

**KERAGAMAN PROTEIN DARAH (ALBUMIN, TRANSFERRIN,
CERULOPLASMIN, DAN POST TRANSFERRIN) SEBAGAI
PARAMETER BIOGENETIK PADA SAPI JAWA**

TESIS

Oleh

SITI AMINAH



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU TERNAK
PROGRAM PASCASARJANA - FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
2005**

**KERAGAMAN PROTEIN DARAH (ALBUMIN, TRANSFERRIN,
CERULOPLASMIN, DAN POST TRANSFERRIN) SEBAGAI PARAMETER
BIOGENETIK PADA SAPI JAWA**

Oleh

SITI AMINAH

NIM: H4A 002 018

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Magister Sains
pada Program Studi Magister Ilmu Ternak Program Pascasarjana
Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU TERNAK
PROGRAM PASCASARJANA-FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO**

Judul Tesis : KERAGAMAN PROTEIN DARAH (ALBUMIN, TRANSFERRIN, CERULOPLASMIN, DAN POST TRANSFERRIN) SEBAGAI PARAMETER BIOGENETIK PADA SAPI JAWA

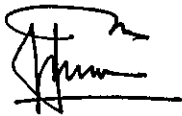
Nama Mahasiswa : SITI AMINAH

Nomor Induk Mahasiswa : H4A 002 018

Program Studi : MAGISTER ILMU TERNAK

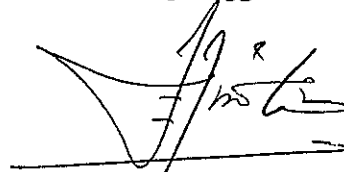
Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji dan dinyatakan lulus pada tanggal 31 Januari 2005

Pembimbing Utama



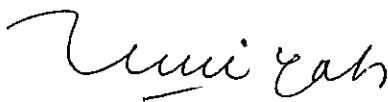
Dr. Ir. Seno Johari, MSc

Pembimbing Anggota



Dr. Ir. Edy Kurnianto, MS. MAgr

Ketua Program Studi



Prof. Dr. Ir. Umiyati Atmomarsono

Ketua Jurusan Produksi Ternak



Dr. Ir. Mukh Arifin, MSc



Dekan Fakultas Peternakan

Dr. Bambang Srigandono, MSc

ABSTRAK

SITI AMINAH. H4A002018. Keragaman Protein Darah (Albumin, Transferrin, Ceruloplasmin dan Post Transferrin) Sebagai Parameter Biogenetik Pada Sapi Jawa. (Pembimbing: **SENO JOHARI** dan **EDY KURNIANTO**).

Sapi Jawa merupakan salah satu jenis sapi yang mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagaimana jenis sapi unggulan lainnya yang ada di Indonesia. Kemungkinan sapi Jawa mempunyai karakter genetik yang spesifik yang tidak dimiliki sapi jenis lain di Indonesia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan data tipologi genetik melalui pendekatan analisa keragaman protein darah dengan metode elektroforesis pada lokus albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), ceruloplasmin (*Cp*) dan post transferrin (*Ptf*). Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Januari sampai dengan April 2004 di peternakan rakyat Kab. Brebes Jawa Tengah dan di Laboratorium Ilmu Pemuliaan dan Genetika Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

Materi yang digunakan adalah 30 sampel darah sapi Jawa. Penentuan sapi dilakukan secara purposive. Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah anti koagulan, NaCl 0,9%, aceton, Na Asetat, HCl 1%, acrilamida, biss (NN metilene bis acrilamida), gliserol, tris (hidroksimetil-aminoeta), amonium persulfat, temed, glisin, amido black, methanol, asam asetat, bromophenol blue dan aquadest. Alat yang digunakan: seperangkat alat pengambilan sampel darah dan seperangkat alat elektroforesis. Variabel yang diamati yaitu keragaman protein darah, meliputi albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), ceruloplasmin (*Cp*) dan post transferrin (*Ptf*). Pita yang dihasilkan dari proses elektroforesis digunakan untuk perhitungan nilai frekuensi gen dan rataan heterosigositas.

Hasil penelitian ini menunjukkan: (1) Pada lokus albumin (*Alb*) urutan frekuensi gen adalah alel B(0,634), A(0,183) dan C(0,183); (2) Pada lokus transferrin (*Tf*) urutan frekuensi gen adalah alel D3(0,533), D1(0,15) dan D2(0,317); (3) Pada lokus ceruloplasmin (*Cp*) urutan frekuensi gen adalah alel F(0,533) dan S(0,467); (4) Pada lokus post transferrin (*Ptf*) urutan frekuensi gen adalah alel S(0,8) dan F(0,2). Rataan heterosigositas adalah 0,199.

Kata kunci: Sapi Jawa, Protein Darah, Rataan Heterosigositas dan Keragaman.

ABSTRACT

SITI AMINAH. H4A 002 018. Blood Protein Variability (Albumin, Transferrin, Ceruloplasmin and Post transferrin) as Biogenetic Parameter on Java Cattle. (Advisor: **SENO JOHARI** and **EDY KURNIANTO**).

Java cattle is the potential cattle to be developed as the superior cattle in Indonesia. It is possible that Java cattle have specific gen character that is not found in other kind of cattle in Indonesia. The objective of this study is to get data of the gen tipology through analysis of blood protein variability by applying electrophoretic method on albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), ceruloplasmin (*Cp*) and post transferrin (*Ptf*) locus. This study was conducted from January to April 2004 at Brebes Regency, Central Java and Laboratory of Animal Breeding and Genetics Faculty of Animal Science, Bogor Agriculture University.

Blood used as the sample originated from 30 heads, in which those taken purposively. The chemical materials used were coagulation prevented, NaCl 0,9%, acetone, Na asetat, HCl 1%, acrylamida, bis (NN metilene bis acrylamida), gliserol, tris (hidroxy methyl aminoeta), amonium persulfat, temed, glysin, amido black, methanol, acetic acid, bromophenol blue and aquadest while instruments used were sets for blood collecting and electrophoretic. Variables observed were blood protein variability, that were albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), ceruloplasmin (*Cp*) and post transferrin (*Ptf*). Banding protein obtained was used for calculating the values of gen frequency and average of heterozygosity.

The results showed that: (1) At albumin (*Alb*) locus, gen frequency of allele B, A and C was 0.634, 0.183 and 0.183, respectively; (2) At transferrin (*Tf*) locus, gen frequency of allele D3, D1 and D2 was 0.533, 0.15 and 0.317, respectively; (3) At ceruloplasmin (*Cp*) locus, gen frequency of allele F and S was 0.563 and 0.467; (4) At post transferrin (*Ptf*) locus, gen frequency of allele S and F was 0.8 and 0.2. The average of heterozygosity was 0,199.

Key words: Java Cattle, Blood Protein, Average Heterozygosity and Variability.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis dengan judul “Keragaman Protein Plasma Darah (Albumin, Transferrin, Ceruloplasmin dan Post Transferrin) sebagai Parameter Biogenetik pada Sapi Jawa” ini.

Penyusunan tesis ini berdasarkan pada pengamatan data hasil penelitian, sebagai salah satu syarat dalam memenuhi kelulusan di Program Magister Ilmu Ternak Program Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro Semarang.

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk mendapatkan informasi genetik sapi Jawa dan bermanfaat dalam rangka pengembangan program konservasi bagi usaha peningkatan populasi sapi Jawa di habitatnya.

Sejak penelitian hingga Tesis ini selesai tentu penulis banyak mendapat bimbingan dan bantuan baik moril maupun spirituil dari beberapa pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Seno Johari, MSc sebagai pembimbing utama dan Bapak Dr. Ir. Edy Kurnianto, MS., MAggr sebagai pembimbing anggota, yang telah banyak mencurahkan tenaga dan pikiran dalam memberikan pengarahan, bimbingan dan saran-saran selama penulis melakukan penelitian serta menyelesaikan penulisan tesis ini.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Supraptini Mansjoer selaku Kepala Laboratorium Ilmu Pemuliaan dan Genetika Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, serta Ibu Pipih sebagai teknisi laboratorium serta semua staff dosen di

Laboratorium Ilmu Pemuliaan dan Genetika Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian pengamatan protein plasma darah pada sapi Jawa dengan metode elektroforesis dan terima kasih atas pengarahan dan bimbingan pada penulis selama melakukan penelitian.

3. Kepada Bapak drh. Purnomo selaku Kepala Seksi Kesehatan Hewan di Dinas Peternakan Kabupaten Brebes Jawa Tengah beserta staff dan Bapak Dr. Ir. Sutopo, MSc, yang telah memberikan bantuan pada penulis dalam proses penelitian di lapangan.
4. Kepada Ibu Saadah serta seluruh staff yang lain di Laboratorium Rekayasa Genetik pada Pusat Antar Universitas Institut Teknologi Bandung atas pengarahan dalam tata cara melakukan penelitian dan penyediaan bahan kimia untuk penelitian keragaman protein plasma darah dengan metode elektroforesis.
5. Kepada Ibu Prof. Dr. Ir. Umiyati Atmomarsono, penulis ucapkan terima kasih atas kesempatan belajar yang diberikan pada penulis di Program Studi Magister Ilmu Ternak Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Serta kepada semua staf dan pengelola Program Studi Magister Ilmu Ternak yang telah memberikan bantuan selama penulis menempuh studi.
6. Penulis juga menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada seluruh staf pengajar S2 yang telah memberikan bekal selama penulis menuntut ilmu di Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro Semarang.

7. Bapak, Ibu, Suamiku dan Dik Nur yang senantiasa memberikan dorongan moral dan material, kasih sayang, perhatian dan doa sampai penulis dapat menyelesaikan studi ini.
8. Rekan-rekan seperjuangan Ihwandi, SPt., Ir. Soeroso, dan Ir. Saparto, serta rekan-rekan lainnya yang telah banyak memberikan bantuan dan kerjasama yang baik selama penelitian sampai penulisan Tesis ini.

Dalam penyusunan Tesis ini, penulis menyadari masih banyak kekurangan. Saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga penulisan Tesis ini bermanfaat bagi kita semua.

Semarang, Januari 2005

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR ILUSTRASI	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	2
1.3. Manfaat Hasil Penelitian	2
1.4. Kerangka Pemikiran.....	3
1.5. Hipotesis	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Sapi Lokal Indonesia.....	5
2.2. Sapi Jawa	5
2.3. Studi Polimorfisme Protein Darah	6
2.4. Metode Elektroforesis	12
2.5. Frekuensi Gen	15
2.6. Heterosigositas	16
BAB III. METODOLOGI	18
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.2. Materi dan Alat Penelitian	18
3.3. Metode Penelitian	19
3.4. Variabel yang Diamati	29
3.5. Analisis Data	31
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1. Polimorfisme Protein Plasma Darah pada Sapi Jawa	33

4.2. Plasma Albumin	34
4.3. Plasma Transferrin	37
4.4. Plasma Ceruloplasmin	41
4.5. Plasma Post Transferrin	44
4.6. Heterosigositas	47
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1. Kesimpulan	51
5.2. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	54
RIWAYAT HIDUP	73

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Bahan-bahan yang Digunakan untuk "Running Gel"	22
2. Bahan-bahan yang Digunakan untuk "Stacking Gel"	22
3. Komposisi Bahan untuk "Running Gel"	25
4. Komposisi Bahan untuk "Stacking Gel"	25
5. Frekuensi Gen Alel Albumin (<i>Alb</i>) pada Sapi Jawa, Bali, Madura dan Peranakan Ongole	36
6. Frekuensi Gen Alel Transferrin (<i>Tf</i>) pada Sapi Jawa, Bali, Madura dan Peranakan Ongole	40
7. Frekuensi Gen Alel Ceruloplasmin (<i>Cp</i>) pada Sapi Jawa, Bali, Madura dan Peranakan Ongole	43
8. Frekuensi Gen Alel Post Transferrin (<i>Ptf</i>) pada Sapi Jawa, Bali, Madura dan Peranakan Ongole	46
9. Nilai Heterosigositas masing-masing Lokus Plasma Darah	48
10. Rataan Heterosigositas dan Standar Error pada Sapi Jawa, Bali, Madura dan Peranakan Ongole	48

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Penampilan Fenotipe Sapi Jawa	6
2. Diagram Proses Pemisahan Sampel Darah dan Pencucian Sel Darah Merah	21
3. Diagram Rangkaian Kaca untuk Pembuatan Gel Poliakrilamida (A) dan Sisir untuk Pembuatan Lubang Sampel Darah dalam Gel Poliakrilamida (B) sesuai Petunjuk Gahne <i>et al.</i> (1977)	27
4. Diagram Prosedur Analisa Protein Plasma Darah dengan Metode Elektroforesis (Menurut Ogita dan Markert, 1979)	30
5. Gambar Pola Pita Protein Hasil Analisa Plasma Darah Sapi Jawa (slab 1)	34
6. Gambaran Susunan Pola Pita Protein Plasma Darah Sapi Jawa	34
7. Gambaran Susunan Lokus Albumin Sapi Jawa	35
8. Diagram Batang Frekuensi Gen Alel A, B, dan C pada Lokus Albumin Sapi Jawa	37
9. Gambaran Susunan Lokus Transferrin Sapi Jawa	38
10. Diagram Batang Frekuensi Gen Alel D1, D2, dan D3 pada Lokus Transferrin Sapi Jawa	41
11. Gambaran Susunan Lokus Ceruloplasmin Sapi Jawa	42
12. Diagram Batang Frekuensi Gen Alel F dan S pada Lokus Ceruloplasmin Sapi Jawa	44
13. Gambaran Susunan Lokus Post Transferrin Sapi Jawa	44
14. Diagram Batang Frekuensi Gen Alel F dan S pada Lokus Post Transferrin Sapi Jawa	46

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Peta Lokasi Penelitian Pengambilan Sampel Darah Sapi Jawa	55
2. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian di Laboratorium Ilmu Pemuliaan dan Genetika Institut Pertanian Bogor	56
3. Hasil Analisa Pita Protein Plasma Darah Sapi Jawa	57
4. Hasil Pembacaan Pita-pita Protein Plasma Darah Sapi Jawa	58
5. Penghitungan Frekuensi Gen dan Nilai Heterosigositas Lokus Albumin pada Sapi Jawa	59
6. Penghitungan Frekuensi Gen dan Nilai Heterosigositas Lokus Transferrin pada Sapi Jawa	62
7. Penghitungan Frekuensi Gen dan Nilai Heterosigositas Lokus Ceruloplasmin pada Sapi Jawa.....	65
8. Penghitungan Frekuensi Gen dan Nilai Heterosigositas Lokus Post Transferrin pada Sapi Jawa	68
9. Penghitungan Nilai Rataan Heterosigositas dan Standar Error pada Sapi Jawa	71

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sapi-sapi yang terdapat di Indonesia mempunyai karakteristik yang berbeda-beda. Perbedaan karakteristik tersebut antara lain disebabkan oleh keragaman genetiknya, keragaman genetik itu dimungkinkan oleh adanya program-program introduksi sapi impor yang dilakukan pemerintah. Sebagai contoh adalah program "ongolisasi" yaitu persilangan antara sapi-sapi lokal di Jawa dan Nusa Tenggara yang berpostur kecil dan berwarna merah dengan sapi-sapi impor yang berpostur besar dan berwarna putih.

Berdasarkan catatan sejarah, sekitar tahun 1806 dan 1812 terdapat sapi Zebu dari India yang pernah diimpor ke Jawa Timur untuk memperbaiki mutu genetik sapi lokal. Dijelaskan lebih lanjut bahwa dengan masuknya sapi-sapi impor maka dihasilkan sapi lokal yang berkelas seperti sapi Madura dan Aceh. Sapi Madura adalah sapi hasil persilangan antara *Bos sondaicus* (Sapi Bali) dan *Bos indicus* yang tumbuh dan berkembang di Madura. Diasumsikan bahwa sapi-sapi Indonesia adalah "hybrid" antara sapi lokal dengan sapi Ongole (*Bos indicus*).

Diantara sapi-sapi lokal di Indonesia, sapi Jawa merupakan salah satu jenis sapi yang mempunyai potensi dan nilai ekonomi untuk dikembangkan sebagaimana jenis sapi unggulan lain yang terdapat di Indonesia. Berdasarkan data lapang, sapi Jawa hanya dapat ditemukan di daerah Pantai Utara Jawa dan

sebagian kecil di daerah pegunungan tandus. Di tempat lain bahkan dimungkinkan sudah tidak dapat ditemukan.

Usaha pengembangan populasi sapi lokal seperti sapi Jawa sangat perlu dilakukan. Oleh karena itu penelitian pendahuluan untuk mengetahui informasi tentang sapi Jawa perlu dilakukan. Salah satu usaha yang bisa dilakukan adalah dengan penelitian karakteristik genetik melalui protein plasma darah sapi Jawa untuk mengetahui tingkat keragaman genetik sapi Jawa. Penelitian ini akan memberikan informasi awal tentang keragaman genetik sapi Jawa.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh data tipologi genetik sapi Jawa melalui pendekatan analisa keragaman protein darah dengan menggunakan metode elektroforesis pada lokus albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), ceruloplasmin (*Cp*) dan post transferrin (*Ptf*).

1.3. Manfaat Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mempunyai nilai keutamaan guna memberikan informasi keragaman genetik dalam rangka pengembangan sapi Jawa. Upaya tersebut sebagai kebijakan untuk implementasi dalam usaha konservasi sapi Jawa.

1.4. Kerangka Pemikiran

Sapi Jawa merupakan jenis sapi lokal yang ada di Indonesia. Sapi Jawa diduga mempunyai karakteristik genetik yang tidak dimiliki oleh jenis sapi lainnya di Indonesia.

Pengenalan dan pemetaan struktur genetik untuk mengetahui lebih jauh tentang karakter genetik sapi Jawa perlu dilakukan, salah satunya melalui identifikasi keragaman protein darah. Data hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai langkah kajian terapan di dalam upaya pengembangan dan konservasi sapi Jawa.

Keragaman protein darah pada sapi Jawa merupakan potensi biogenetik di dalam upaya peningkatan mutu genetik sapi Jawa. Agar mutu genetik ternak di wilayah sumber bibit dapat dipertahankan atau ditingkatkan, maka harus dilakukan seleksi yang berkelanjutan dengan cara memilih sapi yang mempunyai potensi keunggulan tinggi dan memberi kesempatan berkembangbiak. Salah satu cara yang dapat dilakukan sebagai tahap awal usaha seleksi adalah mendapatkan data tipologi genetik yaitu melalui pendekatan analisa keragaman protein darah. Metode elektroforesis pada lokus albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), ceruloplasmin (*Cp*) dan post transferrin (*Ptf*) dapat digunakan untuk mengetahui keragaman protein darah.

1.5. Hipotesis Penelitian

Diduga terdapat variasi/keragaman protein darah yang rendah meliputi lokus albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), ceruloplasmin (*Cp*) dan post transferrin (*Ptf*) - pada sapi Jawa yang terdapat di Kabupaten Brebes Jawa Tengah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sapi Lokal Indonesia

Sapi Bali, Madura, Jawa dan Peranakan Ongole dikenal sebagai jenis sapi yang terdapat di Indonesia dan mempunyai karakteristik warna kulit maupun ukuran-ukuran tubuh yang berbeda. Kondisi seperti ini dimungkinkan sebagai refleksi introgresi sapi-sapi *Bos indicus* dari India dan *Bos taurus* dari Eropa. Hardjosubroto dan Astuti (1980) menyatakan bahwa sapi Peranakan Ongole (PO) dianggap sebagai turunan langsung hasil perkawinan dengan sapi India, sedangkan Madura merupakan turunan sapi Bali. Karakteristik morfologi Peranakan Ongole dan sapi Madura adalah adanya punuk, sedangkan sapi Bali tidak berpunuk (Sutopo, 2001).

2.2. Sapi Jawa

Menurut Sutopo *et al.* (2001), sapi Jawa merupakan sapi lokal yang berasal dari persilangan antara *Bos indicus* (Zebu) dan *Bos sondaicus*. Lebih lanjut dijelaskan bahwa *Bos sondaicus* adalah sapi keturunan banteng dan merupakan sumber genetik asli bangsa-bangsa sapi Indonesia.

Sapi Jawa mempunyai penampilan luar hampir sama dengan sapi Madura, tetapi keragaan tubuhnya relatif lebih kecil dari sapi Madura (Rouse, 1976). Dijelaskan pula bahwa sapi Jawa banyak ditemukan di pulau Jawa. Oleh karena itu penyebutan istilah sapi Jawa ditetapkan sesuai dengan habitatnya. Penamaan

tersebut ditetapkan sama dengan sapi Madura. Dalam Ensiklopedi Indonesia (1992) disebutkan ciri-ciri sapi Jawa yaitu tergolong sapi kecil, pendek, berkepala kecil dan bertanduk besar, berotot kuat, ekornya bagus, serta warna bulu kebanyakan merah tua. Sapi Jawa jantan berwarna lebih kehitaman daripada sapi betina. Salah satu penampilan fenotipe sapi Jawa dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Penampilan Fenotipe Sapi Jawa

2.3. Studi Polimorfisme Protein Darah

2.3.1. Polimorfisme Protein Darah

Menurut Schonewald-Cox *et al.* (1983), polimorfisme protein darah mempunyai bentuk dan susunan kimia protein tertentu dan merupakan ekspresi dari gen protein tertentu, sedangkan ekspresi gen dari protein tersebut dapat ditentukan dengan prosedur biokimia, diantaranya adalah teknik elektroforesis. Sedangkan Nicholas (1987) dan Warwick *et al.* (1995) menyatakan bahwa studi polimorfisme protein darah adalah studi tentang karakteristik kimiawi dan perbedaan bentuk setiap protein darah dan pendeteksian dengan membedakan kecepatan gerakannya dalam elektroforesis gel. Lebih lanjut dijelaskan bahwa

molekul yang lebih besar akan bergerak lebih cepat dan lebih jauh dalam satuan waktu yang sama.

Menurut Maeda *et al.* (1980), bahwa polimorfisme protein darah dapat digunakan untuk mengetahui perubahan-perubahan yang terjadi secara biologis dan untuk pendugaan frekuensi gen dalam genetika populasi. Setiap jenis molekul protein memiliki muatan yang berbeda, sehingga pada saat pemisahan protein ("running"), berat molekul protein yang berbeda akan menempuh jarak yang berbeda pula serta dapat mencerminkan sifat protein tertentu (Tjahjaningsih, 1991).

Sejumlah besar perbedaan-perbedaan yang diatur secara genetis telah ditemukan dalam globulin (transferrin), albumin, enzim-enzim darah dan hemoglobin (Warwick *et al.*, 1995). Dijelaskan pula bahwa karakteristik enzim/protein darah tersebut banyak ditemukan keragaman genetis dalam spesies, bangsa atau galur-galur dalam spesies, selanjutnya polimorfisme protein darah tersebut diatur secara genetis oleh pasangan alel atau rangkaian alel.

2.3.2. Protein Plasma Darah

Menurut Harper *et al.* (1980), komposisi darah tersusun atas fraksi sel darah dan plasma darah. Fraksi sel tersebut terdiri dari darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit). Sel darah merah banyak mengandung protein hemoglobin, sedangkan plasma darah mengandung protein albumin dan transferrin (Sofro, 1991).

Fraksi plasma darah mengandung unsur yang tidak dapat berdifusi yaitu albumin, globulin (transferrin), fibrinogen dan lipida, sedangkan unsur yang dapat berdifusi meliputi produk katabolisme, seperti kreatinin, urea dan asam urat serta anabolisme yang berupa glukosa, asam amino dan kreatin (Harper *et al.*, 1980). Ditambahkan pula bahwa zat-zat lain yang terdapat dalam plasma darah yaitu zat anorganik berupa Natrium, Kalium, Klorida dan tembaga, serta terdapat pula hormon, vitamin dan enzim

Menurut Harper *et al.* (1980), protein plasma darah sebagian besar berupa fraksi albumin dan globulin plasma. Hal ini dikarenakan bahwa sebagian besar fibrinogen telah disingkirkan pada saat proses pembekuan. Selanjutnya albumin dan globulin (transferrin) merupakan protein plasma darah yang mempunyai volume terbesar dalam plasma darah (Martin *et al.*, 1983 dan Harper *et al.*, 1980). Dijelaskan pula bahwa albumin merupakan protein plasma terbesar dan berperan dalam mempertahankan tekanan osmotik darah.

Protein merupakan penampilan bentuk alel pada lokusnya yang akan diwariskan dari generasi ke generasi (Nicholas, 1987). Menurut Tjahjaningsih (1991), keragaman pola pita protein darah disebabkan oleh keragaman gen-gen yang mengatur sifat-sifat yang diekspresikan oleh pita-pita protein, sedangkan banyaknya kelompok keragaman bentuk protein darah menunjukkan adanya karakteristik keragaman protein darah.

Analisa keragaman "native cattle" seperti pada sapi Jawa, Bali, Madura dan Peranakan Ongole pada 25 lokus protein darah telah dilakukan Sutopo *et al.* (2001). Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya tingkat polimorfisme yang

berbeda. Lokus-lokus polimorfisme yang diamati meliputi albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), post transferrin (*Ptf*), ceruloplasmin (*Cp*), amylase-I (*Am-I*), carbonic anhydrase (*CA*), diaphorase-II (*Dia-II*), hemoglobin- α (*Hb- α*), hemoglobin- β (*Hb- β*) dan peptidase-B (*Pep-B*). Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa sapi-sapi yang terdapat di Indonesia mempunyai keragaman genetik yang berbeda.

2.3.3. Albumin (*Alb*)

Albumin adalah salah satu jenis protein di dalam plasma darah yang berjumlah antara 3-5% dari total volume darah atau sekitar 35-50% dari total protein plasma (Kaneko, 1980 dan Pierce, 1993). Albumin mempunyai peranan penting dalam pengangkutan berbagai macam asam amino ke berbagai jaringan tubuh dan ikut mempertahankan keseimbangan tekanan osmosis darah. Perbedaan karakter albumin ditentukan secara genetik dan menentukan spesifikasi dalam pengangkutan asam amino (Harper *et al.*, 1980).

Gahne *et al.* (1977) menyatakan bahwa albumin (*Alb*) homosigot tipe A ditunjukkan dengan satu pita mayor dan satu pita minor yang lebih lambat. Dijelaskan pula bahwa albumin heterosigot (AB) dapat ditemukan pada beberapa sapi Charolais yang ditunjukkan dengan penambahan albumin mayor yang lebih lambat.

Thohari *et al.* (1991) melaporkan adanya pita albumin (*Alb*) pada jalak Bali yang terdiri dari satu pita yang berbentuk lonjong, yang dinyatakan sebagai lokus albumin homosigot. Lokus albumin heterosigot belum ditemukan dalam

penelitiannya. Albumin B memiliki frekuensi gen yang tinggi pada sapi Madura, Jawa, dan Peranakan Ongole, sedang albumin C lebih banyak ditemukan pada sapi Bali (Sutopo *et al.*, 2001).

2.3.4. Transferrin (*Tf*)

Transferrin (*Tf*) atau *siderophilin* adalah β globulin dari protein plasma, mempunyai bentuk globular dengan berat molekul 90.000 Dalton, sedangkan prosentase transferrin di dalam plasma darah berjumlah 8-14% dari total protein plasma (Harper *et al.*, 1980).

Globulin merupakan bagian dari protein plasma yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam asam encer, basa dan garam encer, dan globulin merupakan campuran yang kompleks dan komponennya terdiri dari mukoprotein, glikoprotein, lipoprotein serta gamma globulin (Harper *et al.*, 1980). Lebih lanjut Martin *et al.* (1983) menyatakan bahwa globulin dapat dipisahkan secara elektroforesis menjadi α , β dan γ globulin.

Beta globulin adalah fibrinogen yang disintesa di dalam hati dan merupakan bagian penting pada mekanisme pembekuan darah, sedangkan fraksi gamma globulin merupakan tempat utama antibodi beredar, yang disebut immunoglobulin dan erat kaitannya dengan aktivitas serum darah (Martin *et al.*, 1983). Selanjutnya peran pokok transferrin adalah mengangkut zat besi (Fe) untuk diedarkan ke seluruh tubuh, serta zat besi itu di dalam sumsum tulang belakang digunakan sebagai bahan penyusun hemoglobin (Scifo, 1991).

Gahne *et al.* (1977) melaporkan adanya 10 tipe Tf pada sapi Swedish Red and White, Swedish Friesian, Charolais, Hereford dan Simmental yang diberi nama Tf tipe A, D1, D2, E dan pasangan kombinasinya yang memiliki 6 pita untuk lokus homosigot, dan 8-12 pita untuk lokus heterosigot.

Hasil penelitian Sutopo (2001), menunjukkan alel-alel baru pada sapi-sapi yang berasal dari Indonesia. Alel-alel baru tersebut ditemukan pada lokus transferrin, hemoglobin α , dan hemoglobin β . Selanjutnya pada lokus transferrin alel baru tersebut dinamakan Tf D2Bali dan Tf EBali. Ditambahkan pula bahwa dengan menggunakan metoda horisontal poliakrilamide gel elektroforesis, Tf D2Bali bergerak lebih lambat ke arah anoda positif dibandingkan dengan alel Tf D2 pada sapi-sapi Eropa, serta alel Tf EBali juga bergerak lebih lambat ke arah anoda positif dibandingkan dengan Tf E.

2.3.5. Post Transferrin (*Ptf*)

Menurut Gahne *et al.* (1977), pada lokus post transferrin (*Ptf*) ditemukan adanya *Ptf* tipe F, S dan FS. Dinyatakan pula bahwa *Ptf* F dan *Ptf* S merupakan dua alel kodominan yang mengontrol kemunculan tipe *Ptf* FS.

Dua alel pada lokus post transferrin (*Ptf*) yaitu *Ptf* F dan *Ptf* S ditemukan oleh Namikawa *et al.* (1982), tetapi pada lokus post transferrin tersebut terdapat perbedaan antara kelompok sapi Bali dan Banteng dibanding sapi-sapi lain seperti sapi Madura dan sapi Peranakan Ongole. Dijelaskan pula bahwa pada sapi Bali dan Banteng frekuensi *Ptf* F lebih tinggi dibanding frekuensi *Ptf* S, sedangkan pada sapi Madura dan Peranakan Ongole frekuensi *Ptf* S lebih tinggi dibanding

frekuensi Ptf F. Pada penelitian Sutopo *et al.* (2001), pada sapi Bali tidak ditemukan plasma post transferrin S (*Ptf S*), sedangkan pada sapi Madura, Jawa, dan Peranakan Ongole Ptf F lebih sedikit ditemukan dibandingkan dengan Ptf S.

2.3.6. Ceruloplasmin (*Cp*)

Serum ceruloplasmin (*Cp*) merupakan salah satu serum darah sapi yang diteliti oleh Namikawa *et al.* (1982) selain serum albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), post transferrin (*Ptf*), amylase (*Am*) dan alkalin phosphatase (*Alp*). Ditambahkan pula bahwa pada sapi Bali dan Banteng, ceruloplasmin tipe S (*Cp S*) mempunyai frekuensi yang tinggi, sedangkan ceruloplasmin tipe F (*Cp F*) mempunyai frekuensi yang tinggi terdapat pada sapi Zebu.

Menurut Sutopo *et al.* (2001), pada sapi Bali, sapi Jawa, sapi Madura dan sapi Peranakan Ongole ditemukan protein plasma darah ceruloplasmin tipe S (*Cp S*) dan ceruloplasmin tipe F (*Cp F*). Lebih lanjut dijelaskan pula bahwa frekuensi genetik alel *Cp S* pada sapi Bali lebih tinggi, sedangkan frekuensi genetik alel *Cp F* lebih tinggi pada sapi Madura, sapi Jawa, dan sapi Peranakan Ongole.

2.4. Metode Elektroforesis

Menurut Harper *et al.* (1980) dan Andrew (1993), elektroforesis adalah suatu cara analisa kimia yang didasarkan pada gerakan molekul bermuatan dalam medan listrik. Selanjutnya pergeseran molekul dalam medan listrik dipengaruhi oleh ukuran, bentuk, besar muatan dan sifat kimia dari molekul. Ditambahkan

pula bahwa berbagai komponen protein suatu campuran, seperti plasma, pada nilai pH di atas dan dibawah titik isoelektriknya akan bermigrasi di dalam berbagai kecepatan dalam larutan tersebut.

Teknik elektroforesis dapat digunakan untuk analisa dan studi keragaman protein darah (Maeda *et al.* 1980). Dijelaskan pula bahwa elektroforesis tidak hanya digunakan untuk mendeteksi variasi alel/gen dari suatu individu tertentu, tetapi dapat juga digunakan untuk menduga variasi genetik dalam populasi.

Elektroforesis dibedakan menjadi dua macam, yaitu elektroforesis larutan "moving boundry elektroforesis" dan elektroforesis zona "zona elektroforesis" (Harper *et al.*, 1980 dan Andrew, 1993). Menurut Tranggono (1990), yang dimaksud dengan elektroforesis larutan atau elektroforesis bebas adalah elektroforesis yang dilakukan pada larutan bebas tanpa menggunakan medium penyangga, sementara itu elektroforesis zona adalah elektroforesis yang menggunakan medium penyangga yang relatif stabil. Ditambahkan pula bahwa molekul-molekul protein yang dipisahkan dengan elektroforesis zona, akan membentuk zona sempit atau pita protein yang saling memisah sebagai akibat proses elektroforesis, serta berdasarkan medium penyangga yang digunakan pada elektroforesis zona dapat dibedakan atas "starch gel electrophoresis", elektroforesis gel poliakrilamid, elektroforesis sellulosa asetat, elektroforesis agar gel dan elektroforesis kertas.

Menurut Tjahjaningsih (1991), jika dibandingkan antara analisa dengan teknik gel pati dan gel akrilamida, maka analisa dengan menggunakan gel akrilamida menghasilkan jumlah pita yang lebih banyak dan pola pita protein

yang lebih bervariasi. Dijelaskan pula bahwa teknik gel pati relatif membutuhkan bahan-bahan kimia yang lebih murah dan mudah didapat, namun menghasilkan jumlah pita protein yang relatif lebih sedikit.

Penggunaan gel poliakrilamida mempunyai banyak keuntungan antara lain (Sayuthi *et al.*, 1988):

- Bila menggunakan gel pati mempunyai sedikit kekurangan dalam penentuan ukuran pori dari gel, sedang bila menggunakan gel poliakrilamida dapat mengatasi masalah ukuran pori ini.
- Dengan menggunakan gel poliakrilamida diperoleh pemisahan yang lebih baik karena selain perbedaan mobilitas juga penyaringan yang lebih baik.
- Gel poliakrilamida dapat melakukan absorpsi protein yang minimum, waktu analisa yang cepat, pembuatan gel dan pewarnaan yang mudah, pengulangan hasil yang sama dan ukuran pori yang dapat diatur.

Pada penelitian Indarwati (1988) bahwa penggunaan "running gel" (5% akrilamida) dan "stacking gel" (3,4% akrilamida). Dijelaskan oleh Kurniasih (1988), bahwa gel akrilamida adalah "running gel", sedangkan "stacking gel" berfungsi sebagai penyentak/penggertak awal pergerakan dari contoh darah dan untuk membentuk lekukan-lekukan pada gel sebagai tempat contoh darah. Selanjutnya perbandingan dari "running gel" dan "stacking gel" harus seimbang. Jika tidak sesuai, maka gel tidak terbentuk.

Polimerisasi dari akrilamida dirangsang dengan adanya radikal bebas dari Bis (N'N'-methylene-bis-acrylamid) sebagai senyawa penghubung antara rantai poliakrilamida (Sayuthi *et al.*, 1988). Dijelaskan pula bahwa Amonium persulfat

bertindak sebagai inisiator dan Temed (N,N,N',N' -tetramethylene diamine) bertindak sebagai katalisator. Lebih lanjut dijelaskan bahwa elektroforesis gel biasanya dilakukan dalam keadaan basa, dimana hampir semua polimer biologi akan bermuatan negatif. Ketika diberi aliran listrik komponen-komponen protein akan bergerak ke arah anoda (positif).

2.5. Frekuensi Gen

Menurut Schonewald-Cox *et al.* (1983), frekuensi gen adalah perbandingan suatu gen terhadap gen lain dalam lokus yang sama pada suatu populasi. Frekuensi gen dalam suatu populasi dapat berada dalam keadaan konstan atau berubah dari satu generasi ke generasi tergantung dari berbagai pengaruh, diantaranya seleksi, mutasi, "genetic drift" dan migrasi (Schonewald-Cox *et al.*, 1983 dan Warwick *et al.*, 1995).

Seleksi adalah tindakan memilih individu yang mempunyai karakter baik dan mampu menyesuaikan terhadap kondisi lingkungan. Dijelaskan pula bahwa seleksi terhadap suatu karakter mengakibatkan hanya gen-gen dengan karakter tertentu saja yang dikehendaki berkembang dalam populasi (Suryo, 2001 dan Warwick *et al.*, 1995).

Menurut Noor (2000), mutasi adalah suatu perubahan kimia gen yang berakibat berubahnya fungsi gen. Selanjutnya jika gen mengalami mutasi dengan kecepatan tetap maka frekuensi gen akan sedikit menurun, sedangkan frekuensi alel akan meningkat. Laju mutasi tersebut sangat bervariasi dari satu kejadian

mutasi ke kejadian lain. Namun laju tersebut relatif rendah (kira-kira 1 dalam 1 juta penggandaan gen).

“Genetic drift” adalah perubahan kemampuan gen terjadi di dalam suatu populasi, dan biasanya terjadi pada populasi yang mempunyai ukuran kecil. Ukuran populasi yang relatif kecil sering terjadi perkawinan “inbreeding”. Perkawinan “inbreeding” tersebut cenderung meningkatkan jumlah populasi individu yang homosigot dalam populasi (Hartl, 1980).

Menurut Noor (2000), migrasi adalah perpindahan populasi, sehingga terjadi pencampuran dua populasi yang frekuensi gennya berbeda yang dapat mengubah frekuensi gen tertentu. Selanjutnya frekuensi gen tersebut merupakan rataan dari frekuensi gen dari dua populasi.

2.6. Heterosigositas

Heterosigositas adalah penggambaran heterogenitas penyebaran suatu gen di dalam populasi. Heterosigositas tersebut merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam suatu populasi (Maeda *et al.*, 1980). Lebih lanjut dijelaskan bahwa keragaman genetik tersebut diketahui berdasarkan nilai heterosigositas dari tiap-tiap lokus dan nilai heterosigositas rata-rata dari berbagai lokus. Menurut Schonewald-Cox *et al.* (1983), terdapat korelasi positif antara keragaman genetik, heterosigositas dan ukuran populasi, serta pengaruh yang sangat nyata pada heterosigositas dan tingkat keragaman genetik terhadap variasi parameter biologis.

Keragaman genetik dapat ditunjukkan dalam suatu populasi. Keragaman genetik tersebut dapat diketahui diantaranya dengan melihat heterosigositas dari berbagai jenis protein plasma darah (Maeda *et al.*, 1980). Selanjutnya menurut Thohari *et al.* (1993), heterosigositas dapat diartikan keragaman genetik atau keragaman alelik (yaitu jumlah alel-alel khas yang terdapat dalam suatu populasi). Keragaman genetik tersebut akan meningkat disebabkan oleh adanya jumlah individu yang lebih besar dalam populasi. Ditambahkan pula bahwa pada populasi yang kecil akan menyebabkan individu-individu homosigot untuk alel-alel spesifik dalam setiap populasi. Hal tersebut akan menyebabkan terjadinya "inbreeding" pada populasi lokal.

Ukuran populasi yang harus dipertahankan untuk tetap menjamin keragaman genetik dalam pengelolaan jangka pendek minimal 50 individu dan untuk jangka panjang minimal 500 individu (Soule, 1986). Haig dan Nordstrom (1991) menyatakan bahwa dalam jangka panjang populasi besar akan kehilangan variabilitas atau keragaman genetik kecuali individu baru dimasukkan dalam populasi tersebut, sedangkan strategi pengembangan yang diterapkan dalam populasi kecil adalah memperbesar populasi tersebut secepat mungkin, dan kemudian secara teratur dimasukkan individu-individu baru dari populasi lain.

BAB III

METODOLOGI

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian tentang “Keragaman Protein Darah (Albumin, Transferrin, Ceruloplasmin, dan Post Transferrin) sebagai Parameter Biogenetik Pada Sapi Jawa” dilaksanakan pada bulan Januari 2004 sampai dengan April 2004 di Peternakan Rakyat Kab. Brebes Jawa Tengah, dan di Laboratorium Ilmu Pemuliaan dan Genetika Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

3.2. Materi dan Alat Penelitian

3.2.1. Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan adalah 30 sampel darah sapi Jawa (*Bos indicus*) yang terdapat di wilayah Kecamatan Banjarharjo dan Ketanggungan, Kabupaten Brebes.

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian keragaman protein darah sapi Jawa terdiri dari anti koagulan (heparin), alkohol 70%, garam fisiologis (NaCl 0,9%), asam klorida 1% (HCl 1%), acrilamida, bis (N’N’ metilene bisacrilamid), gliserol, tris (hidroksimetil-aminoeta), amonium persulfat ((NH₄)₂S₂O₈), temed (N,N,N’N’ tetrametil etilendiamin), glisin, bromophenol blue (BB), methanol (CH₃OH), asam asetat (CH₃COOH), amido black (AB) dan aquadest (H₂O).

3.2.2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah spuit/alat suntik, “cooler bag”, tabung reaksi, “erlenmeyer”, gelas piala, pipet tetes biasa, pipet mikro, “cook micrometer”, “stirrer”, “centrifuge”, “refrigerator”, timbangan digital, seperangkat alat elektroforesis vertikal, bilahan kaca, silinder plastik, mistar plastik, penjepit dan tempat untuk pewarnaan/pencucian yang berupa baki-baki plastik.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Penentuan Unit Pengamatan Sapi

Pengambilan sampel dilakukan secara “purposive sampling” dengan pertimbangan bahwa wilayah tersebut diduga merupakan “gene pool” sapi Jawa. Sebelum pelaksanaan pengambilan sampel darah, dilakukan wawancara kepada pemilik sapi guna memperoleh informasi hubungan kekeluargaan sapi-sapi yang akan digunakan untuk penelitian. Sapi-sapi yang masih berkerabat tidak diambil darahnya.

3.3.2. Penyiapan Sampel Darah Sapi

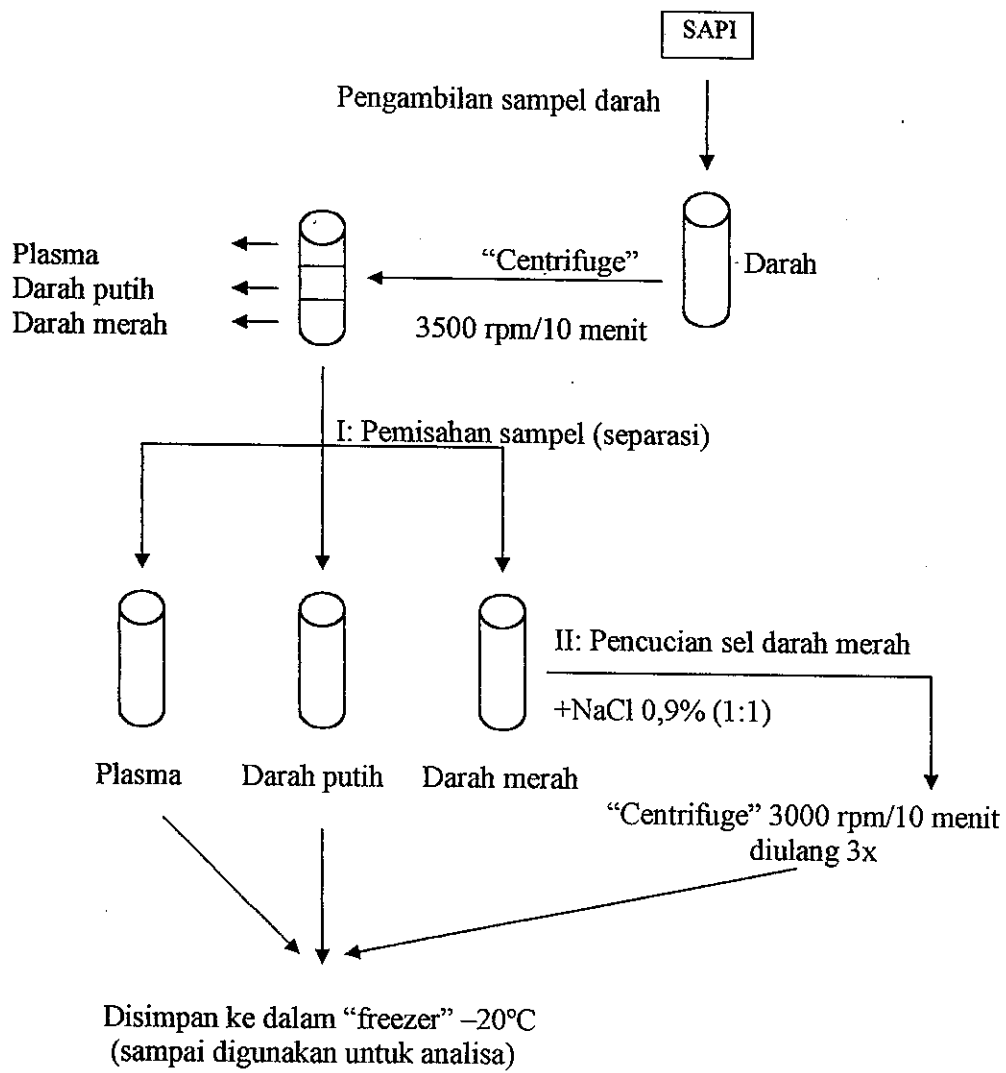
Pengambilan sampel darah dilakukan melalui *vena jugularis* dengan menggunakan “vacuum shirync” steril yang telah berisi zat anti koagulan (heparin) agar darah tidak membeku. Darah diambil sebanyak 10 ml, kemudian langsung disimpan pada “cooler bag” untuk menghindari kerusakan selama transportasi.

Sampel darah disentrifus (merk Hitachi) selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm pada suhu 10°C. Setelah disentrifus, sampel darah akan terpisah antara plasma darah, darah putih, dan darah merah. Masing-masing bagian tersebut dipisahkan dan dimasukkan ke dalam "minitube" dan disimpan dalam "freezer" pada suhu -20°C. Sebelum digunakan untuk proses elektroforesis (lokus-lokus lain), darah merah dicuci dengan larutan Natrium Chloride 0.9% sebanyak 3 kali guna menghilangkan lemak yang terkandung di dalamnya. Setelah itu disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan untuk proses elektroforesis. Diagram proses pemisahan sampel darah dan pencucian darah dapat dilihat pada Ilustrasi 2.

3.3.3. Metode Pembuatan Larutan

Pada penelitian ini digunakan metode Gahne *et al.* (1977) yaitu aplikasi elektroforesis dengan gel akrilamida ("running gel" dan "stacking gel"). Sementara itu metode yang digunakan oleh Thinnes *et al.* (1975) diaplikasikan dalam pembuatan larutan untuk pewarnaan ("staining") dan larutan pencucian ("destaining").

Campuran bahan-bahan yang digunakan untuk "running gel" (Bahan I) dan "stacking gel" (Bahan II) dalam penelitian dijelaskan pada Tabel 1 dan Tabel 2.



Ilustrasi 2. Diagram Proses Pemisahan Sampel Darah dan Pencucian Sel Darah Merah

Tabel 1. Bahan-bahan yang Digunakan untuk "Running Gel"

Komposisi larutan	Nama bahan	Jumlah
IA	Acrylamida	39 g
	Bis	1 g
	Glyserol	20 ml
	Aquades	"mass up" 100 ml
IB	Tris	9,15 g
	HCl	3 ml
	Aquades	"mass up" 100 ml
IC	Amonium persulfat	0,2 g
	Aquades	"mass up" 100 ml
ID	Temed	400 μ l
	Aquades	"mass up" 100 ml

Tabel 2. Bahan-bahan yang Digunakan untuk "Stacking Gel" (Penggertak)

Komposisi larutan	Nama bahan	Jumlah
IIA	Acrylamida	38 g
	Bis	2 g
	Gyserol	20 g
	Aquades	"mass up" 100 ml
IIB	Tris	1,5 g
	HCl	1 ml
	Aquades	"mass up" 100 ml
IIC	Amonium persulfat	0,4 g
	Aquades	"mass up" 100 ml
IID	Temed	200 μ l
	Aquades	"mass up" 100 ml

Disamping bahan-bahan sebagaimana dijelaskan pada Tabel 1 dan Tabel 2, diperlukan pula beberapa bahan sediaan yang lain, yaitu:

Bahan III, yaitu bahan kimia yang dipergunakan untuk pembuatan "Elektroda buffer", meliputi: 1,5 g Tris; 7,2 g Glysin ditambahkan aquades sampai volume menjadi 100 ml.

Bahan IV, yaitu bahan kimia yang dipergunakan untuk melarutkan sampel, meliputi:

- Tris 1,52 g yang ditambahkan aquades supaya total volume menjadi 25 ml. Lebih lanjut dilakukan pula pengukuran derajat keasaman larutan Tris HCl buffer. Setetes demi setetes HCl dimasukkan ke dalam larutan Tris HCl buffer sedemikian rupa sehingga pH meter menunjukkan angka 6,8.
- "Bromophenol blue" 0,01%, dibuat dengan cara mencampurkan 0,0025 g "Bromophenol blue" ditambah aquades supaya menjadi 25 ml. Larutan tersebut diambil sebanyak 20 ml untuk dipergunakan sebagai pewarna sampel.
- Disamping itu sebanyak 40 ml Glycerol dilarutkan dalam 15 ml aquades dipergunakan untuk melengkapi sediaan IV.

Selanjutnya sebanyak 26 ml larutan Tris buffer dicampur dengan larutan "Bromophenol blue" sebanyak 20 ml. Selain itu ditambahkan pula Gliserol sebanyak 40 ml dan aquades sebanyak 15 ml. Larutan tersebut digunakan untuk mewarnai sampel dan membantu proses perjalanan protein ketika dilakukan proses "running" elektroforesis.

Bahan V, yaitu bahan kimia yang dipergunakan untuk pewarnaan gel elektroforesis ("staining"), terdiri dari: 0,5 g Amido black, 25 ml Methanol (CH_3OH), 5 ml Asam asetat (CH_3COOH) dan 22,5 ml aquades (H_2O). Keempat bahan tersebut diaduk sedemikian rupa sehingga menjadi larutan pewarnaan yang homogen. Selanjutnya disaring dengan kertas Whatman no.1 supaya diperoleh hasil larutan yang baik.

Bahan VI, yaitu bahan kimia yang dipergunakan untuk pencucian gel elektroforesis (“destaining”), terdiri dari: 800 ml aquades (H_2O), 250 ml Methanol (CH_3OH), dan 100 ml Asam asetat (CH_3COOH). Bahan-bahan tersebut dicampur dalam “erlenmeyer”, kemudian diaduk sedemikian rupa sehingga homogen.

Bahan-bahan untuk “running gel”, “stacking gel”, “elektroda buffer”, dan larutan/campuran sampel disimpan dalam “refrigerator”, sedangkan bahan untuk pewarnaan gel elektroforesis dan pencucian gel elektroforesis disimpan dalam botol gelap pada suhu ruang.

3.3.4. Pembuatan Media Gel Elektroforesis (“running gel” dan “stacking gel”)

Gel elektroforesis dibuat dengan menggunakan poliakrilamid pada “slab” gel vertikal sesuai petunjuk Ogita dan Markert (1979).

Bahan yang dipersiapkan terdiri atas bahan “running gel” dan “stacking gel”. Komposisi bahan untuk “running gel” dan “stacking gel” (Gahne *et al.*, (1977) dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Komposisi Bahan untuk "Running Gel"

Bahan	Jumlah
IA	4,0 ml
IB	5,0 ml
IC	2,5 ml
ID	2,5 ml
Aquades	6,0 ml

Tabel 4. Komposisi Bahan untuk "Stacking Gel"

Bahan	Jumlah
IIA	2,0 ml
IIB	5,0 ml
IIC	2,5 ml
IID	2,5 ml
Aquades	8,0 ml

Pembuatan gel elektroforesis dilakukan dengan 2 tahap, yaitu:

Tahap 1, yaitu memasukkan larutan "running gel" pada plate gel. Plate gel yang dipakai untuk penelitian ini terbuat dari bahan kaca berbentuk segi empat dengan ukuran 20 x 22 cm. Larutan "running gel" dimasukkan pada sela-sela rongga antara 2 lapisan kaca plate gel. Supaya larutan "running gel" tidak merembes keluar di antara 2 lapisan kaca, maka dilengkapi pula dengan karet dan alat penjepit untuk memperkuat posisi lapisan tersebut.

Larutan "running gel" dimasukkan perlahan-lahan ke dalam plate gel dengan menggunakan pipet hingga mencapai batas ketinggian kurang lebih tiga per empat dari bagian puncak plate gel. Segera setelah itu (tanpa menunggu gel

tersebut kering/memadat), dimasukkan pula larutan isobutanol hingga menutupi seluruh permukaan rata larutan "running gel". Setelah "running gel" mengeras/padat, maka dapat dilanjutkan dengan memasukkan "Stacking gel" ke dalam plate yang sama.

Tahap 2, yaitu memasukkan "stacking gel" dalam plate elektroforesis yang sama.

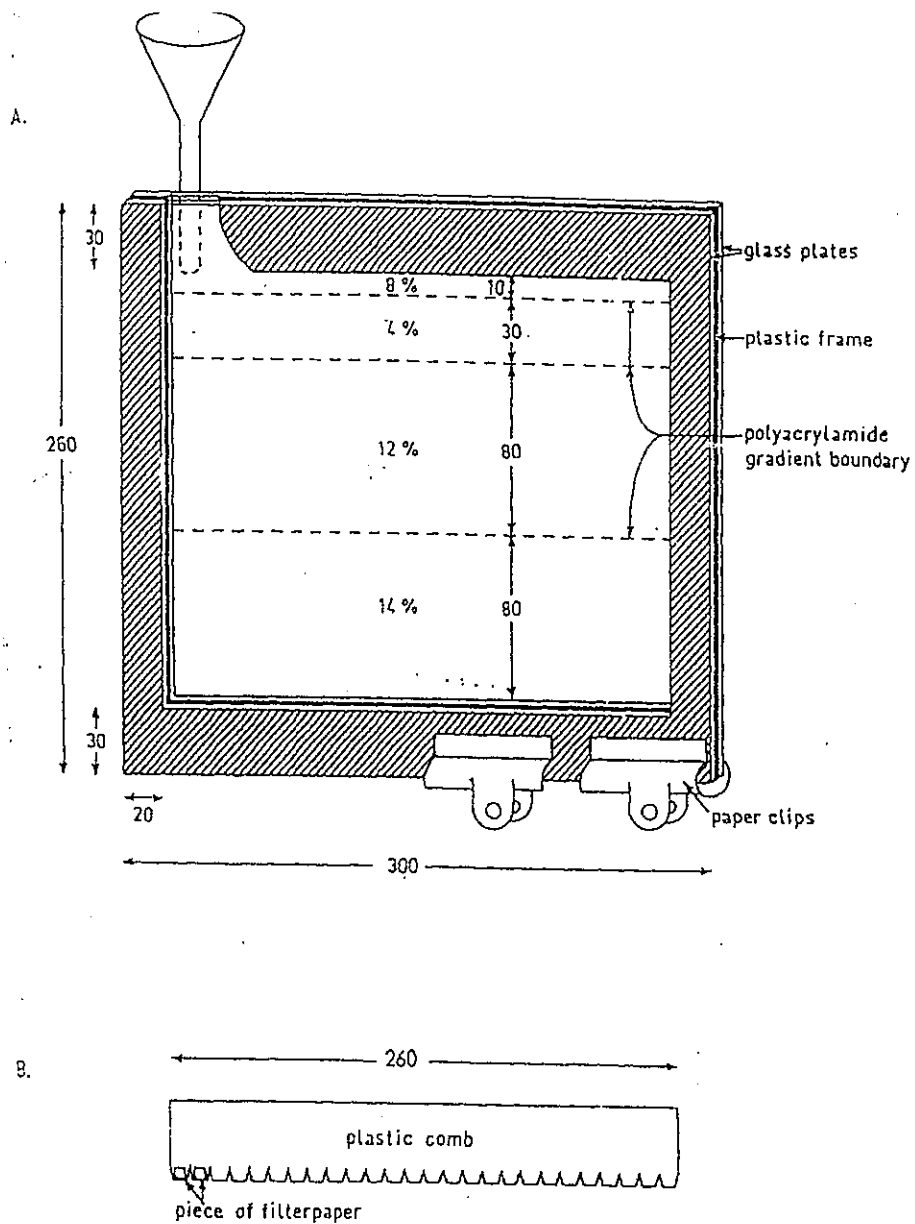
Sedikit demi sedikit dengan menggunakan pipet, larutan "stacking gel" dimasukkan ke dalam plate gel sampai batas atas puncak. Sebelum gel tersebut mengeras, dimasukkan sisir yang terbuat dari mika ke dalam sela-sela rongga antara 2 kaca (Ilustrasi 3).

Setelah gel mengeras, sisir diambil/diangkat secara perlahan. Lubang yang terbentuk inilah yang akan berfungsi sebagai tempat untuk meletakkan sampel plasma darah. Satu lubang digunakan untuk satu sampel. Perbandingan antara volume sampel dengan volume pelarut sampel adalah 0,4 μ l dengan 0,4 μ l (1 : 1) yang dimasukkan pada tiap-tiap lubang.

3.3.5. Pengisian Elektroda Buffer

Pengisian elektroda buffer dilakukan sebelum pemasangan gel poliakrilamid dalam papan elektroforesis. Pengisian elektroda buffer dilakukan dalam tempat yang tersedia dibawah tempat slab gel. Cara pemasangan slab gel yaitu sampai bagian bawah slab gel menyentuh bagian bawah larutan buffer.

Pengisian larutan elektroda buffer jangan sampai terjadi gelembung udara. Jika terdapat gelembung udara di dalam gel, akan menghambat aliran listrik yang



Ilustrasi 3. Diagram Rangkaian Kaca untuk Pembuatan Gel Poliakrilamida (A) dan Sisir untuk Pembuatan Lubang Sampel Darah dalam Gel Poliakrilamida (B) sesuai Petunjuk Gahne *et al.* (1977)

terjadi, sehingga akan mempengaruhi proses pemisahan protein. Tiap-tiap komponen protein akan bergerak dalam mobilitas elektroforesis yang berbeda-beda, tergantung dari berat molekul masing-masing komponen. Dalam proses pewarnaan terlihat pita protein yang berbeda-beda.

Larutan elektroda buffer berfungsi untuk mempertahankan pH yang tetap dalam unit elektroforesis dan gel akrilamida juga berfungsi sebagai elektrolit yang menghasilkan arus sepanjang medan listrik. Larutan buffer kemungkinan dapat mempengaruhi pembentukan pita protein.

3.3.6. Proses Elektroforesis

Proses elektroforesis berguna untuk memisahkan antara pita protein plasma albumin (*Alb*), ceruloplasmin (*Cp*), post transferrin (*Ptf*) dan transferrin (*Tf*). Pada penelitian ini untuk "running gel" dan "stacking gel" digunakan masing-masing 8% dan 4% akrilamida. Arus yang digunakan untuk melakukan "running" elektroforesis pada lokus albumin, transferrin, ceruloplasmin, dan post transferrin adalah 30 mA, 220 volt. Waktu yang diperlukan untuk "running" elektroforesis pada penelitian ini adalah 5 jam.

Pada saat arus listrik dijalankan, ion buffer dan protein atau asam inti yang terdapat dalam sampel akan masuk dalam "stacking gel", sehingga glycine akan berbentuk zwitterion sehingga bermuatan nol. Supaya arus tetap mengalir maka protein dan asam inti yang pada pH tersebut masih bermuatan negatif akan mengambil alih posisi glycine. Dengan demikian dalam "stacking gel" akan diperoleh gerakan sebagai berikut: ion klorida > protein/asam nukleat > glycine.

Sampel akan cenderung berkumpul menjadi satu pita tipis dan terletak diantara glycine dan ion Clorida.

Pada saat digunakan "running gel", maka glycine akan bermuatan negatif. Sebagai pembawa arus sekarang yaitu ion glycine dan ion clorida. Kenaikan pH akan menyebabkan kenaikan mobilitas protein. Kenaikan konsentrasi, kecepatan gerakan molekulnya sebagai berikut: ion klorida > glycine > protein/asam inti.

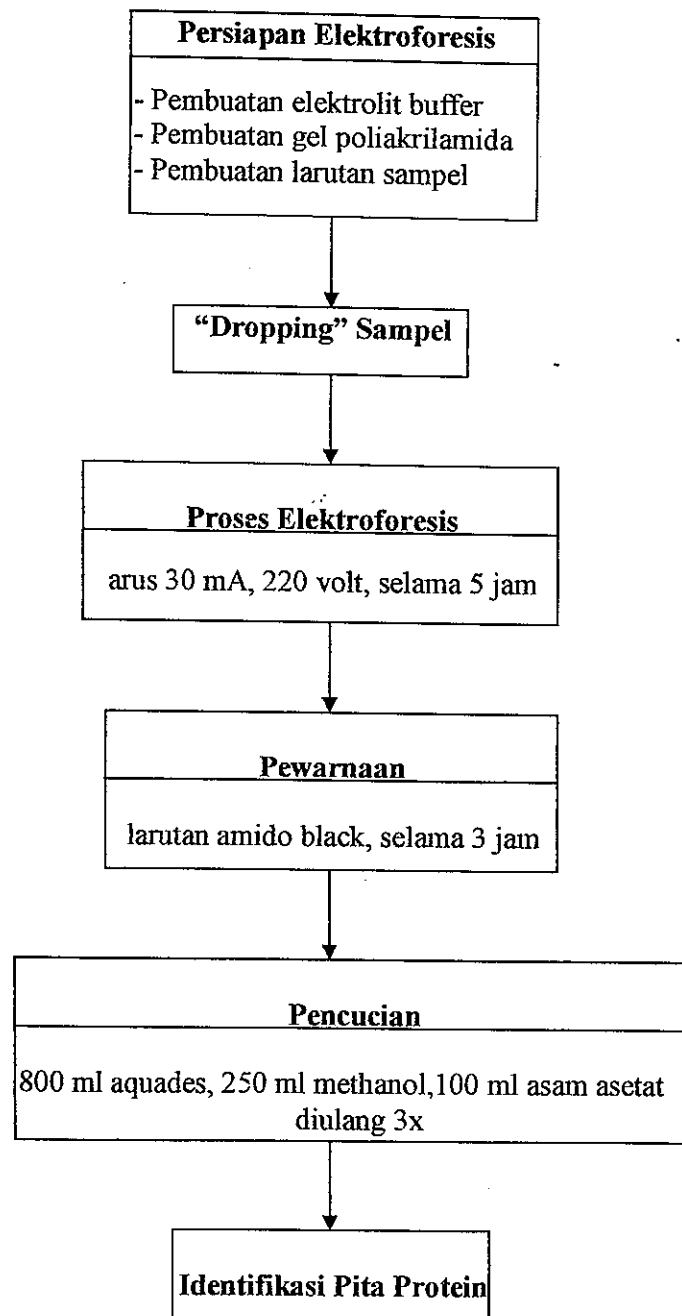
Pita albumin, transferrin, ceruloplasmin, dan post transferrin dapat dilihat setelah dilakukan pewarnaan ("staining") dengan larutan "amido black" yang terdiri dari 0,5 g amido black, 25 ml methanol, 5 ml asam asetat, dan 22,5 ml aquades. Gel direndam dalam larutan amido black selama 3 jam. Pencucian ("destaining") dilakukan dengan "glacial acid".

Larutan pencuci terdiri dari methanol, asam asetat, dan "distilled water" dengan perbandingan masing-masing 2,5:1:8. Pencucian dilakukan 3 kali, dengan cara menggantikan larutan "destaining" berulang-ulang. Diagram lengkap tahapan penelitian ini dapat dilihat pada Ilustrasi 4.

Pita yang dihasilkan dari proses elektroforesis dibaca sesuai standar Internasional.

3.4. Variabel yang Diamati

Variabel penelitian tentang keragaman protein plasma darah pada sapi Jawa meliputi pita-pita albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), ceruloplasmin (*Cp*) dan post transferrin (*Ptf*).



Ilustrasi 4. Diagram Prosedur Analisa Protein Plasma Darah dengan Metode Elektroforesis (Menurut Ogita dan Markert, 1979)

3.3. Analisis Data

3.5.1. Frekuensi Gen

Pola polimorfisme protein diidentifikasi berdasarkan jumlah pita yang terbentuk dan laju migrasi yang terjadi pada gel sebagai medium penunjang. Frekuensi alel dan genotipe masing-masing lokus protein dihitung berdasarkan metode Warwick *et al.* (1995).

$$q_A = \frac{\sum \text{lokus } A}{\sum \text{lokus } A + \sum \text{lokus } a}$$

$$(1-q)_a = \frac{\sum \text{lokus } a}{\sum \text{lokus } A + \sum \text{lokus } a}$$

Keterangan:

q_A = frekuensi alel A

$(1-q)_a$ = frekuensi alel a

3.5.2. Keragaman Genetik

Pendugaan nilai keragaman genetik ditentukan menggunakan rumus heterosigositas (h) dan rata-rata heterosigositas (\bar{H}) menurut Nei (1987).

$$h = 1 - \sum q_i^2 \qquad \bar{H} = \frac{1 - \sum q_i^2}{r}$$

Keterangan: q_i = frekuensi gen ke-i h = heterosigositas

r = jumlah lokus yang diamati \bar{H} = rata-rata heterosigositas

Standar Error (SE) atau nilai kesalahan dihitung sebagai akar dari variasi heterosigositas (\sqrt{h}) tiap lokus dan akar dari rata-rata heterosigositas ($\sqrt{\bar{H}}$).

$$SE(h) = \sqrt{\left[\frac{2}{2n(2n-1)} \left\{ 2(2n-2) \left[\sum q_i^3 - (\sum q_i^2)^2 \right] + \sum q_i^2 - (\sum q_i)^2 \right\} \right]}$$

n = jumlah ternak yang diamati

q_i = frekuensi gen ke-i

$$SE(\bar{H}) = \sqrt{\left[\frac{\sum h_i^2 - r\bar{H}^2}{r(r-1)} \right]}$$

r = jumlah lokus yang diamati

h_i = heterosigositas tiap lokus

\bar{H} = rata-rata heterosigositas

3.5.3. Pengolahan Data Elektroforesis

Variabilitas genetik ditentukan dengan nilai heterosigositas per individu (H). Hasil analisis dalam penelitian ini diharapkan dapat diperoleh gambaran variasi genetik pada sapi Jawa.

BAB IV

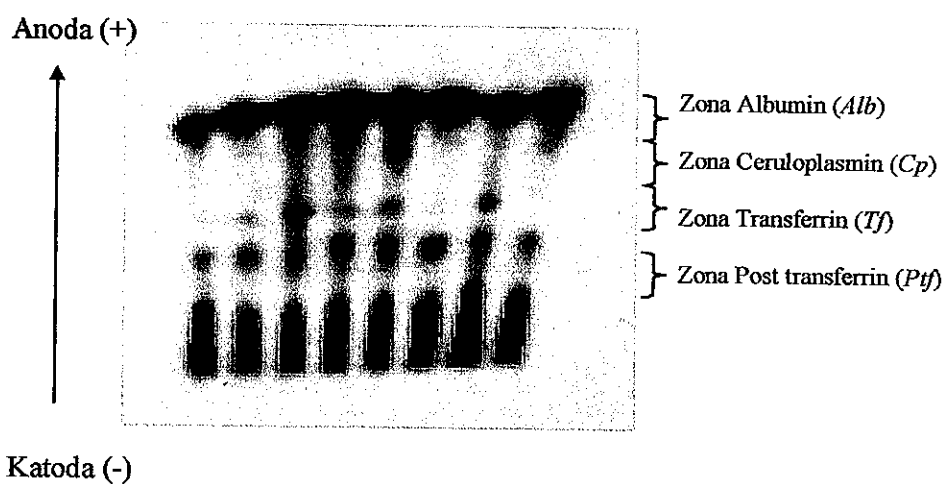
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Polimorfisme Protein Plasma Darah pada Sapi Jawa

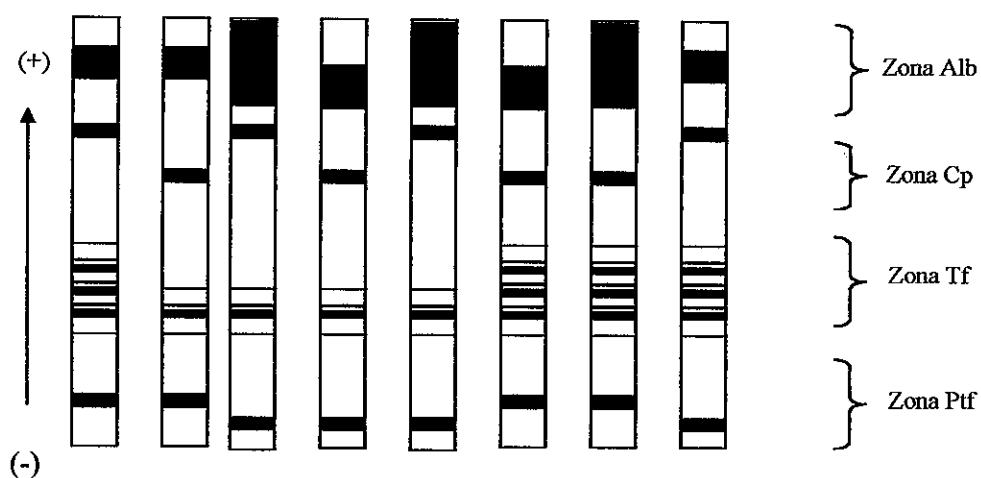
Protein merupakan produk langsung dari gen yang tidak terpengaruh oleh perubahan lingkungan. Struktur protein yang terdiri dari urutan asam amino akan menggambarkan urutan basa dalam asam deoksiribonukleat (ADN). Perbedaan susunan basa dalam ADN dapat digunakan sebagai sifat biokimia untuk membedakan karakteristik jenis organisme. Oleh karena itu perbedaan karakteristik organisme dapat dipelajari melalui perbedaan struktur protein (Kurniasih, 1988).

Hasil analisa elektroforesis dengan menggunakan gel poliakrilamida pada empat lokus protein plasma darah sapi Jawa menunjukkan karakteristik polimorfik. Lokus-lokus tersebut meliputi protein plasma darah albumin (*Alb*), transferrin (*Tf*), ceruloplasmin (*Cp*) dan post transferrin (*Ptf*), seperti terlihat pada Ilustrasi 5.

Sesuai dengan arah kecepatan gerakan berat molekul masing-masing muatan listrik, maka pada Ilustrasi 6 ditunjukkan adanya 4 zona yang berbeda. Zona pertama adalah albumin yang berkarakter tebal dengan gerakan ke arah anoda (kutub positif) relatif lebih cepat, kemudian zona ceruloplasmin, zona transferrin dan terakhir zona post transferrin.



Ilustrasi 5. Gambar Pola Pita Protein Hasil Analisa Plasma Darah Sapi Jawa (slab 1)

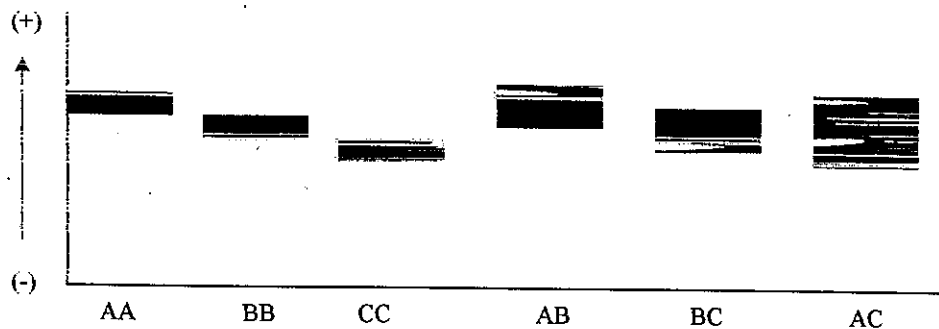


Ilustrasi 6. Gambaran Susunan Pola Pita Protein Plasma Darah Sapi Jawa

4.2. Plasma Albumin (*Alb*)

Pada penelitian dapat diketahui bahwa sapi Jawa memiliki 3 sebaran genotipik alel albumin, yaitu Alb A, Alb B, dan Alb C. Alel A memiliki karakteristik bergerak lebih cepat ke arah kutub positif (anoda) dibandingkan

dengan alel B. Lebih lanjut alel C bergerak paling lambat dibandingkan dengan alel-alel albumin yang lain. Hal tersebut dapat dilihat pada Ilustrasi 7.



Ilustrasi 7. Gambaran Susunan Lokus Albumin Sapi Jawa

Karakter homozigot dan heterozigot ditunjukkan melalui tampilan ketiga alel tersebut. Pada penelitian ini ditunjukkan urutan tampilan genotipik sebagai berikut, yaitu BB (15 sapi), AC (6 sapi), BC (5 sapi), AB (3 sapi) dan AA (1 sapi). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa frekuensi gen B paling tinggi (0,634) kemudian gen C (0,183) dan gen A (0,183). Diagram batang frekuensi gen alel A, B dan C pada sapi Jawa dapat dilihat pada Ilustrasi 8. Penghitungan frekuensi gen dapat dilihat pada Lampiran 5. Berbagai hasil penelitian frekuensi gen alel albumin (*Alb*) pada sapi Jawa, Madura, Bali dan Peranakan Ongole sebagai pembandingan dapat dilihat pada Tabel 5.

Hasil penelitian Sutopo *et al.* (2001) menunjukkan bahwa pada sapi Jawa frekuensi gen paling tinggi pada alel B (0,690); alel A (0,167) dan alel C (0,143). Dijelaskan pula bahwa pada sapi Madura dan Peranakan Ongole juga sama urutan frekuensi gen dari paling tinggi yaitu pada sapi Madura frekuensi gen alel B (0,535); A(0,298) dan C(0,167) serta pada sapi Peranakan Ongole yaitu alel B

(0,722); A(0,233) dan C (0,045). Pada sapi Bali sebaliknya yaitu frekuensi gen alel C(0,980); alel A dan B masing-masing sama yaitu 0,010.

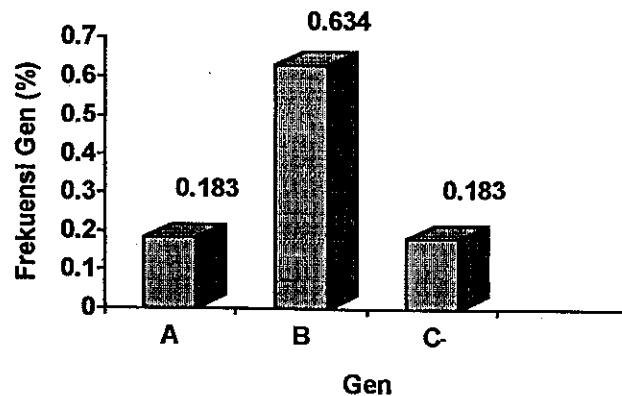
Hasil penelitian Namikawa *et al.* (1982) juga dilaporkan bahwa frekuensi gen alel B (*Alb B*) pada sapi Madura dan Peranakan Ongole lebih tinggi masing-masing 0,550 dan 0,714 dibandingkan frekuensi gen alel A (*Alb A*) masing-masing 0,275 dan 0,238 serta alel C (*Alb C*) masing-masing 0,175 dan 0,048. Frekuensi gen alel albumin C (*Alb C*) pada sapi Bali paling tinggi yaitu 0,919 dibandingkan frekuensi gen alel A (*Alb A*) yaitu 0,052 dan B (*Alb B*) yaitu 0,029.

Tabel 5. Frekuensi Gen Alel Albumin (*Alb*) pada Sapi Jawa, Bali, Madura dan Peranakan Ongole

Jenis sapi	Peneliti	Jumlah sampel	Frekuensi gen		
			A	B	C
Jawa	Aminah ¹⁾	30	0,183	0,634	0,183
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	30	0,167	0,690	0,143
Bali	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	68	0,052	0,029	0,919
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	48	0,010	0,010	0,980
Madura	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	40	0,275	0,550	0,175
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	57	0,298	0,535	0,167
Peranakan Ongole	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	21	0,238	0,714	0,048
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	90	0,233	0,722	0,045

¹⁾Data hasil penelitian ini

Pada penelitian Gahne *et al.* (1977), protein plasma albumin pada sapi Charolais, Swedish, Hereford dan Simental hanya ditemukan 2 alel yaitu alel A dan alel B. Dijelaskan pula bahwa alel C tidak ditemukan pada jenis sapi-sapi Eropa (*Bos taurus*). Pada penelitian ini alel C masih ditemukan, sehingga dimungkinkan sapi Jawa pada penelitian ini tidak bersifat dominan terhadap sapi Eropa.

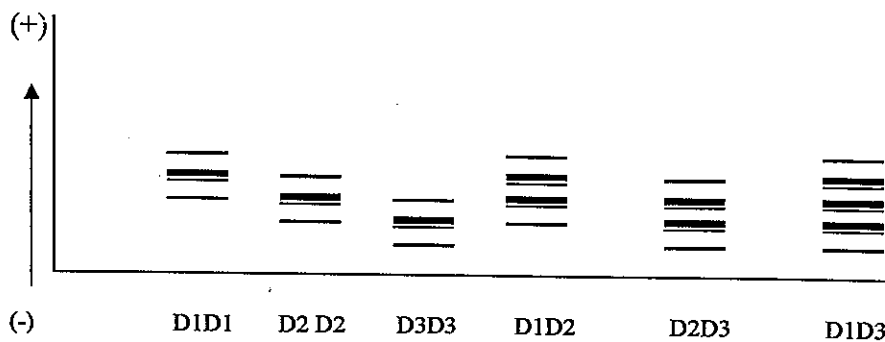


Ilustrasi 8. Diagram Batang Frekuensi Gen Alel A, B, dan C pada Lokus Albumin Sapi Jawa

4.3. Plasma Transferrin (*Tf*)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada sapi Jawa mempunyai 3 macam sebaran genotipik alel transferrin (*Tf*) berupa D1, D2 dan D3. Alel D1 memiliki karakteristik bergerak lebih cepat dibandingkan alel D2 dan alel D3. Lebih lanjut alel D3 bergerak paling lambat dibandingkan alel-alel yang lain. Hal tersebut dapat dilihat pada Ilustrasi 9.

Alel-alel tersebut diekspresikan dengan karakteristik homozigot berupa D1 (2 sapi), D2 (7 sapi) dan D3 (11 sapi). Karakteristik heterozigot berupa alel D1D3 (5 sapi) dan alel D2D3 (5 sapi). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa frekuensi gen D3 paling tinggi (0,533), D2 dan D1 masing-masing 0,317 dan 0,150. Diagram batang frekuensi gen alel-alel pada lokus transferrin dapat dilihat pada Ilustrasi 10. Penghitungan frekuensi gen dapat dilihat pada Lampiran 6.



Ilustrasi 9. Gambaran Susunan Lokus Transferrin Sapi Jawa

Hasil penelitian Sutopo *et al.* (2001) pada lokus transferrin ditemukan alel A, D1, D2Bali, D3, E dan EBali. Pada sapi Jawa urutan frekuensi dari yang paling tinggi yaitu alel E(0,452); alel D3(0,429); alel D2Bali(0,095) dan alel D1(0,024). Dengan demikian urutan frekuensi gen pada sapi Jawa hasil penelitian ini hampir sama dengan hasil penelitian Sutopo *et al.* (2001). Pada Tabel 6. dapat dilihat berbagai hasil penelitian frekuensi gen alel transferrin (*Tf*) pada sapi Jawa, Madura, Bali dan Peranakan Ongole.

Pada penelitian Sutopo *et al.* (2001) lokus transferrin A (*Tf* A) dan *Tf* D1 hanya ditemukan pada sapi Peranakan Ongole dengan frekuensi gen masing-masing 0,159 dan 0,028. Pada sapi Bali frekuensi gen alel D2Bali (*Tf* D2 Bali) adalah tertinggi (0,934) dan pada sapi Madura, Jawa, serta Peranakan Ongole masing-masing 0,298; 0,095 dan 0,142. Frekuensi gen alel D3 (*Tf* D3) pada sapi Madura adalah tertinggi (0,544), pada sapi Jawa dan Peranakan Ongole masing-masing 0,429 dan 0,341. Frekuensi alel *Tf* E pada sapi Jawa adalah tertinggi (0,452), pada sapi Bali, Madura, dan Peranakan Ongole masing-masing 0,044; 0,158 dan 0,324. Selanjutnya frekuensi alel *Tf* EBali tertinggi pada sapi Bali,

pada sapi Peranakan Ongole 0,006 dan pada sapi Jawa dan Madura tidak ditemukan Tf EBali.

Hasil penelitian Sutopo *et al.* (2001) dijelaskan pula bahwa alel D2Bali (*Tf* D2Bali) dan alel EBali (*Tf* EBali) pada sapi Bali merupakan alel baru yang ditemukan. Dijelaskan pula bahwa pada elektroforesis gel poliakrilamida pergerakan alel *Tf* D2Bali relatif lebih lambat dibandingkan alel *Tf* D2 pada bangsa Eropa (*Bos taurus*). Alel *Tf* EBali bergerak lebih lambat ke arah anoda dibandingkan alel *Tf* E pada bangsa sapi India (*Bos indicus*). Pada *Bos taurus* frekuensi gen alel *Tf* A dan *Tf* D1 cenderung lebih tinggi, sedangkan pada *Bos indicus* frekuensi gen alel *Tf* D3 dan alel *Tf* E. Lebih lanjut dijelaskan pula bahwa pada sapi Bali dan sapi Madura mempunyai jarak genetik yang dekat, terlihat dari adanya alel *Tf* D2Bali pada kedua jenis sapi tersebut, sedangkan pada sapi Jawa dan sapi Peranakan Ongol tidak mempunyai alel *Tf* D2Bali.

Menurut Namikawa *et al.* (1982) pada lokus transferrin hanya ditemukan alel A, D dan E. *Tf* A ditemukan pada sapi Madura dan Peranakan Ongole dengan frekuensi gen masing-masing 0,119 dan 0,025. Frekuensi gen *Tf* D tertinggi pada sapi Madura (0,850), pada sapi Bali dan Peranakan Ongole masing-masing 0,786 dan 0,643. Frekuensi gen *Tf* E pada sapi Bali, Madura dan Peranakan Ongole masing-masing 0,214; 0,125 dan 0,238.

Pada penelitian Gahne *et al.* (1977), protein plasma transferrin pada sapi Charolais, Swedish, Hereford dan Simental ditemukan 4 alel, yaitu alel A, alel D1, alel D2 dan alel E. Karakteristik genetik alel homozigot terdiri dari alel AA, alel

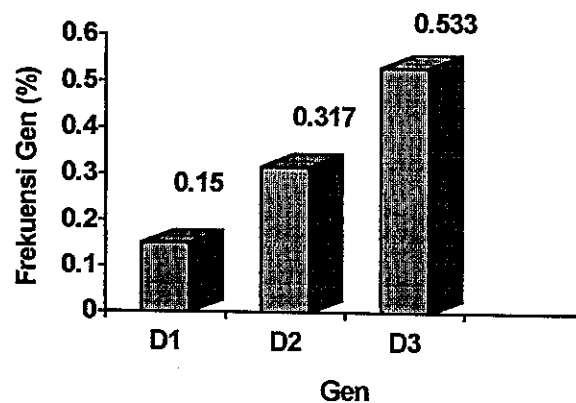
Tabel 6. Frekuensi Gen Alel Transferrin (Tf) pada Sapi Jawa, Bali, Madura dan Peranakan Ongole

Jenis Sapi	Peneliti	Jumlah sampel	A	D1	D2	Frekuensi gen			E	EBali
						D2Bali	D3	E		
Jawa	Aminah ¹⁾	30	-	0,150	0,317	-	0,533	-	-	-
	Namikawa <i>et al.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Sutopo <i>et al.</i>	21	-	0,024	-	0,095	0,429	0,452	-	-
Bali	Namikawa <i>et al.</i>	7	-	-	0,786	-	-	0,214	-	-
	Sutopo <i>et al.</i>	48	-	-	-	0,933	-	0,444	0,022	-
Madura	Namikawa <i>et al.</i>	40	0,025	-	-	0,850	-	0,125	-	-
	Sutopo <i>et al.</i>	57	-	-	-	0,298	0,544	0,158	-	-
Peranakan Ongole	Namikawa <i>et al.</i>	21	0,119	-	0,643	-	-	0,238	-	-
	Sutopo <i>et al.</i>	90	0,159	0,028	-	0,142	0,341	0,324	0,006	-

¹⁾Data hasil penelitian ini

D1D1, alel D2D2 dan alel EE. Karakteristik genetik alel heterozigot berupa alel AD1, alel AD2, alel D1D2, alel D2E, alel D1E dan alel AE.

Sapi Jawa pada penelitian ini tidak dominan terhadap *Bos taurus* sesuai penelitian Gahne *et al.* (1977) yang tidak ditemukan Tf D3 pada penelitiannya.



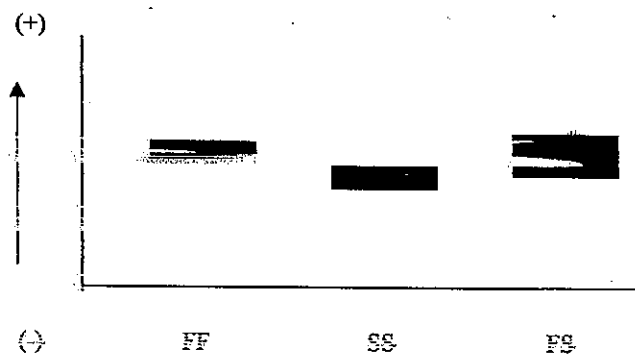
Ilustrasi 10. Diagram Batang Frekuensi Gen Alel D1, D2 dan D3 pada Lokus Transferrin Sapi Jawa

4.4. Plasma Ceruloplasmin (*Cp*)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sapi Jawa mempunyai 2 sebaran genotipik protein plasma ceruloplasmin alel F dan alel S. Alel F memiliki karakteristik bergerak lebih cepat ke arah kutub positif (anoda) dibandingkan dengan alel FS. Lebih lanjut alel S bergerak paling lambat dibandingkan alel-alel yang lain. Hal tersebut dapat dilihat pada Ilustrasi 11.

Alel-alel tersebut diekspresikan sebagai karakteristik homozigot, yaitu tipe FF (13 sapi), SS (11 sapi) dan karakteristik heterozigot yaitu tipe FS (6 sapi). Frekuensi gen alel F yaitu 0,533 dan alel S yaitu 0,467. Diagram batang frekuensi

gen alel F dan S pada lokus Ceruloplasmin sapi Jawa dapat dilihat pada Ilustrasi 12. Penghitungan frekuensi gen dapat dilihat pada Lampiran 7. Hasil penelitian frekuensi gen alel ceruloplasmin (*Cp*) pada sapi Jawa, Madura, Bali dan Peranakan Ongole berbagai peneliti dapat dilihat pada Tabel 7.



Ilustrasi 11. Gambaran Susunan Lokus Ceruloplasmin Sapi Jawa

Pada penelitian Sutopo *et al.* (2001) ditemukan alel F dan S pada lokus ceruloplasmin. Frekuensi gen alel F (*Cp* F) pada sapi Jawa adalah lebih tinggi daripada alel S (*Cp* S) yaitu (0,533) dan (0,467). Pada penelitian ini frekuensi gen alel F juga lebih tinggi daripada alel S. Dengan demikian hasil penelitian ini sama dengan hasil penelitian Sutopo *et al.* (2001).

Hasil penelitian Sutopo *et al.* (2001) pada sapi Madura dan Peranakan Ongole adalah frekuensi alel F masing-masing 0,500 dan 0,750; sedangkan pada alel S frekuensi gen masing-masing adalah 0,500 dan 0,250. Pada sapi Bali mempunyai frekuensi gen alel S (*Cp* S) lebih banyak (0,927) dibandingkan frekuensi gen alel F (*Cp* F) yaitu 0,073. Dengan demikian frekuensi gen alel *Cp* S lebih tinggi pada sapi Bali dan frekuensi gen alel *Cp* F lebih tinggi pada sapi Madura, sapi Jawa dan sapi Peranakan Ongole.

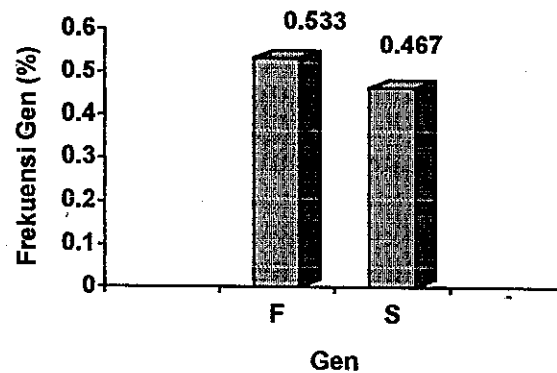
Pada penelitian Namikawa *et al.* (1982) alel S (*Cp* S) pada sapi Bali mempunyai frekuensi yang tinggi (0,859), pada sapi Madura dan Peranakan Ongole masing-masing 0,410 dan 0,286. Frekuensi gen alel F (*Cp* F) mempunyai frekuensi yang tinggi pada sapi Zebu seperti Peranakan Ongole dan Madura masing-masing 0,714 dan 0,590, sedangkan pada sapi Bali frekuensi alel *Cp* F yaitu 0,141.

Pada penelitian sapi Jawa ini ditemukan frekuensi *Cp* F paling tinggi, sehingga dimungkinkan mirip terhadap sapi Zebu seperti Peranakan Ongole dan Madura seperti penelitian Namikawa *et al.* (1982) dan Sutopo *et al.* (2001).

Tabel 7. Frekuensi Gen Alel Ceruloplasmin (*Cp*) pada Sapi Jawa, Bali, sapi Madura dan Peranakan Ongole

Jenis sapi	Peneliti	Jumlah sampel	Frekuensi gen	
			F	S
Jawa	Aminah ¹⁾	30	0,533	0,467
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	21	0,533	0,467
Bali	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	53	0,141	0,859
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	48	0,073	0,927
Madura	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	39	0,590	0,410
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	57	0,500	0,500
Peranakan Ongole	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	21	0,714	0,286
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	90	0,750	0,250

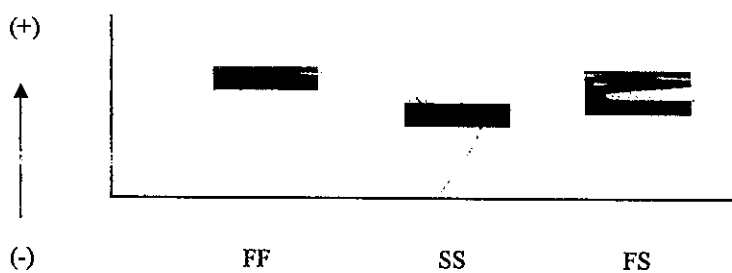
¹⁾Data hasil penelitian ini



Ilustrasi 12. Diagram Batang Frekuensi Gen Alel F dan S pada Lokus Ceruloplasmin Sapi Jawa

4.5. Plasma Post transferrin (*Ptf*)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sapi Jawa mempunyai sebaran genotipik protein plasma post transferrin (*Ptf*) berupa alel F dan alel S. Alel F memiliki karakteristik bergerak lebih cepat ke arah kutub positif (anoda) dibandingkan dengan alel FS. Lebih lanjut alel S bergerak paling lambat dibandingkan alel-alel yang lain. Hal tersebut dapat dilihat pada Ilustrasi 13.



Ilustrasi 13. Gambaran Susunan Lokus Post Transferrin Sapi Jawa

Allel-allel tersebut diekspresikan dengan karakteristik homozigot sebagai berikut, yaitu allel Ptf SS (24 sapi) dan allel Ptf FF (6 sapi). Frekuensi gen allel Ptf S yaitu 0,8 dan Ptf F yaitu 0,2. Diagram batang frekuensi gen allel F dan S pada lokus post transferrin pada penelitian sapi Jawa ini dapat dilihat pada Ilustrasi 14. Penghitungan frekuensi gen dapat dilihat pada Lampiran 8.

Pada Tabel 8. dapat dilihat berbagai hasil penelitian frekuensi gen allel post transferrin (Ptf) pada sapi Jawa, Madura, Bali dan Peranakan Ongole. Pada sapi Jawa hasil penelitian Sutopo *et al.* (2001) frekuensi gen allel S (Ptf S) adalah lebih tinggi daripada allel F (Ptf F) yaitu 0,667 dan 0,333. Pada sapi Jawa hasil penelitian ini frekuensi allel S juga lebih tinggi daripada allel F, sehingga hampir sama dengan penelitian Sutopo *et al.* (2001).

Hasil penelitian Sutopo *et al.* (2001) juga menunjukkan bahwa sapi Peranakan Ongole, dan Madura mempunyai frekuensi gen allel S yang lebih tinggi daripada allel F, masing-masing untuk allel S yaitu 0,881 dan 0,588 dan allel F yaitu 0,333; 0,119 dan 0,412. Namun pada sapi Bali mempunyai frekuensi gen allel F (Ptf F) yang lebih tinggi yaitu 1,000 dibandingkan allel S (Ptf S) yaitu 0,000.

Hasil penelitian Namikawa *et al.* (1982) juga dijelaskan bahwa frekuensi gen allel F (Ptf F) lebih tinggi pada sapi Bali (0,954). Pada sapi Madura dan sapi Peranakan Ongole frekuensi gen allel Ptf S lebih tinggi masing-masing 0,837 dan 0,857.

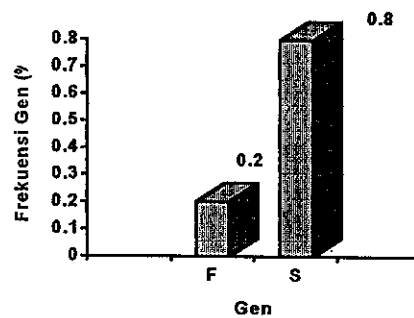
Pada penelitian Gahne *et al.* (1977), protein plasma post transferrin pada sapi Charolais, Swedish, Hereford dan Simental ditemukan 2 allel juga yaitu allel F

dan alel S. Karakteristik genetik alel homozigot berupa alel FF, dan alel SS. Karakteristik heterozigot berupa alel FS.

Tabel 8. Frekuensi Gen Alel Post Transferrin (*Ptf*) pada Sapi Jawa, Bali, Madura dan Peranakan Ongole

Jenis sapi	Peneliti	Jumlah sampel	Frekuensi gen	
			F	S
Jawa	Aminah ¹⁾	30	0,2	0,8
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	21	0,333	0,667
Bali	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	53	0,954	0,046
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	48	1	-
Madura	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	39	0,163	0,837
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	57	0,412	0,588
Peranakan Ongole	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	21	0,143	0,857
	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	90	0,119	0,881

¹⁾ Data hasil penelitian ini



Ilustrasi 14. Diagram Batang Frekuensi Gen Alel F dan S pada Lokus Post Transferrin Sapi Jawa

Pada penelitian sapi Jawa ini ditemukan frekuensi Ptf S paling tinggi, sehingga sama dengan sapi Madura dan Peranakan Ongole seperti penelitian Namikawa *et al.* (1982) dan Sutopo *et al.* (2001). Tetapi lain dengan sapi Bali, karena frekuensi gen Cp S pada sapi Bali sangat kecil atau lebih rendah daripada frekuensi gen Cp F.

4.6. Heterosigositas

Persilangan sapi Eropa dan sapi Zebu mengakibatkan nilai heterosigositas relatif tinggi. Sapi Zebu pada umumnya tahan terhadap suhu tinggi dan terhadap banyak parasit tropis, dapat mengkonsumsi makanan ternak yang berkualitas rendah dibandingkan bangsa sapi Eropa, tetapi pertumbuhan relatif lebih lambat, laju reproduksi rendah, sedangkan sapi Eropa mempunyai laju pertumbuhan dan daya reproduksi yang lebih tinggi. Oleh karena itu nilai heterosigositas yang tinggi dapat mengoptimalkan produktivitas seperti laju pertumbuhan dan daya reproduksi (Warwick *et al.*, 1995).

Nilai heterosigositas untuk setiap satu sifat biasanya kecil persentasenya tetapi dapat berarti penting. Misalnya bila batas keuntungan dalam satu bangsa hanya 3% sampai 5%, penambahan 3% sampai 5% persen dari total produksi dengan biaya rendah melalui perkawinan silang dapat melipatgandakan keuntungan (Warwick *et al.*, 1995).

Nilai heterosigositas (h) pada lokus albumin adalah 0,844 (Tabel 9), menunjukkan bahwa nilai keragaman genetik individu-individu sapi Jawa tinggi pada lokus albumin.

Pada lokus transferrin mempunyai nilai heterosigositas yaitu 0,864; lokus post transferrin 0,660 dan lokus ceruloplasmin 0,749; berarti juga mempunyai nilai keragaman genetik yang tinggi pada individu-individu sapi Jawa pada masing-masing lokus transferrin, post transferrin dan ceruloplasmin.

Tabel 9. Nilai Heterosigositas Masing-masing Lokus Plasma Darah

Jenis lokus	Nilai heterosigositas (h)
Albumin (<i>Alb</i>)	0,844
Transferrin (<i>Tf</i>)	0,864
Post transferrin (<i>Ptf</i>)	0,660
Ceruloplasmin (<i>Cp</i>)	0,749
$\bar{H} = 0,199$	

Nilai rata-rata heterosigositas dari beberapa peneliti disajikan pada Tabel 10. Pada penelitian sapi Jawa ini memiliki nilai rata-rata heterosigositas 0,199 dan Standar Error (SE) 0,174; hampir sama dengan nilai heterosigositas sapi Jawa hasil penelitian Sutopo *et al.* (2001) yaitu 0,195.

Tabel 10. Rataan Heterosigositas dan Standar Error pada Sapi Jawa, Bali, Madura, dan Peranakan Ongole

Jenis sapi	Peneliti	Jumlah lokus	$\bar{H} \pm SE$
A. Hasil penelitian ini - Jawa	Aminah	4	0,199 \pm 0,174
B. Hasil peneliti lain			
- Jawa	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	10	0,195 \pm 0,050
- Peranakan Ongole	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	10	0,171 \pm 0,048
	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	10	0,318 \pm 0,054
- Madura	Sutopo <i>et al.</i> (2001)	10	0,210 \pm 0,053
	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	10	0,365 \pm 0,061
- Bali	Sutopo <i>et al.</i>	10	0,056 \pm 0,025
	Namikawa <i>et al.</i> (1982)	10	0,135 \pm 0,061

Menurut Sutopo *et al.* (2001) bahwa nilai heterosigositas sapi Jawa lebih rendah dibandingkan nilai heterosigositas sapi Madura pada penelitian yang dilakukan masing-masing 0,210 dan 0,365. Pada sapi Peranakan Ongole hasil

penelitian Sutopo *et al.* (2001) dan Namikawa *et al.* (1982) masing-masing 0,171 dan 0,318.

Pada penelitian Namikawa *et al.* (1982) dan Sutopo *et al.* (2001), sapi Bali mempunyai nilai heterosigositas yang rendah dibandingkan sapi-sapi yang lain seperti sapi Jawa, Madura dan Peranakan Ongole. Hal ini dimungkinkan masih terjaga kemurnian genetik. Pada sapi Bali dilakukan pencegahan perkawinan silang dengan bangsa sapi yang berasal dari luar pulau Bali. Lebih lanjut dapat dijelaskan bahwa sampai saat ini kemurnian genetik sapi Bali masih terjaga karena ada undang-undang yang mengatur pembatasan masuknya sapi jenis lain ke Pulau Bali (Abidin, 2002).

Nilai heterosigositas yang tinggi sangat menguntungkan, dengan alasan makin jauh hubungan kekerabatan, kemungkinan terjadinya *inbreeding* makin kecil dan kemunculan alel resesif yang dapat membawa cacat rendah (Warwick *et al.*, 1995). Sebaliknya nilai heterosigositas yang tinggi menunjukkan sifat-sifat yang dimiliki beragam, baik sifat yang baik maupun yang tidak menguntungkan.

Nilai heterosigositas pada sapi Jawa yang rendah tersebut dimungkinkan karena masih banyak terjadi proses *inbreeding* pada sapi Jawa, karena proses kawin alami tanpa pengontrolan antar sapi Jawa masih disukai masyarakat. Menurut Warwick *et al.* (1995), persilangan sesama bangsa akan mengakibatkan nilai heterosigositas yang rendah. Menurut Warwick *et al.* (1995), persilangan sesama bangsa akan mengakibatkan nilai heterosigositas yang rendah. Penghitungan nilai rata-rata heterosigositas dapat dilihat pada Lampiran 9.

Nilai Standar Error (SE) pada penelitian sapi Jawa ini 0,174 adalah merupakan nilai SE yang agak tinggi, karena pada penelitian bidang biologi peluang untuk suatu error harus 5% atau lebih kecil. Tingkat kepercayaan pada pengambilan kesimpulan yang dibuat adalah 95% benar. Nilai SE yang tinggi dimungkinkan jumlah sampel yang kurang banyak dan lokus amatan juga kurang banyak. Pengambilan keputusan akan lebih akurat apabila lokus yang diamati lebih banyak dan lengkap.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari hasil pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada lokus albumin, alel B (0,634) menunjukkan frekuensi yang paling tinggi dibandingkan alel A (0,183) dan C (0,183).
2. Pada lokus transferrin, alel D3 (0,533) mempunyai frekuensi yang paling tinggi dibandingkan alel D1 (0,15) dan D2 (0,317).
3. Pada lokus ceruloplasmin, alel F (0,533) mempunyai frekuensi yang lebih tinggi dibandingkan alel S (0,467).
4. Pada lokus post transferrin, alel S (0,8) mempunyai frekuensi yang lebih tinggi dibandingkan alel F (0,2).
5. Nilai heterosigositas sapi Jawa adalah 0,199; menunjukkan bahwa populasi sapi Jawa mempunyai keragaman genetik yang rendah.

5.2. Saran

Penelitian lanjutan mengenai karakteristik genetik pada sapi Jawa ini sangat perlu dilakukan dengan ditambah lokus amatan yang lain. Karakteristik genetik pada sapi Jawa dapat dijadikan acuan/data dasar program pembibitan atau konservasi sapi Jawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin Z. 2002. Kiat Mengatasi Permasalahan Praktis Penggemukan Sapi Potong. PT. Agro Media Pustaka, Tangerang.
- Andrews, A. T. 1993. Electrophoresis (Theory, Techniques, Biochemical and Clinical Applications). 2th Ed., Oxford Science Publications, Oxford.
- Ensiklopedi Indonesia. 1992. Edisi Khusus 5, PT. Ichtiar Baru-Van Hoeve, Jakarta.
- Gahne, B., R. K. Juneja dan J. Grolmus. 1977. Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post albumin blood plasma of cattle. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.* 8 : 127-137.
- Haig, S.M. dan L.H. Nordstrom. 1991. Genetic management of small populations. Dalam: A Practitioner's Guide (Ed.). The Conservation of Biological Resources. Westview Press, San Fransisco.
- Hardjosubroto, W. dan M. Astuti. 1980. Animal genetic resources in Indonesia. Proceeding of SABRAO workshop on Animal Genetic Resources in Asia and Oceania. Tropical Agriculture Research Centre, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. 189-204.
- Harper, H. A., V. W. Rodwell dan P.A Mayes. 1980. Biokimia. Edisi ke-17, Lange EGC.
- Hartl, D. L. 1980. Principles of Population Genetics. Sineurer Associates. Sunderland, Massachusetts.
- Indarwati. 1988. Studi banding metode elektroforesis protein darah ayam kampung dan burung puyuh. Karya Ilmiah. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Kaneko, J. J. 1980. Serum Protein dan Dysproteinemeis, Clinical Biochemistry of Domestic Animal. 3th Ed., Academic Press, London.
- Kurniasih, N. 1988. Studi elektroforesis alkalin fosfatase dan albumin pada darah puyuh. Karya Ilmiah. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Martojo, H. 1990. Peningkatan Mutu Genetik Ternak. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Mason, I. L. 1969. A World Dictionary of Livestock Breeds, Types and Varieties. 2nd Ed., Common Wealth Agricultural Bureaux, Franham Royal, Buck, England.
- Maeda, Y., K. W. Washburn dan H. L. Marks. 1980. Protein polimorphism in quail population selected for body size. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genetics*. 11: 251-260.
- Martin, D. W., P. A. Mayes dan V. W. Rodwell. 1983. Harper Review of Biochemistry. Lange Medical Publ. Drawer L.
- Namikawa T, T. Amano, B. Pangestu dan S. Natasasmita. 1982. Electrophoresis Variation of Blood Proteins and Enzymes in Indonesian Cattle and Bantengs. The Research Group of Overseas Scientific Survey: 35-42.
- Namikawa T, T. Amano, O. Takenaka, H. Martojo dan W. Widodo. 1983. Studies on the blood groups and biochemical polymorphisms in the different types of cattle and Banteng in Indonesia. *Rep. Soc. Res. Native Livestock*. 10: 68-81. (in Japanese).
- Nei, M. 1987. Genetic distance between population. *Amer. Nat.* 106:283-292.
- Nicholas, F. W. 1987. Veterinary Genetics. Clarendon Press. Oxford.
- Noor, R. R. 2000. Genetika Ternak. Cetakan II. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Ogita, Z dan C. L. Markert. 1979. A miniaturized system for electrophoresis on polyacrilamide gels. *Analytical Biochemistry*. 99: 233-241.
- Payne W.J.A. dan D.H.L. Rollinson. 1973. Bali Cattle. *World Animal Review*. 7 : 13-21.
- Pierce, E. 1993. Anatomi dan Fisiologi untuk Para Medis. PT Gramedia, Jakarta.
- Rouse, J.E. 1976. Cattle of Africa and Asia. *World Cattle II*. CSIRO.
- Sayuthi, D., L. K. Darusman dan S. Maemunah. 1988. Metode Elektroforesis untuk Karakterisasi Biomolekul. Kursus Singkat Genetika Hewan. PAU Bioteknologi IPB, Bogor.
- Schonewald-Cox, C. M., S. M. Cambers, B. Mc Brude dan L. Thomas. 1983. Genetic and Conservation. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California.
- Sneath P. H. A dan R. R. Sokal. 1973. Principle of Numerical Taxonomy. W. H. Freeman, San-Francisco.

- Sofro, A.S.M., 1991. Keanekaragaman Genetik. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Soule, E.M. 1986. Conservation Biology. The Science and Diversity. Sinauer Associates Inc. Sunderland.
- Sutopo, K. Nomura, Y. Sugimoto dan T. Amano. 2001. Genetic relationships among Indonesian native cattle. *J. Anim. Genet.* **28** (2): 3-11.
- Sutopo. 2001. Phylogenetik Studies on Indonesian Native Cattle Based on Blood Protein Markers and DNA Polymorphism. Tokyo University of Agriculture. (Disertasi Doktor).
- Suryo. 2001. Genetika. Edisi VI, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Tjahjaningsih, D.P. 1991. Studi Karakteristik Fenotipe Ayam Kampung, Ayam Bangkok dan Keturunan Pertamanya (F1) melalui Polimorfisme Protein Darah. Karya ilmiah. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Thimmes, F., Geldermann and U. Wens. 1976. New protein polymorphism in cattle. *Anim. Blood Grps Biochem. Genet.* **7**: 73 – 89.
- Thohari M, B. Masyud, S.S. Mansjoer, C. Sumantri, EKS. H. Muntasib dan A. Hikmat. 1991. Studi perbandingan polimorfisme protein darah jalak Bali (*Leucopsar Rotschildi*) hasil penangkaran dari Indonesia, Amerika dan Inggris. Lembaga Penelitian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Thohari M, B. Masyud, S.S. Mansjoer, dan C. Sumantri. 1993. Analisis Perbandingan Polimorfisme Protein Darah dari Beberapa Jenis Rusa di Indonesia dengan Menggunakan Elektroforesis. Laporan Penelitian. Jurusan Konservasi Sumberdaya Hutan, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tranggono. 1990. Kimia Nutrisi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Yogyakarta.
- Warwick, E.J., J.M. Astuti dan W. Hardjosubroto. 1995. Pemuliaan Ternak. Edisi V, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.