

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sapi Perah

Sapi perah adalah bangsa sapi yang dipelihara dengan tujuan untuk menghasilkan air susu (Blakely dan Bade, 1994). Sapi perah yang baik memiliki ciri-ciri, antara lain bentuk badan segitiga, kepala terlihat kuat, leher panjang dan lebar, kulit tidak kering, punggung lurus, pangkal ekor tinggi, ekor lurus, dada lebar dan dalam, perut besar dan tidak menggantung, kaki lurus, jarak antara kedua kaki belakang cukup besar, ambing besar dan lunak, puting besar dan panjang, letak puting simetris, pembuluh darah terlihat jelas dan berkelok-kelok (Sutarto dan Sutarto, 2005).

Standar kebutuhan kolin untuk sapi perah belum ditemukan (National Research Council, 2001). Kebutuhan kolin pada sapi perah dapat meningkat ketika ternak bunting dan laktasi (Guretzky *et al.*, 2006). Sapi perah memenuhi kebutuhan kolinnya dengan 2 cara, yaitu dari pakan yang mengandung kolin dan biosintesis *de novo* (pembentukan molekul kompleks dari molekul sederhana) melalui metilasi *phosphatidylethanolamine* menjadi fosfatidilkolin. Biosintesis kolin ini dapat dipengaruhi oleh beberapa nutrisi seperti metionin, *betaine*, asam folat dan vitamin B12 (Pinotti, 2012).

Dua donor metil utama dalam metabolisme ternak adalah kolin dan metionin, yang secara biologis mengandung gugus metil labil yang dapat ditransfer dalam tubuh. Fenomena ini disebut transmetilasi. Metionin menyediakan sebuah gugus

metil yang dapat digabung dengan etanolamin untuk membentuk kolin, sebaliknya, gugus metil berasal dari kolin. Enam persen gugus metil metionin di dalam tubuh ternak ruminansia laktasi berasal dari kolin, sedangkan 28% gugus metil kolin berasal dari metionin (Emmanuel dan Kennelly, 1984; McDowell, 2000).

2.2. Pakan

Pakan merupakan bahan yang dimakan dan dicerna seekor hewan yang mampu menyediakan nutrisi yang dapat digunakan untuk merawat tubuh, pertumbuhan, penggemukan, reproduksi dan produksi (Blakely dan Bade, 1994). Berdasarkan kandungan nutrisinya, pakan dibedakan menjadi dua, yaitu pakan kasar atau hijauan dan pakan penguat atau konsentrat. Pakan yang baik adalah bahan pakan yang mengandung karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan mineral serta tidak mengandung racun yang dapat membahayakan ternak yang mengkonsumsinya (Darmono, 1993). Perbandingan pemberian pakan yang baik adalah 60:40 (dalam bahan kering), apabila hijauan yang diberikan berkualitas rendah perbandingan tersebut dapat diubah menjadi 55:45 dan apabila hijauan yang diberikan berkualitas sedang sampai tinggi perbandingan tersebut dapat berubah menjadi 64:36 (Siregar, 2008).

Kolin merupakan salah satu nutrisi pakan dengan tingkat degradabilitas yang tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 76% kolin yang diinjeksikan ke dalam rumen diubah menjadi metan, 15% diakumulasikan menjadi trimetilamina dan kurang dari 10% lolos dari degradasi (Neill *et al.*, 1979). Suplementasi *Rumen Unprotected Choline* tidak dapat memberikan hasil yang optimal karena tingginya

tingkat degradasi kolin di dalam rumen (National Research Council, 2001). Hal ini menyebabkan *Rumen Protected Choline* lebih efektif untuk digunakan sebagai suplemen dalam pakan sapi perah (Pinotti, 2012).

2.2.1. Hijauan

Hijauan adalah pakan yang mengandung 18% atau lebih serat kasar (Tillman *et al.*, 1991). Hijauan yang biasa diberikan kepada sapi perah, antara lain limbah pertanian, seperti daun jagung, daun kacang tanah, jerami padi dan daun ubi jalar; rumput lapangan; atau rumput budidaya, seperti rumput gajah dan rumput raja (Sudono *et al.*, 2003).

Kolin umumnya terkandung di dalam seluruh sel tanaman, sebagian besar berbentuk fosfolipid fosfatidilkolin, lisofosfatidilkolin, kolin plasmalogen dan sfingomielin yang merupakan komponen penting pada membran sel (Zeisel, 1990). Kandungan kolin bebas dan fosfatidilkolin dalam hijauan pakan hanya sedikit, sehingga suplementasi kolin perlu dilakukan supaya kebutuhan kolin harian dapat terpenuhi. Suplementasi kolin juga dapat mengurangi penggunaan metionin untuk memenuhi kebutuhan kolin harian (Guretzky *et al.*, 2006).

2.2.2. Konsentrat

Konsentrat adalah pakan yang mengandung serat kasar kurang dari 18% (Tillman *et al.*, 1991). Bahan pakan yang tergolong konsentrat, antara lain bahan pakan yang berasal dari biji-bijian seperti jagung giling, menir, dedak, katul, bungkil kelapa, tetes, dan berbagai umbi. Fungsi konsentrat adalah meningkatkan

dan memperkaya nilai gizi pada bahan pakan lain yang nilai gizinya rendah (Sugeng, 1998).

Kolin dapat dibuat secara sintetis, sebagian besar suplementasi kolin menggunakan garam kolin sintetis seperti kolin klorida. Kolin klorida umumnya dicampur dengan sereal sebagai pembawa. Tujuh puluh hingga tujuh puluh lima persen cairan kolin klorida bersifat sangat korosif, sehingga membutuhkan penyimpanan dan peralatan khusus dalam penanganannya. Kolin klorida bersifat stabil apabila dicampurkan ke dalam premix multivitamin, tetapi kolin klorida juga sangat merusak berbagai vitamin di dalam premix tersebut. Hal ini menyebabkan kolin klorida tidak cocok apabila dimasukkan ke dalam premix vitamin dan umumnya ditambahkan secara tunggal ke dalam konsentrat (Coelho, 1991; McDowell, 2000).

2.3. Kolin

Kolin merupakan bahan kimia organik dengan rumus molekul $C_5H_{14}NO^+$ yang termasuk dalam golongan vitamin B dan berperan penting dalam ketahanan struktur membran sel dan metabolisme metil. Kolin dapat terasetilasi, terfosforilasi, teroksidasi dan terhidrolisis. Kolin merupakan prekursor pembentukan fosfolipid seperti fosfatidilkolin (komponen penting pada struktur dan fungsi membran) yang berfungsi untuk memberi sinyal secara intraseluler. Kolin juga merupakan prekursor pembentukan donor metil *betaine* yang dapat digunakan pada metabolisme homosistein menjadi metionin. Defisiensi kolin sulit untuk diidentifikasi karena kolin memiliki hubungan timbal balik dengan vitamin B12,

asam folat dan metionin (The National Academies, 1998; McDowell, 2000; Pinotti, 2012).

Kolin pada sapi perah berasal dari pakan maupun biosintesis de novo. Kolin pada pakan ditemukan dalam bentuk bebas dan teresterifikasi (fosfokolin, gliserofosfokolin, sfingomielin dan fosfatidilkolin). Kolin yang berasal dari pakan diserap oleh lumen usus halus melalui protein pembawa di dalam enterosit. Kolin dilepaskan dalam bentuk bebas di dalam jaringan oleh bantuan enzim fosfolipase C yang berfungsi untuk memecah fosfatidilkolin menjadi *diglyceride* dan *phosphorycholine*. Kolin bebas dioksidasi oleh enzim *choline dehydrogenase* menjadi *betaine aldehyde*. *Betaine aldehyde* kemudian diubah oleh enzim *betaine aldehyde dehydrogenase* menjadi *betaine* (The National Academies, 1998; McDowell, 2000; Zeisel, 2006; Pinotti, 2012).

Kolin pada umumnya disintesis dalam bentuk fosfatidilkolin. Biosintesis fosfatidilkolin terjadi paling aktif di dalam hati. Biosintesis fosfatidilkolin pada jalur utama terjadi apabila kolin terfosforilasi dan dikonversi menjadi *cytidine diphosphocholine*. *Cytidine diphosphocholine* kemudian dikonversi menjadi fosfatidilkolin. Biosintesis fosfatidilkolin pada jalur alternatif terjadi apabila *phosphatidylethanolamine* termetilasi secara berurutan oleh enzim *phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase* dengan *S-adenosylmethionine* sebagai donor metil. Jalur ini merupakan jalur utama sintesis de novo sebagian kolin pada mamalia dewasa. Hal ini menunjukkan bahwa kebutuhan kolin pada pakan dapat dimodifikasi oleh hubungan metabolis pertukaran metil antara kolin dengan metionin, asam folat dan vitamin B12. Metionin dikonversi menjadi S-

adenosylmethionine dengan bantuan enzim *methionine adenosyl transferase* sebagai katalisator (The National Academies, 1998; McDowell, 2000).

Kandungan kolin dalam pakan maupun sintesis kolin melalui jalur *de novo* tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan sapi perah. Sintesis kolin melalui jalur *de novo* juga memerlukan gugus metil yang berasal dari sumber eksogen, seperti metionin dan *betaine*. Hal ini mengindikasikan bahwa faktor pakan seperti metionin, *betaine*, asam folat dan vitamin B12 dapat mempengaruhi proses biosintesis kolin pada sapi perah. Jumlah kolin yang sudah memenuhi kebutuhan menyebabkan metionin tidak dimanfaatkan untuk sintesis kolin (McDowell, 2000; Pinotti, 2012).

2.4. Darah

Darah merupakan suatu cairan yang terdiri atas eritrosit (sel darah merah), leukosit (sel darah putih) dan trombosit (keping darah). Darah mempunyai tiga fungsi utama, yaitu transportasi, regulasi dan pertahanan (Guyton dan Hall, 1997; Bloom dan Fawcett, 2002).

Fungsi darah dalam proses transportasi adalah mengangkut oksigen dan karbondioksida serta nutrisi dari pakan yang telah tercerna dalam saluran pencernaan. Darah juga mengangkut sisa metabolisme berupa urea, asam urat, kreatin dan air untuk dikeluarkan dari dalam tubuh melalui ginjal, kulit dan saluran pencernaan. Darah juga berfungsi untuk mengangkut hormon dan enzim di dalam tubuh. Fungsi darah dalam proses regulasi adalah mengatur keseimbangan pH dan air di dalam tubuh melalui pertukaran air pada darah dan cairan pada jaringan.

Darah juga berfungsi untuk mengatur suhu tubuh supaya tetap normal dengan cara oksidasi karbohidrat dan lemak. Darah berperan dalam pertahanan tubuh karena mengandung komponen-komponen yang berfungsi untuk menjaga ketahanan tubuh dari benda asing maupun infeksi (Rastogi, 1977; Tortora dan Anagnostakos, 1990).

2.4.1. Eritrosit

Eritrosit merupakan salah satu jenis sel darah yang memiliki fungsi utama pengangkut oksigen yang terikat oleh hemoglobin ke seluruh jaringan tubuh (Guyton dan Hall, 1997). Eritrosit juga berfungsi untuk membawa nutrisi dari saluran pencernaan menuju jaringan, mengangkut hasil akhir metabolisme ke organ ekskresi, mengatur suhu tubuh dan menjaga keseimbangan asam-basa tubuh (Despopoulos dan Silbernagl, 2003).

Eritrosit sapi dewasa memiliki ciri-ciri tidak berinti dan berbentuk cawan bikonkaf. Eritrosit tidak memiliki aparatus golgi, sentriol dan sebagian besar mitokondria akibat proses pematangan yang berlangsung sebelum memasuki aliran darah (Dellman dan Brown, 1989). Eritrosit dibentuk di sumsum tulang belakang dan kehilangan intinya sebelum memasuki peredaran darah (Ganong, 1995). Eritrosit normal memiliki diameter sekitar 7,8 μm dan dengan ketebalan 1 sampai 2,5 μm . Eritrosit berfungsi untuk mengangkut hemoglobin yang selanjutnya mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan (Guyton dan Hall, 1997). Eritrosit berumur 120 hari, sesudah 120 hari eritrosit mati dan diganti dengan yang baru. Proses ini disebut *turn over* (Rasmaliah, 2004). Jumlah eritrosit pada sapi perah dewasa berkisar antara 5,0 – 8,0 juta/ μl (Meyer dan Harvey, 2004).

Jumlah eritrosit dalam darah dipengaruhi oleh hormon eritropoietin yang berfungsi merangsang eritropoiesis dengan memicu produksi proeritroblas dari sel-sel hemopoietik dalam sumsum tulang (Meyer dan Harvey, 2004). Proses eritropoiesis juga dipengaruhi oleh status nutrisi ternak. Hal ini dikarenakan eritropoiesis memerlukan protein, vitamin (asam folat, vitamin B12, vitamin C dan vitamin E) serta mineral (Fe dan Cu). Zat yang paling sering menyebabkan hambatan pada saat eritropoiesis adalah zat besi, asam folat dan vitamin B12. Defisiensi vitamin B12 dan asam folat dapat menyebabkan gangguan eritropoiesis akibat proses maturasi nukleus yang lebih lambat daripada sitoplasma (Hoffbrand dan Moss, 2016).

2.4.2. Hemoglobin

Hemoglobin adalah protein majemuk yang tersusun atas protein sederhana yang disebut globin. Globin merupakan protein yang membentuk 96% bagian dari hemoglobin (Dukes, 1970; Schalm *et al.*, 1975). Hemoglobin dibentuk dari molekul heme yang berikatan dengan molekul globin. Heme merupakan molekul yang mengandung atom besi, sedangkan globin merupakan protein globular yang terdiri dari 4 rantai polipeptida (Widjajakusuma dan Sikar, 1986; Suwandi, 2002). Kadar hemoglobin pada sapi perah dewasa berkisar antara 8,0 – 14 g/dl (Meyer dan Harvey, 2004). Hemoglobin berfungsi untuk mengangkut oksigen dan karbondioksida (Price dan Wilson 2006). Kadar hemoglobin darah menggambarkan kemampuan mengangkut O₂ untuk metabolisme. Tingginya kadar

hemoglobin menyebabkan peningkatan kadar oksigen yang diangkut (Nugroho *et al.*, 2013).

Proses sintesis hemoglobin memerlukan vitamin B6, vitamin B12, asam folat, asam asetat dan glisin (Kaneko, 1980). Sintesis hemoglobin dimulai dalam proeritroblas, kemudian berlanjut hingga stadium retikulosit dalam sumsum tulang dan diteruskan hingga eritrosit matang. Sintesis tetap terjadi setelah eritrosit keluar dari sumsum tulang dan masuk ke dalam aliran darah. Sintesis ini hanya terjadi beberapa hari dan jumlah hemoglobin yang dihasilkan hanya sedikit (Schalm, 2010). Sintesis heme dimulai dengan kondensasi *glycine* dan *succinyl CoA* (Hoffbrand dan Moss, 2016).

2.4.3. Hematokrit

Hematokrit adalah perbandingan antara eritrosit dengan total volume darah. Kadar hematokrit berhubungan dengan viskositas darah. Peningkatan kadar hematokrit menyebabkan viskositas darah meningkat. Faktor yang mempengaruhi kadar hematokrit, antara lain bangsa dan jenis ternak, umur dan fase produksi, jenis kelamin ternak, penyakit, serta iklim setempat (Lawrence, 1980; Walker *et al.*, 1990; Sujono, 1991). Perubahan kadar hematokrit berpengaruh negatif terhadap ternak. Kadar hematokrit yang tinggi atau rendah menyebabkan aliran darah pada kapiler melambat dan kerja jantung dipercepat (Cunningham, 2002). Kadar hematokrit pada sapi perah dewasa berkisar antara 24 – 46 % (Reece, 2009).

Peningkatan atau penurunan kadar hematokrit dipengaruhi oleh volume sel-sel darah yang dibandingkan dengan volume darah keseluruhan (Swenson, 1977).

Jumlah eritrosit berkorelasi positif dengan kadar hematokrit. Peningkatan atau penurunan eritrosit berpengaruh terhadap peningkatan atau penurunan hematokrit (Frandsen, 1996). Peningkatan kadar hematokrit disebabkan oleh tingginya jumlah eritrosit dalam darah. Penurunan kadar hematokrit dapat disebabkan oleh kerusakan eritrosit, penurunan produksi eritrosit, jumlah dan ukuran eritrosit (Whittow, 2000).

2.4.4. Leukosit

Leukosit adalah bagian dari sistem kekebalan tubuh yang berperan dalam mengatur fungsi imunitas untuk menekan kejadian infeksi. Leukosit dibedakan menjadi dua berdasarkan keberadaan granulanya, yaitu leukosit granular dan leukosit agranular. Leukosit granular terdiri dari neutrofil, eosinofil dan basofil. Leukosit agranular terdiri dari limfosit dan monosit. Leukosit dibentuk di sumsum tulang dan sebagian lagi di jaringan limfe (Ganong, 1995; Guyton dan Hall, 1997; McCowen dan Bistrrian, 2003).

Jumlah leukosit pada sapi perah berkisar antara 4 – 12 ribu/mm³ (Jain, 1993). Perubahan jumlah leukosit umumnya disebabkan oleh perubahan di dalam sumsum tulang akibat infeksi virus atau bakteri maupun kandungan nutrisi dalam pakan (Suwandi, 2002). Penurunan jumlah leukosit juga dapat disebabkan proses granulopoiesis yang tidak sempurna akibat defisiensi vitamin B12 dan asam folat (Ivanyi, 1986). Granulopoiesis dikontrol oleh *growth factor* yang merangsang proliferasi dan diferensiasi, serta mempengaruhi fungsi dari leukosit dewasa (Hoffbrand dan Moss, 2016).

2.5. Hubungan Kolin dengan Darah

Vitamin B12 dan asam folat merupakan nutrisi yang dibutuhkan dalam hematopoiesis karena berhubungan dengan proses maturasi sel. Defisiensi vitamin B12 dan asam folat dapat menyebabkan kelainan karakteristik pada eritroblas di sumsum tulang sehingga ukuran eritrosit menjadi lebih besar. Hal ini disebabkan oleh proses maturasi nukleus yang lebih lambat daripada proses maturasi sitoplasma. Kolin merupakan nutrisi yang memiliki hubungan metabolis dengan vitamin B12 dan asam folat. Kolin disintesis dalam bentuk fosfatidilkolin melalui proses metilasi berurutan *phosphatidylethanolamine* oleh enzim *phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase* dengan menggunakan *S-adenosylmethionine* sebagai donor metil. Kolin dan asam folat (dengan bantuan vitamin B12) juga dapat bertindak sebagai donor metil pada saat metilasi homosistein (Zeisel dan Blusztajn, 1994; McDowell, 2000; Aslinia *et al.*, 2006; Zeisel, 2006; Hoffbrand dan Moss, 2016).

Asam folat pada sintesis kolin berperan dalam penyediaan gugus metil. Proses ini melibatkan satu unit karbon dari serin yang ditransfer ke *tetrahydrofolate* untuk membentuk *5,10-methylenetetrahydrofolate* yang kemudian direduksi menjadi *5-methyltetrahydrofolate*. *Methyltetrahydrofolate* kemudian menyuplai gugus metil untuk meremetilasi homosistein sehingga metionin tersedia pada saat sintesis *S-adenosylmethionine*. Asam folat pada hematopoiesis diperlukan dalam bentuk *5,10-methylenetetrahydrofolate* yang merupakan koenzim dari proses sintesis *deoxythymidine monophosphate* dari prekursornya *deoxyuridine monophosphate*. *Deoxyuridine monophosphate* pada keadaan normal dikonversi

menjadi *deoxythymidine monophosphate* dengan bantuan enzim *thymidylate synthase*. Defisiensi asam folat menyebabkan proses sintesis *deoxythymidine monophosphate* terhambat karena *deoxyuridine monophosphate* diubah menjadi *deoxyuridine triphosphate*, sehingga terjadi penumpukan *deoxyuridine triphosphate* di dalam sel yang mengakibatkan turunnya laju sintesis DNA. Hal ini dapat menyebabkan terganggunya proses hematopoiesis yang kemudian dapat menurunkan jumlah sel darah di dalam darah. Defisiensi kolin dapat menyebabkan defisiensi asam folat (Kim *et al.*, 1994; Rayburn *et al.*, 1996; Mills *et al.*, 1996; McDowell, 2000; Hoffbrand dan Moss, 2016).

Vitamin B12 merupakan koenzim yang diperlukan dalam dua reaksi biokimia, yaitu sebagai *methylcobalamin* dan *deoxyadenosyl cobalamin*. Vitamin B12 sebagai *methylcobalamin* merupakan kofaktor dari enzim metionin sintase. Enzim metionin sintase bertanggungjawab dalam proses metilasi homosistein menjadi metionin dengan menggunakan *methyltetrahydrofolate* sebagai donor metil. Sintesis metionin juga menghasilkan *tetrahydrofolate* yang merupakan substrat dalam proses sintesis *5,10-methylenetetrahydrofolate* (koenzim folat). Defisiensi vitamin B12 secara tidak langsung mengurangi suplai koenzim folat yang diperlukan dalam sintesis *deoxythymidine monophosphate*. Vitamin B12 sebagai *deoxyadenosyl cobalamin* berfungsi untuk membantu konversi *methylmalonyl CoA* menjadi *succinyl CoA*. Penggunaan vitamin B12 untuk metabolisme homosistein dapat membatasi ketersediaan vitamin B12 untuk metabolisme *methylmalonyl CoA* (Compher *et al.*, 2002; Hoffbrand dan Moss, 2016).

Homosistein dapat dimetilasi menjadi metionin melalui 2 jalur dimana konsentrasi homosistein lebih rendah. Jalur pertama memanfaatkan vitamin B12 dan asam folat dalam reaksi katalisasi oleh enzim metionin sintase. Reaksi yang terjadi pada proses pembentukan metionin dari homosistein adalah *5-methyltetrahydrofolate* + homosistein \rightarrow metionin + *tetrahydrofolate*. Reaksi tersebut dibantu oleh enzim *5-methyl-tetrahydrofolate-homocysteine methyltransferase* sebagai katalisator. Metilasi homosistein pada jalur alternatif merupakan reaksi katalisasi *betaine homocysteine methyltransferase* dengan menggunakan *betaine* sebagai donor gugus metil. Defisiensi vitamin B12 dan asam folat dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi plasma homosistein. Metionin selain sebagai prekursor sintesis kolin juga berfungsi sebagai *start* kodon pada saat proses sintesis protein. Jumlah metionin di dalam tubuh dapat mempengaruhi jumlah protein yang disintesis (Stenesh, 1998; McDowell, 2000; Zeisel, 2006; Wade, 2010; Pinotti, 2012).