

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Pemanasan global dan perubahan iklim telah menjadi ancaman utama bagi keberlanjutan sistem produksi ternak (Gaughan dkk. 2010). Perubahan iklim akibat pemanasan global menjadi semakin relevan akhir-akhir ini, terutama bagi industri perternakan. Konsekuensi berbahaya dari *heat exhaustion* (suhu melebihi zona termo-netral dan hewan tidak lagi dapat mengatur suhu tubuh) dalam peternakan baik perternakan sapi ataupun unggas, akan menjadi lebih menantang karena suhu terus meningkat karena pemanasan global (Gregory, 2010; Abd El-Hack dkk., 2020). Industri ayam menghadapi tantangan kenaikan suhu, yang menyebabkan kenaikan biaya produksi dan merusak kualitas daging karena kerentanan ayam terhadap panas (Nawaz dkk., 2021).

Ayam sangat rentan terhadap cekaman panas karena memiliki tubuh yang hampir semua bagiannya ditutupi bulu dan tidak memiliki kelenjar keringat, sehingga pembuangan panas tubuh ke lingkungan sulit dilakukan oleh ayam (Tamzil, 2014). Zona termo-netral ayam umumnya antara 18-25°C. Dalam kisaran suhu ini, cukup untuk mempertahankan suhu tubuh normal ayam yaitu pada 41-42°C (Wilson, 1948; Welker dkk., 2008; Hy-Line, 2022). Ketika temperatur melebihi zona termo-netral, maka stres atau cekaman panas akan diderita oleh ayam. Stres panas ini akan berakibat fatal, karena terjadi kerusakan pada senyawa-senyawa seperti enzim. Enzim tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya jika terjadi kerusakan, yang akan menyebabkan terpengaruhnya kondisi fisiologis dan hormonal pada tubuh ayam (Ewing dkk., 1999).

Pada cekaman panas, unggas mengubah perilaku mereka dan homeostasis fisiologis untuk menurunkan suhu tubuhnya. Unggas yang mengalami cekaman panas menghabiskan lebih sedikit waktu makan, lebih banyak waktu minum dan terengah-engah, serta lebih banyak waktu dengan sayap mereka terangkat, lebih sedikit waktu bergerak atau berjalan, dan lebih banyak waktu istirahat (Mack dkk., 2012; Lara & Marcos, 2013). Cekaman panas juga akan mempengaruhi fisiologis ayam yaitu suhu rektal akan meningkat (Gaviol dkk., 2008), peningkatan frekuensi napas (Etches dkk., 2008) dan meningkatnya rasio heterofil

limfosit (Aengwanich & Chinrasri, 2002). Suhu lingkungan yang tinggi mengurangi aktivitas dan ukuran tiroid pada ayam yang mengalami cekaman panas. Hormon tiroid memainkan peran penting dalam termogenesis unggas melalui termoregulasi dengan mengontrol produksi panas metabolik yang sangat penting untuk mempertahankan suhu tubuh normal (Gonzalez-Rivas dkk., 2020). Stres panas pada unggas dapat mempengaruhi laju pertumbuhan, pemicu berbagai macam penyakit, penurunan kualitas daging, dan turunnya produksi telur. Hal ini akan menyebabkan turunnya keuntungan ternak ayam (Tabiri dkk., 2000).

Ketika kondisi stres panas, tubuh berusaha untuk mengembalikan homeostasis. Bila tidak berhasil, maka tubuh akan menggunakan jalur genetik dengan mengaktifkan gen *Heat Shock Protein* (HSP) untuk melindungi protein-protein yang sensitif terhadap suhu tinggi. Keluarga HSP ini dikelompokkan berdasarkan berat molekulnya yaitu HSP110, HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40, HSP10 dan small HSP (Khalil dkk., 2011). Antara anggota keluarga HSP yang telah disebutkan, HSP90 dan HSP70 berkorelasi dengan perkembangan termotoleransi (Hue dkk., 2013).

*Heat Shock Protein 90* merupakan salah satu anggota protein *chaperon*, yang memiliki ukuran 90 KDa. Protein ini berperan penting dalam pelipatan, stabilisasi, pematangan, dan aktivasi protein lainnya (Hartson & Matts, 2012). Bentuk dari gen HSP90 ada banyak, pada umumnya dibagi menjadi dua kelas utama yaitu isoform  $\alpha$  dan isoform  $\beta$ . Isoform  $\alpha$  dibagi menjadi dua kelas yaitu HSP90AA1 dan HSP90AB1, sedangkan isoform  $\beta$  hanya terdiri dari HSP90B1. Walaupun berbeda-beda, isoform tersebut memiliki fungsi yang sama, namun ada beberapa variasi dalam struktur yang memungkinkannya menjalankan fungsinya secara efektif di berbagai bagian tubuh (Cartwright dkk., 2007).

*Heat shock protein* adalah salah satu biomarker penting yang diproduksi sebagai mekanisme pertahanan seluler dan jaringan, yang ekspresinya meningkat tajam selama *heat shock*. Ekspresi gen termotoleransi dan peningkatan konsentrasi HSP yang diamati merupakan respons akhir di mana sel mengalami dampak terjadinya *heat shock*, menjadikannya bukti biomarker untuk kondisi tersebut. Salah satu cara utama para ilmuwan di seluruh dunia untuk menetapkan tingkat keparahan *heat shock* adalah dengan mengamati HSP (Gade dkk., 2010; Ganaie

dkk., 2013; Archana dkk., 2017). Ekspresi gen termotoleransi juga telah dikaitkan dengan polimorfisme dalam gen yang terlibat dalam menanggapi stres panas atau gen yang bertanggung jawab untuk homeostasis (Basiricò dkk., 2011; Liu dkk., 2011; Charoensook dkk., 2013).

Polimorfisme merupakan keragaman atau variasi genetik yang mengakibatkan terjadinya beberapa bentuk atau jenis individu yang berbeda di antara anggota satu spesies (Twyman, 2009). Keragaman genetik dalam urutan DNA atau protein memainkan peran penting dalam kelangsungan hidup dan kemampuan beradaptasi suatu spesies (Hardcastle dkk., 2007). Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa ada beberapa situs polimorfisme yang dapat digunakan secara efektif untuk mengidentifikasi sifat toleran panas pada ayam (Mazzi dkk., 2003; Gaviol dkk., 2008; Tamzil dkk., 2013).

Hubungan antara polimorfisme pada gen HSP90 yang dikaitkan dengan toleransi panas telah diamati pada ayam (Chen dkk., 2013; Wan dkk., 2017; Irvboje dkk., 2019). Penelitian yang dilakukan pada ayam *Fowl Hyline Brown* dan *Brown dominant*, mengungkapkan bahwa polimorfisme pada gen HSP90 yaitu *single nucleotide polymorphism* (SNP) A160T, T223A dan C134T yang terdeteksi di bagian intron 7 hingga ekson 8 dari gen HSP90AA1 memiliki hubungan dengan sifat diamati yaitu temperatur rektal dan laju pernapasan ayam (Irvboje dkk., 2019). Pada ayam lokal Cina, yaitu ayam Lingshan dan *White Recessive Rock* (WRR), juga mengungkapkan bahwa SNP c.-141G>A di wilayah promoter dari gen HSP90 $\beta$  telah mempengaruhi toleransi panas (Chen dkk., 2013). Pada ayam Huainan yang juga berasal dari Cina, menemukan sebuah SNP yaitu g6798G>A yang terdeteksi pada ekson 14 HSP90B1 menunjukkan hubungannya dengan sifat toleransi panas (Wan dkk., 2017).

Hubungan antara ayam dan genotipe HSP70 selama resistensi cekaman panas juga sudah diteliti, jenis ayam yang memiliki sifat toleran terhadap panas telah dihasilkan melalui proses seleksi dengan menggunakan penanda yang didapatkan dari hubungan antara polimorfisme gen HSP70 dengan resistensi cekaman panas (Mazzi dkk., 2003; Tamzil dkk., 2013; Liang dkk., 2016). Telah dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Aryani dkk. (2021) mengenai hubungan antara keragaman gen HSP70 dan respons fisiologis terhadap cekaman

panas pada ayam lokal Indonesia, menggunakan parameter yang diamati yaitu pengukuran suhu rektal, distribusi suhu permukaan tubuh, dan konsentrasi hormon, serta waktu mulai *panting*. Penelitian tersebut mengungkapkan bahwa ayam Walik haplotipe H1 lebih rentan terhadap cekaman panas berdasarkan pengukuran suhu rektal.

Selain variasi dari basa tunggal atau SNP, terdapat Metilasi DNA yang terdapat pada CpG *Island* (Plass & Rush, 2005). Metilasi DNA adalah tanda epigenetik yang memiliki peran penting dalam mengatur ekspresi gen. CpG *island* adalah daerah metilasi DNA dalam promotor yang diketahui mengatur ekspresi gen melalui pembungkaman (*silencing*) transkripsi dari gen yang sesuai. Metilasi DNA adalah penambahan gugus metil (-CH<sub>3</sub>) pada posisi 5 cincin sitosin dalam urutan gen sehingga membentuk 5-methylcytosine (5mC) (Wang dkk., 2020). Metilasi DNA di CpG *island* sangat penting untuk ekspresi gen. Penelitian sebelumnya mendapatkan 3.133 CpG *island* diidentifikasi dari 20 data jaringan dalam satu sampel ayam yang dapat mempengaruhi ekspresi gen. Penelitian tersebut menunjukkan bagaimana metilasi DNA berkorelasi dengan ekspresi gen pada jaringan dewasa yang normal (Lim dkk., 2019).

Keragaman gen HSP70 pada beberapa ayam telah diteliti (Mazzi dkk., 2003; Tamzil dkk., 2013; Liang dkk., 2016; Aryani dkk., 2021). Namun, penelitian mengenai struktur dan keragaman gen HSP90 pada ayam masih sangat terbatas (Chen dkk., 2013; Wan dkk., 2017; Irvboje dkk., 2019). Pemilihan ayam pada penelitian ini dikarenakan ayam adalah salah satu sumber daya hayati dengan keanekaragaman tinggi, yang mudah ditemukan, tidak mahal, dan memiliki sumber protein tinggi (Nataamijaya, 2000). Baru sedikit yang mengungkap karakterisasi gen HSP90 pada ayam, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana karakterisasi gen HSP90 pada ayam secara *in silico*.

Uji *in silico* biasanya digunakan dalam kajian genomik. Penggunaan umum uji *in silico* termasuk di dalamnya identifikasi gen dan polimorfisme nukleotida tunggal (Lesk dkk. 2013). Dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode komputasi atau uji *in silico* menggunakan data gen yang telah tersedia untuk umum. Selanjutnya, karena seluruh pemodelan dan analisis didasarkan pada

pendekatan komputasi, penelitian ini dapat memperoleh hasil analisis tersebut bahkan dalam waktu yang singkat, hal ini menghemat banyak waktu dan mengurangi biaya jika dibandingkan dengan metode dengan studi *in vitro*. Untuk itu dengan adanya uji *in silico* ini penelitian selanjutnya yang bersifat *in vitro* dan *in vivo* akan menjadi lebih cepat dan terarah (Barh dkk., 2014). Dalam penelitian ini akan mendeteksi CpG island dan merancang primer secara *in silico* yang dapat digunakan untuk mengamplifikasi gen HSP90, sehingga dapat digunakan sebagai database marka cekaman panas pada ayam lokal Indonesia.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan pada latar belakang di atas, maka rumusan masalah untuk penelitian ini adalah “Bagaimanakah perancangan primer dan deteksi CpG island secara *in silico* pada gen HSP90 ayam (*Gallus gallus*)?”

## 1.3. Pertanyaan Penelitian

Pertanyaan penelitian yang dapat diambil dari rumusan masalah tersebut antara lain:

- a. Bagaimanakah struktur gen HSP90 pada ayam (*Gallus gallus*)?
- b. Bagaimanakah perancangan primer untuk amplifikasi secara *in silico* pada gen HSP90 pada ayam?
- c. Bagaimanakah deteksi CpG island secara *in silico* pada gen HSP90 pada ayam?

## 1.4. Batasan Masalah

Berikut merupakan batasan masalah dalam penelitian ini:

- a. Seluruh data sekuen gen HSP90 ayam yang dianalisis didapatkan dari laman Ensembl (<https://ensembl.org/index.html>)
- b. Polimorfisme gen HSP90 pada ayam dianalisis dengan mendeteksi adanya: insersi, delesi, *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), dan CpG Island
- c. Merancang pasangan primer yang dapat mengamplifikasi gen HSP90 yang berpotensi sebagai marka cekaman panas

### **1.5. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian yang dapat diambil dari latar belakang dan rumusan masalah tersebut adalah untuk memberikan informasi mengenai pembentukan primer dan deteksi CpG *island* secara *in silico*, dan menghasilkan rancangan primer yang dapat mengamplifikasi daerah spesifik dari gen HSP90 pada ayam.

### **1.6. Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah memberikan gambaran karakteristik gen HSP90 pada ayam berdasarkan studi *in silico* dan mendapatkan pasangan primer yang dapat mengamplifikasi gen HSP90 untuk dijadikan marka cekaman panas pada ayam lokal Indonesia.