

BAB I

PENDAHULUAN

1. 1. Latar Belakang

Temperatur global mengalami peningkatan akibat peristiwa pemanasan global. *National Oceanic and Atmospheric Administration, National Center for Environmental Information* (NCEI) melaporkan dalam laporan iklim global untuk April 2022 mengalami kenaikan suhu anomali menjadi $+0.85^{\circ}\text{C}$ jika dibandingkan suhu anomali pada April 2021, yaitu $+0.76^{\circ}\text{C}$. Saat ini *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) meresahkan akan adanya kemungkinan pemanasan global 1.5°C antara tahun 2030 dan 2052, hal ini didasarkan pada tendensi dari pemanasan jangka panjang sejak masa pra-industri dengan pengamatan anomali suhu permukaan rata-rata global (GMST). Dalam dekade 2006–2015 suhu anomali mencapai $+0.87^{\circ}\text{C}$ dengan rentang kemungkinan $+0.75^{\circ}\text{C}$ sampai $+0.99^{\circ}\text{C}$. selain itu perkiraan aktivitas manusia yang menyebabkan pemanasan global sebesar 1.0°C dengan rentang kemungkinan 0.8°C sampai 1.2°C . Fakta tersebut membuktikan adanya kemungkinan pemanasan global yang lebih berat di masa akan datang, sehingga perlunya langkah antisipasi yang tepat untuk mengurangi dampak dari pemanasan global.

Peningkatan suhu bumi dan lingkungan akan memiliki dampak langsung terhadap hewan, khususnya ayam. Dampak paling umum yang dapat terjadi adalah kejadian cekaman panas pada ayam. Umum diketahui bahwa ayam merupakan hewan yang cukup rentan terhadap cekaman panas. Hal ini berhubungan dengan tidak dimilikinya kelenjar keringat di bagian dermisnya dan kulit tubuh yang tertutup oleh hampir sebagian besar bulu pada tubuhnya menyebabkan ayam sulit untuk membuang panas tubuh ke lingkungan (Jaiswal *et al.*, 2017). Kejadian cekaman panas pada ayam ini akan berpengaruh terhadap tubuh maupun lingkungan, seperti penurunan tingkat kesehatan ayam, penurunan produktivitas dan fisiologi ayam; serta dapat merujuk pada dampak yang lebih besar salah satunya, yaitu melemahkannya tingkat ketahanan dan manajemen pangan karena ayam merupakan salah satu sumber protein dunia (Banik *et al.*, 2015; Rojas-Downing *et al.*, 2017; Kang *et al.*, 2020).

Dalam menghadapi kejadian cekaman panas, ayam memiliki beberapa mekanisme pertahanan homeostasis untuk mengatasi cekaman panas. Mekanisme ayam untuk merespons cekaman panas terbagi menjadi dua jenis mekanisme, yaitu secara perubahan tingkah laku dan molekuler. Mekanisme perubahan tingkah laku merupakan respons yang dapat terlihat dan mengindikasikan terjadinya cekaman panas pada ayam secara kasatmata, beberapa perubahan perilaku yang umum dilakukan oleh ayam adalah peningkatan terhadap konsumsi air minum, penurunan nafsu makan, mengangkatnya sayap dan bernafas melalui tenggorokan dengan membuka mulut untuk meningkatkan penguapan panas tubuh (*panting*) (Lara & Rostagno, 2013). Selain mekanisme perubahan tingkah laku, dalam mempertahankan homeostasis tubuh dari cekaman panas, ayam akan mengaktifkan mekanisme lain yaitu mekanisme secara molekuler. Mekanisme molekuler yang umum terjadi adalah dengan terekspresinya gen *heat shock protein 70* (HSP70) (Guertin *et al.*, 2010). Pernyataan ini sejalan dengan hasil studi yang dilaporkan Archana *et al.*, (2017) bahwa kenaikan suhu lingkungan dapat memicu terbentuknya salah satu protein yang disebut dengan *heat shock protein* (HSP).

Gen HSP70 merupakan salah satu gen dari kelompok gen HSP yang ada (Novita & Zuraidah, 2016). Gen HSP70 sering kali dijadikan objek penelitian terkait dengan kejadian cekaman panas pada ayam, seperti ekspresi gen HSP70 terhadap perbedaan suhu dan peran gen HSP70 dalam melindungi sel terhadap cekaman panas (Guerreiro *et al.*, 2004; Xu *et al.*, 2017). Hal ini terkait dengan fungsi utama HSP70 sebagai pencegah kerusakan dan *misfolding* protein dalam keadaan cekaman panas (Alderson *et al.*, 2016). Gen HSP70 juga kerap kali digunakan sebagai salah satu marka genetik yang ideal untuk cekaman panas pada hewan (Archana *et al.*, 2017).

Penggunaan gen HSP70 sebagai marka genetik memiliki daya tarik untuk beberapa peneliti. Ketertarikan peneliti terhadap gen HSP70 pada ayam telah dilakukan Morimoto *et al.* (1986), yaitu dengan perolehan sekuens lengkap gen HSP70 *Gallus gallus* dan pemetaan struktur sekuens gen HSP70 *G. gallus*. Kemudian Mazzi *et al.* (2003) melakukan penelitian mengenai analisis polimorfisme gen HSP70 pada ayam lokal China, hingga didapatkan dua SNP spesifik di daerah +258A>G dan +276C>G. Setelah itu, Gan *et al.* (2015)

mendapatkan 34 daerah SNP dan dua mutasi indel untuk gen HSP70 *G. gallus* sp. Penelitian gen HSP70 di Indonesia dilakukan Aryani *et al.* (2019) pada ayam Walik, dalam penelitiannya diperoleh sekuens gen HSP70 ayam Walik hingga daerah +465 dan dua situs SNP spesifik (g.370A>G dan g.388C>G).

Ayam Walik merupakan ayam lokal Indonesia yang memiliki bulu keriting dan terbalik, kondisi bulu keriting dan terbalik disebabkan karena mutasi pada gen KRT75 keratin. Keadaan bulu ayam Walik yang keriting dan terbalik sering kali dikaitkan dengan ketahanannya terhadap cekaman panas (Fathi *et al.*, 2014). Bulu keriting dan terbalik pada ayam Walik ini merupakan alasan digunakannya ayam Walik dalam penelitian ini. Jika bulu keriting dan terbalik pada ayam Walik berkaitan dengan ketahanannya terhadap panas, maka juga kemungkinan ketahanan panas karena bulu terbaliknya memiliki keterkaitan terhadap keberadaan polimorfisme pada gen HSP70 ayam Walik. Namun, penelitian mengenai ayam Walik dan cekaman panas di Indonesia belum banyak dilakukan. Basis data dari gen HSP70 ayam Walik juga belum tersedia.

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian Aryani *et al.* (2019), dimana dalam penelitiannya data sekuens gen HSP70 ayam Walik masih diperoleh hingga daerah *coding* +465, maka penelitian ini menargetkan dikumpulkannya sekuens gen HSP70 ayam Walik dimulai dari daerah *coding* +466 hingga *terminator* sebagai langkah awal untuk penelitian mengenai gen HSP70 pada ayam Walik di Indonesia. Sekuens gen HSP70 ayam Walik akan diambil dengan proses amplifikasi metode PCR dari hasil isolasi DNA genom ayam Walik, karena target gen dan daerah amplifikasi penelitian ini sudah jelas, maka diperlukan suatu rancangan primer untuk pembatasan fragmen DNA yang akan dianalisis lebih lanjut. Oleh karena itu, perancangan primer sesuai kriteria ideal primer merupakan langkah pertama yang harus dilakukan untuk mengumpulkan sekuens gen HSP70 ayam Walik.

Perancangan primer ideal dilakukan untuk mendapatkan hasil amplifikasi yang optimal, sehingga sekuens gen HSP70 dapat terkumpul secara optimal. Kelengkapan urutan gen HSP70 ayam Walik akan digunakan sebagai bahan kajian mengenai standar genotipe cekaman panas pada ayam lokal Indonesia, maka diperlukan rancangan primer yang baik untuk kelancaran pengumpulan sekuens gen

HSP70 ayam Walik. Basis data ini juga dapat digunakan untuk mengakomodasi pengembangan marka genetik cekaman panas ayam lokal Indonesia dan memudahkan dalam pengembangan dan identifikasi strain yang adaptif terhadap cekaman panas dengan didasarkan dan mempertimbangkan interaksi lingkungan-genotipe (Das *et al.*, 2016).

1. 2. Rumusan Masalah

Berdasarkan pada latar belakang di atas, maka rumusan masalah untuk penelitian ini adalah “Bagaimana perancangan primer spesifik untuk amplifikasi daerah *coding* dan 3’UTR gen HSP70 ayam Walik?”

1. 3. Pertanyaan Penelitian

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

1. Bagaimana pemilihan daerah target amplifikasi, perancangan dan pemilihan primer spesifik untuk gen HSP70 Ayam Walik?
2. Bagaimana sekuens primer spesifik untuk amplifikasi daerah *coding* dan 3’UTR gen HSP70 Ayam Walik?
3. Bagaimana mengetahui pita hasil amplifikasi primer benar mengamplifikasi daerah target pada gen HSP70 ayam Walik?

1. 4. Batasan Masalah

Berdasarkan pertanyaan penelitian, maka batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Data sekuens gen HSP70 ayam (*Gallus gallus*) yang digunakan untuk perancangan primer berdasarkan genbank J02579 (Morimoto *et al.*, 1986) dari laman NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).
2. Daerah target amplifikasi, yaitu: dari sekuens basa ke 850 (+465) sampai sekuens basa ke 2692
3. Rancangan primer yang dibuat berdasarkan sekuens gen HSP70 dari *Genbank* J02579
4. Hasil rancangan primer yang diuji secara *in silico* dan diaplikasikan secara *in vitro* di Laboratorium dengan PCR dan sekuensing.

1. 5. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah, tujuan penelitian ini dibedakan menjadi dua, yaitu tujuan umum dan tujuan khusus. Tujuan khusus penelitian ini adalah “Untuk mendapatkan pasang primer yang dapat mengamplifikasi gen HSP70 Ayam Walik bersama dengan situs SNP-nya”. Tujuan umumnya adalah mendapatkan sekuens gen HSP70 ayam Walik secara keseluruhan, untuk melengkapi sekuens gen yang didapatkan dalam penelitian sebelumnya oleh Aryani *et al.* (2019) dan sebagai database awal untuk penelitian-penelitian terkait resistensi ayam lokal Indonesia terhadap cekaman panas.

1. 6. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah mendapatkan pasangan primer yang dapat mengamplifikasi sekuens gen HSP70 secara spesifik melengkapi database gen HSP70 ayam Walik, sehingga kedepannya akan memudahkan penelitian terkait, seperti pengembangan marka genetik cekaman panas pada ayam lokal Indonesia, mengidentifikasi parental maupun anakan yang resisten terhadap cekaman panas untuk peningkatan produktivitas, serta mempermudah dalam pemeliharaan dan perawatan.

1. 7. Struktur Organisasi Skripsi

Secara umum, keseluruhan isi skripsi dapat digambarkan dalam struktur organisasi skripsi berikut:

1. Bab I Pendahuluan, pada Bab I ini merupakan pemaparan mengenai latar belakang, rumusan masalah, pertanyaan penelitian, batasan masalah, serta tujuan dan manfaat penelitian. Dalam latar belakang dijelaskan mengenai hal-hal yang mendasari dilakukannya penelitian ini. Kemudian untuk menjaga penelitian tetap terfokus untuk menjawab rumusan masalah dan pertanyaan penelitian, maka ditetapkan beberapa batasan masalah. Tujuan dan manfaat penelitian merupakan target capaian (*goals*) secara umum yang diharapkan dari penelitian ini.
2. Bab II Kajian Pustaka, pada Bab II menjelaskan mengenai topik-topik terkait permasalahan yang diangkat dalam penelitian. Bagian ini mencakup landasan teori disertai dengan sumber rujukan teori-teori dan hasil dari penelitian-penelitian terdahulu yang dapat menjelaskan permasalahan dan relevan dengan

bidang kajian yang diteliti. Adapun topik yang dipaparkan dalam bab ini adalah deskripsi umum mengenai cekaman panas, gen *Heat Shock Protein 70* (gen HSP70), ayam walik sebagai ayam lokal Indonesia, primer, perancangan primer dan uji *in silico*; serta *polymerase chain reaction* (PCR) dan sekuensing.

3. Bab III Metodologi Penelitian, pada Bab III dijelaskan mengenai prosedur penelitian yang telah dilakukan selama penelitian berlangsung secara terperinci. Beberapa metode yang digunakan selama penelitian adalah jenis penelitian, populasi dan sampel penelitian, waktu dan lokasi penelitian, alat dan bahan penelitian, prosedur penelitian, analisis data, dan visualisasi alur utama penelitian.
4. Bab IV Temuan dan Pembahasan, pada Bab IV ini dijelaskan mengenai hasil temuan berdasarkan pengolahan dan analisis data yang dikaitkan dengan teori-teori yang mendukung untuk menjawab pertanyaan penelitian yang dirumuskan sebelumnya. Bab ini merupakan hasil aplikasi metode bab III yang dianalisis dan dikaitkan dengan teori yang dikemukakan pada bab II.
5. Bab V Simpulan, Implikasi, dan Rekomendasi, pada Bab V dipaparkan penafsiran dan pemaknaan peneliti yang telah rampung terhadap hasil analisis temuan disertai implikasi dan rekomendasi untuk penelitian selanjutnya.