norgestomet (Crestar) yang digunakan pada sinkronisasi birahi adalah 100 persen. Pencabutan susuk pada hari ke-9 maupun ke-10, mendorong timbulnya birahi semua sapi dalam waktu dua hari (48 jam) setelah implant dicabut atau dikeluarkan dari telinga. Respon sinkronisasi birahi sapi percobaan dalam penelitian ini mencapai angka 100 persen.

Angka konsepsi (conception rate) yang diperoleh mencapai hampir 91,4 %. Pemeriksaan kebuntingan pada 196 ekor sapi sampel yang mengindikasikan kebuntingan tersebut melalui teknik palpasi rectal menunjukkan 182 ekor (92,85 %) sapi terdiagnosa positif dalam keadaan bunting dan 14 ekor negatif.

Hasil evaluasi genetik keturunan pertama (F1) sapi Bali menunjukkan adanya akumulasi alel dan genotipe *SNP T(17)C* dan *SNP Nt241* sebagai hasil seleksi terhadap pejantan donor semen beku. Distribusi frekuensi genotipe dan

alel *SNP T(17)C* pada populasi F1 sapi Bali menunjukkan bahwa alel C dan T berturut-turut 0.58 dan 0.42 ; sedangkan distribusi frekuensi genotipe CT dan CC berturut-turut: 0.85 dan 0.15. Distribusi genotipe *SNP Nt241* dalam populasi F1 sapi Bali yaitu AG, GG dan AA dengan frekuensi berturut-turut: 0.23; 0.66 dan 0.11. Dua alel yaitu A dan G dalam populasi F1 sapi Bali memiliki perbedaan distribusi frekuensi yang sangat kontras yaitu $A=0,23$ dan $G=0,77$

DAFTAR PUSTAKA

- Adam GR., McCue SA., 1998. Localized infusion of IGF-1 gene result in skeletal muscle hypertrophy in rats. *J.Appl.Physiol* 84:1716-22.
- Arman C *et al* 2006 Survey Potensi Reproduksi, Produksi dan Produktivitas sapi Bali di Nusa Tenggara Barat *Laporan Hasil Penelitian* Kerjasama Dinas Peternakan Propinsi NTB dengan Fakultas Peternakan Universitas Mataram
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of Genetic Linkage Map in Human Using restriction fragment length polymorphism. *Amer.J. Hum. Genet.* 32:314-331
- Bowker WAT, Dumday RG, Frisch JE, Swan RA, Tulloh NM.. 1978. *A Course manual and beef cattle management and economic.* Canberra, Australia: AAUCS.
- Chung, E. R., and W. T. Kim, (2005). Association of SNP Marker in *IGF-I* and *MYF5* Candidate Genes with Growth Traits in Korean Cattle. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol 18, No. 8 : 1061-1065
- Coleman ME., DeMayo F., Yin KC., Lee HM., Geske R., Montgomery C., Schwartz RJ., 1995. Myogenic vector expression of Insulin like Growth Factor-1 stimulates muscle cell differentiation and myofiber hypertrophy in transgenic mice. *J. Biol Chem.* 270:12109-16.
- Curi RA, de Oliveira HN, Silveira AC and Lopes CR (2005). Association between IGF-I, IGF-IR and GHRH gene polymorphisms and growth and carcass traits in beef cattle. *Livest. Sci.* 94: 159-167.
- Darmadja SGND, 1980 Setengah Abad Peternakan Sapi Tradisional dalam Ekosistem Pertanian di Bali. [disertasi]. Bandung: Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran.
- Darton-Davis ER., Shoturma DI., Sweeney HL., 1999. Contribution of satellite cells to IGF-1 induced hypertrophy of skeletal muscle. *Acta.Physiol.Scand.* 169:301-5.
- Davis ME, Simmen RCM. 1997. Genetic parameter estimates for serum insulin-like growth factor I concentration and performance traits in Angus beef cattle. *J Anim Sci* 75: 317–324.
- Falconer DS and Mackay TFC. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics.* Fourth Ed. Longman Inc, New York.
- Florini JR., Ewton DZ., Coolican SA., 1996. Growth hormone and insulin like growth factor system in myogenesis. *Endocr.Rev.* 17: 481-517
- Garrett AJ *et al.* 2008. Promoter region of the bovine growth hormone receptor gene: single nucleotide polymorphism discovery in cattle and association with performance in Brangus bulls. *J Anim Sci* 86:3315–23.
- Ge W, Davis ME, Hines HC, Irvin KM 2000 Rapid Communication: Single nucleotide polymorphisms detected in exon 10 of the bovine growth hormone receptor gene *J Anim Sci* 78: 2229–2230
- Ge W, Davis ME, Hines HC, Irvin KM, et al. (2001). Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. *J. Anim. Sci.* 79: 1757-1762.

- Ge W, Davis ME, Hines HC, Irvin KM, Simmen RCM 2003 Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle *J Anim Sci* 81: 641-648
- Hill, D. J., 1996. Embryonic Development Relationships of Insulin-Like Growth Factors and Their Binding Proteins to Embryonic Development. *J Anim Sci.* 74:85-93.
- Jun, LW., Xin, FG., Yi, F., Chuan, TK., Xia, HX., Kui, YX., Mou, W., Hui, Y., Zhen, HY., Jing, XJ., Ping, XY., Gang, YS and Hong C. (2010). The Polymorphism of a Mutation of IGF-1 Gene on Two Goat Breeds in China. *Journal of Anim. And Vet. Adv.* 9(4): 790-794.
- Kirkpatrick BW (1992). Identification of a conserved microsatellite site in the porcine and bovine insulin-like growth factor-I gene 5' flank. *Anim. Genet.* 23: 543-548.
- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, et al. (2004). Assessment of positional candidate genes *myf5* and *igf1* for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of *Bos taurus*. *J. Anim. Sci.* 82: 1-7.
- Liu, J.-P., J. Baker. A. S Perkins. E. J. Robertson and Efstratiadis. 1993. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (*tgf-1*) and type 1 IGF receptor (*Igflr*). *Cell* 7559.
- Machado MBB, Alencar MM, Pereira AP, Oliveira HN, (2003). QTL affecting body weight in a candidate region of cattle chromosome 5. *Genet. Mol. Biol.* 26: 259-265.
- Maj A *et al.* 2004. Single nucleotide polymorphism (SNP) in the 5'-noncoding region of the bovine growth hormone receptor gene and its association with dairy production traits
- Maj A, Pareek CS, Klauziniska M, Zwierzchowski L. 2005. Short Communication: Polymorphism of 5' region of the bovine growth hormone receptor gene. *J Anim Breed Genet* 122: 414-417.
- Marson, E.P., José Bento Sterman Ferraz, Flávio Vieira Meirelles, Júlio César de Carvalho Balieiro, Joanir Pereira Eler, Luís Gustavo Girardi Figueiredo and Gerson Barreto Mourão. 2005. Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. *Genet. Mol. Res.* 4 (3): 496-505
- Maskur, Muladno, Cece Sumantri dan Eddie Gurnadi. 2012a. A Novel Single Nucleotide Polymorphism in Exon 4 of Insulin-Like Growth Factor-1 Associated With Production Traits in Bali Cattle. *Media Peternakan*, IPB. Bogor (InPress).
- Moody, D. E., D. Pomp, S. Newman and M. D. MacNeil. 1996. Characterization of DNA polymorphisms in three populations of Hereford cattle and their associations with growth and maternal EPD in line 1 Herefords. *J. Anim. Sci.* 74:1784-1793.
- Mullen, M.P., C.O. Lynch, S.M. Waters, D.J. Howard, P. O'Boyle, D.A. Kenny, F. Buckley, B. Horan and M.G. Diskin. 2011. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and insulin-like growth factor-1 genes are associated with milk production, body condition score and fertility traits in dairy cows. *Genet. Mol. Res.* 10 (3): 1819-1830.
- Pane I. 1991. Produktivitas dan Breeding Sapi Bali. *Pros Sem Nas sapi Bali*. Ujung Pandang: Fakultas Peternakan, Universitas Hasanudin.

- Qiong, W., Chao, F., Jun, LW., Yi, F. And Gang, YS., (2011). A Novel Mutation at Exon 4 of IGF-1 Gene in Three Indigenous Goat Breeds in China. *Asian J. Of Anim. And Vet. Adv.* 6(6) : 627-635.
- Reyna, X.F. De la Rosa, H.M. Montoya, V.V. Castrellón, A.M.S. Rincón, M.P. Bracamonte and W.A. Vera, (2010). Polymorphisms in the IGF1 gene and their effect on growth traits in Mexican beef cattle. *Genetics and Molecular Research* 9 (2): 875-883
- Siadkowska E, Zwierzchowski L, Oprz_dek J, Strzałkowska N, Bagnicka E, Krzy_ewski J (2006). Effect of polymorphism in IGF-1 gene on production traits in Polish Holstein-Friesian cattle. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 24(3): 225-237.
- Viitala S *et al.* 2006. The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire dairy cattle. *Genetics* 173: 2151–64.