

IDENTIFIKASI KERAGAMAN GEN HSP 70 DIKAITKAN DAYA TAHAN PANAS PADA SAPI BALI DAN BALI PERSILANGAN

Identification Polymorphism HSP 70 Gene Associated Heat Tolerance of Bali Cattle and Bali Cross Cattle

Nirwana Muin¹, H. Sonjaya², Sjamsuddin Garantjang²

¹ Sistem-Sistem Pertanian Pascasarjana Universitas Hasanuddin

² Jurusan Produksi Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin

(E-mail: amane_muslim@yahoo.com)

ABSTRAK

Gen HSP 70 adalah protein cekaman panas yang berfungsi mempersiapkan sel untuk menghadapi cekaman panas selanjutnya, namun belum diketahui hubungan antara gen HSP dengan daya tahan panas ternak. Penelitian ini bertujuan mengetahui hubungan gen HSP 70 dengan daya tahan panas ternak pada sapi Bali dan Bali persilangan. Penelitian ini menggunakan metode PCR-RFLP untuk mengamplifikasi fragmen DNA genom gen HSP 70 (544 pb). Untuk membedakan keragaman genetik gen HSP 70 dilakukan pemotongan amplimer menggunakan enzim restriksi BSoB1. Jumlah sampel yang digunakan yaitu sapi Bali 12 ekor dan sapi Bali persilangan 11 ekor. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gen HSP 70 BSoB1 pada sapi Bali bersifat polimorfik dengan frekuensi genotipe AA = 0,92, genotipe AC = 0,08 dan CC = 0 sedangkan untuk sapi Bali persilangan bersifat polimorfik dengan frekuensi genotipe AA = 0,91, genotipe AC = 0,09 dan genotipe CC = 0. Sapi Bali memiliki nilai heterozigositas 0,08, sedangkan sapi Bali persilangan 0,09. Sapi Bali dan sapi Bali persilangan berada dalam keseimbangan Hardt-Weinberg dengan nilai $X^2 = 0,023$ dan $X^2 = 0,027$. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara gen HSP 70 pada sapi Bali dan Bali persilangan dengan daya tahan panas ternak.

Kata Kunci: Sapi bali dan bali persilangan, heat shock protein, daya tahan panas

ABSTRACT

HSP 70 gene is heat stress proteins that function cell prepares to face the next heat stress, but it is not known relationship between HSP genes with heat resistance of cattle This study aimed determine the relationship of HSP 70 gene with a heat resistance of cattle in Bali and Bali cattle cross. This study using PCR-RFLP method possible to amplify genomic DNA fragments HSP 70 gene (544 bp). To distinguish the genetic diversity of HSP 70 gene amplimer was cut using restriction enzymes BSoB1. The number of samples used is Bali cattle 12 (n) and Bali cattle cross 11 (n). Results of this study indicate that the HSP 70 gene BSoB1 of Bali cattle are monomorphik with AA genotype frequency = 0.92, genotype AC = 0.08 and CC = 0 while for Bali cattle cross is monomorphik with AA genotype frequency = 0.91, genotype AC = 0.09 and genotype CC = 0. Bali cattle have a heterozygosity value of 0.08, while the Bali cattle cross 0.09. Bali Bali cattle and cattle cross located in the Hardt-Weinberg equilibrium with the value of $X^2 = 0.023$ and $X^2 = 0.027$. There was no significant association between gene HSP 70 in Bali and Bali cattle cross with cattle heat resistance.

Keywords: Bali and bali cross cattle, heat shock respon, heat tolerance

PENDAHULUAN

Pemasok kebutuhan daging di Sulawesi Selatan yang paling besar adalah sapi Bali. Sapi Bali merupakan salah satu dari empat sapi lokal utama

(Aceh, Pesisir, Madura dan Bali) di Indonesia. Keunggulan sapi Bali antara lain memiliki tingkat fertilitas tinggi (80% - 82 %), daya adaptasi yang baik terhadap lingkungan baru, produksi

karkas yang tinggi, heterosis positif tinggi pada persilangan (Noor *et al.*, 2001). Beberapa sifat produksi dan reproduksi tersebut merupakan sifat ekonomis dan biologis penting yang dapat digunakan sebagai indikator seleksi (Handirawan *et al.*, 2004).

Kemampuan ternak sapi beradaptasi terhadap lingkungan yang marginal, berpengaruh terhadap kemampuan reproduksinya hal ini ditunjukkan dari kemampuan reproduksi yang beragam pada kondisi lingkungan yang berbeda. Tingginya temperatur lingkungan akan menyebabkan cekaman panas (*Heat shock*) dan akan lebih diperparah lagi dampaknya bila kelembaban udara tinggi sehingga dapat menyebabkan penurunan tingkat kebuntingan pada sapi betina (Sprot *et al.*, 2001. Ingraham *et al.*, 1974). Untuk sapi jantan dilaporkan bahwa dengan meningkatkan temperatur tubuh akibat naiknya temperatur lingkungan menurunkan kualitas semen selama 8 minggu setelah pejantan mendapat perlakuan cekaman panas (Meyyerhoffer *et al.*, 1985) dan menurunkan motilitas spermatozoa sapi (Chandolia *et al.*, 1999).

Salah satu faktor genetik yang mempunyai peranan dalam adaptasi terhadap keadaan lingkungan luar berupa cekaman panas adalah gen Heat Shock Protein. Heat shock protein adalah suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat shock response* (HSR). Ekspresi HSP dapat diinduksi oleh berbagai macam stressor, diantaranya kenaikan temperature, mutasi dan pengaruh lingkungan. (Westerheide *et al.*, 2005).

HSP adalah suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat Shock Response* (HSR). HSR adalah suatu respon berbasis genetic untuk menginduksi gen-gen yang mengkode *molecular chaperone*, protease dan protein-protein lain yang penting dalam mekanisme pertahanan dan pemulihan terhadap jejas seluler yang berhubungan dengan terjadinya *misfolder protein*. HSR merupakan suatu tanggapan sel terhadap berbagai macam gangguan, baik yang

bersifat fisiologik maupun yang berasal dari lingkungan. (Westerheide *et al.*, 2005). HSP merupakan suatu *molecular chaperone* yang berfungsi untuk melindungi protein lain dari agregasi, melonggarkan protein yang beragregasi, membantu pelipatan protein baru atau pelipatan kembali protein yang rusak, mendegradasi protein yang rusak cukup parah dan dalam kasus kerusakan yang sangat berat, mengasingkan protein yang rusak menjadi agregat yang lebih besar. (Widjaja FF *et al.*, 2009)

Kemampuan ternak menghadapi stress cekaman panas dapat mempengaruhi proses reproduksi ternak. Cekaman panas pada tingkat embrio mempengaruhi jumlah embrio dua tahap sel dan empat – delapan sel tetapi tidak mempengaruhi perkembangan morula yang sedang bertumbuh. Atau dengan kata lain cekaman panas sangat berpengaruh terhadap perkembangan embrio dua sel menjadi tahap balstosis. (Edward *et al.*, 1997). Untuk sapi pejantan cekaman panas dapat menurunkan kualitas semen selama 8 minggu setelah pejantan mendapat perlakuan cekaman panas (Meyyerhofer *et al.*, 1985).

Terdapat perbedaan yang signifikan antara jenis sapi yang heterozigot dan homozigot terhadap ketahanan panas lingkungannya pada sapi Holstein di China. Diketahui bahwa sapi heterozigot lebih sensitive terhadap panas dibandingkan sapi Holstein yang homozigot dan juga menunjukkan suhu rektal yang tinggi, peningkatan sel darah merah dan pernafasan yang cenderung meningkat (Xiong *et al.*, 2013). Terjadi polimorfisme urutan nukleotida telah diidentifikasi pada gen HSP 70 sapi (Rosenkras *et al.*, 2010; Adamowicz *et al.*, 2005)

Pengetahuan kemampuan ternak beradaptasi dengan lingkungan sangat bermanfaat untuk peningkatan produktivitas ternak. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan melihat hubungan kemampuan daya tahan panas sapi Bali dan Bali persilangan dengan gen HSP 70 (*Heat Shock Protein*).

BAHAN DAN METODE

Ternak dan koleksi sampel

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Juni 2013, untuk pengamatan daya tahan panas dilakukan di peternakan rakyat di Sulawesi Selatan dan Sulawesi Barat dan selanjutnya di melakukan metode PCR-RFLP di Laboratorium Biologi Molekuler Rumash Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin.

Ternak yang digunakan pada penelitian ini adalah sapi Bali dan Bali persilangan. Jumlah sampel yang digunakan adalah 23 ekor yang terdiri atas 12 ekor sapi Bali dan 11 ekor sapi Bali persilangan. Pengamatan daya tahan panas dilakukan dengan mengamati suhu lingkungan minimum dan maksimum menggunakan alat thermometer, mengukur suhu tubuh sapi melalui suhu rektal dengan menggunakan thermometer klinis (digital) yang dimasukkan ke dalam rektum selama 30-60 detik. Suhu tubuh diukur pada saat sapi akan digembalakan di pagi hari pukul 10.00 dan pada saat sore hari setelah digembalakan pukul 16.00. Frekuensi pernafasan dihitung dengan cara mendengar suara dari pernafasan yang timbul pada sapi selama 1 menit dengan menggunakan stetoskop yang diletakkan pada bagian *trachea*

Temperature rata-rata tubuh sebagai parameter untuk perhitungan daya tahan panas dengan menggunakan rumus Benezra (Rahardja, 2010). Untuk identifikasi gen HSP 70, sampel darah diambil dari vena jugularis menggunakan vakutainer kedalam tabung sampel yang berisi EDTA dan disimpan pada suhu -20°C sebelum diekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan GeneJET RNA Purification Kit dari Thermo Scientific^R menghasilkan 200 μl DNA sebagai template untuk PCR.

Penentuan genotip

Amplifikasi dilakukan pada gen HSP 70 dengan urutan primer sesuai Rosenkras *et al* (2010) dengan runutan primer:

Forward Primer:

GCCAGGAAACCAGAGACAGA-3

Revers Primer:

CCTACGCAGGAGTAGGTGGT-3

Kondisi PCR yang diterapkan yaitu denaturasi awal suhu 94°C selama 2 menit, diikuti dengan 39 siklus, denaturasi pada 94°C selama 30 detik, annealing pada 55°C selama 1 menit dan ekstensi pada 68°C selama 1 menit. Ekstensi akhir pada suhu 68°C selama 10 menit pada akhir siklus amplifikasi, PCR dilakukan dengan menggunakan Sensoquest Labcycle. Produk PCR dianalisis dengan gel agarosa 1,5%. Produk reaksi positif digunakan untuk digestasi enzimatik dengan enzim restriksi endonuklease BSoB1 ($\text{C}\downarrow\text{YCGRG}$). Hasil PCR-RFLP dielektroforesis menggunakan gel agaros 2% dan divisualisasi pada gel dokumentasi.

PCR gen HSP 70 BSoB1 menghasilkan panjang fragmen 544 pb, dan hasil restriksi menghasilkan 2 alel yaitu alel A panjang fragmen 400 pb dan 144 pb dan alel C panjang fragmen 200 pb. Genotip gen HSP 70 ditentukan berdasarkan pasangan alelnya, yaitu AA (400 pb dan 144 pb), AC (400 pb, 200 pb dan 144 pb).

Analisa data

Analisa data dilakukan terhadap frekuensi alel, heterozigositas dan keseimbangan *Hardy-Weinberg* mengikuti persamaan (Nei *at al*, 2000), dan hubungan fenotip (kelahiran kembar dan kelahiran tunggal) dengan genotip dianalisa menggunakan SPSS 17 (SPSS^{Inc}).

HASIL

Tabel 1 memperlihatkan hasil pengukuran daya tahan panas pada sapi Bali dan Bali persilangan. Penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan daya tahan panas antara sapi Bali dan Bali persilangan dimana rata-rata daya tahan panas sampel ternak yang diteliti adalah 2,2.

Tabel 1. Hasil pengamatan suhu rektal, pernafasan dan daya tahan panas (*Benezra Coeficient*) pada sapi Bali dan Bali persilangan

No	Sapi	Lokasi	Suhu	SUHU REKTAL		PERNAFASAN		BC
				1 (Pagi)	2 (Siang)	1 (Pagi)	2 (Siang)	
<i>Sapi Bali</i>								
1	Sapi Bali Tunggal	Bantaeng	32.8	38.6	39.4	27	36	2.4
2	Sapi Bali Tunggal	Bantaeng	32.8	38.3	38.8	22	23	2.1
3	Sapi Bali Tunggal	Bantaeng	32.8	38.1	38.2	25	30	2.2
4	Sapi Bali Tunggal	Bantaeng	32.8	38.3	37.8	25	29	2.1
5	Sapi Bali Tunggal	Bantaeng	32.8	38.3	38.7	22	23	2.1
6	Sapi Bali Tunggal	Bantaeng	32.8	38.5	38.9	19	25	2.3
7	Sapi Bali Tunggal	Polman	32	38.2	38.7	24	30	2.3
8	Sapi Bali Tunggal	Polman	32.5	38.5	39.1	19	24	2.3
9	Sapi Bali Kembar	Bantaeng	32.5	38.2	38.9	24	26	2.1
10	Sapi Bali Kembar	Polman	32	38.2	38.7	18	25	2.4
11	Sapi Bali Kembar	Polman	32	39.5	39.7	27	30	2.1
12	Sapi Bali Kembar	Polman	33	39.3	39.9	26	29	2.1
	Rata-rata		32.6	38.5	38.9	23.2	27.5	2.2
<i>Sapi Bali persilangan</i>								
1	Brahman x bali	Bantaeng	32.8	38.8	38.9	29	39	2.3
2	brangus x bali	Bantaeng	32	38.1	38.5	25	29	2.2
3	brahman x bali	Bantaeng	32	37.8	38.8	26	27	2.1
4	brahman x limosin	Bantaeng	32	37.9	38.1	23	25	2.1
5	bali x simental	Bantaeng	32	38.2	38.5	25	28	2.1
6	bali x limosin	Bantaeng	31.8	38.6	38.8	29	30	2.0
7	Bali x Brangus	Polman	32	38.2	38.6	16	24	2.5
8	Simental x Balbra	Polman	32	38.3	38.7	27	29	2.1
9	Brangus x bali	Bantaeng	32	38	39.6	26	29	2.2
10	simbal x limosin	Bantaeng	32	38.2	38.9	17	20	2.2
11	Simental x Bali	Polman	32.5	38.3	39.1	24	27	2.1
	Rata-rata		32.1	38.2	38.8	24.3	27.9	2.2

Gambar 1 memperlihatkan hasil PCR-RFLP gen HSP 70 pada sapi Bali dan Bali persilangan. Hasil menunjukkan bahwa PCR-RFLP pada gen HSP 70 BSoB1 pada sapi Bali dan Bali persilangan menghasilkan dua macam alel yaitu alel A dan C dan terdapat dua macam genotipe yaitu AA dan AC. Alel A memiliki panjang fragmen 400 pb dan alel C memiliki panjang fragmen 200 pb. Alel A ditemukan pada semua sampel sapi yang diamati, sedangkan alel C hanya ditemukan pada 2 ekor sapi (Gambar 1, slot II dan slot XVII). Ternak yang memiliki fragmen dengan panjang

400 bp dan 144 bp digenotipe AA dan yang memiliki fragmen dengan panjang 400 bp, 200 bp dan 144 bp digenotipe AC. Fragmen dengan panjang 400 bp dan 144 bp berarti mengandung alel A dan fragmen dengan panjang 200 bp mengandung alel C. Genotipe gen HSP 70 BSoB1 pada sapi Bali (12 ekor) diperoleh genotipe AA 11 ekor dan AC 1 ekor (frekuensi genotipe AA = 0,92, AC = 0,08 dan CC = 0) sedangkan pada sapi Bali persilangan (11 ekor) diperoleh genotipe AA 10 ekor dan AC 1 ekor (frekuensi genotipe AA = 0,91, AC = 0,09 dan CC = 0).



Gambar 1. Hasil restriksi Gen HSP 70 dengan menggunakan enzim BSoBI pada sapi Bali dan Bali persilangan

Keterangan :

Slot 23,24,28,75,I, II,IV, VII,XXV,XXVII,XVI,XVIII,XXI,XXIII,XXVIII,XXXII, XXXV : 400 pb dan 144 pb (genotip AA)

Slot II dan XVII : 400 pb, 200 Pb dan 144 pb (genotipe AC)

Tabel 2. Hubungan daya tahan panas (BC) dengan Gen HSP 70 pada sapi Bali dan Bali Persilangan

No.	Jenis Sapi	N	Daya Tahan Panas			Total
			Genotipe AA	Genotipe AC	Genotipe CC	
1.	Sapi Bali	12	2,2 ^(a)	2,1 ^(a)	-	2,15
2.	Sapi Bali Persilangan	11	2,1 ^(a)	2,5 ^(a)	-	2,3
Total Populasi		23				

Ket : huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan

Adapun data pada **Tabel 2** memperlihatkan bahwa hubungan genotip gen HSP 70 dengan daya tahan panas pada sapi Bali dan Bali persilangan dengan riwayat melahirkan kembar dan tunggal.

PEMBAHASAN

Penelitian ini melakukan pengukuran dengan melihat suhu tubuh dan pernafasan pada ternak yang akan menjadi penentu kemampuan daya tahan panas pada ternak. Tidak adanya perbedaan nilai daya tahan panas (BC) mungkin disebabkan secara genetik sapi yang digunakan dalam penelitian ini

memiliki gen yang sama yaitu gen sapi Bali dimana diketahui bahwa jenis sapi Bali adalah jenis sapi yang memiliki tingkat adaptasi yang sangat bagus terhadap lingkungan (Oka *et al*, 1996). Hal ini juga sesuai dengan pendapat Noor *et al* (2001) bahwa sapi Bali memiliki daya adaptasi yang baik terhadap lingkungan baru.

Hal ini menunjukkan bahwa tujuan melakukan persilangan antara sapi Bali sebagai sapi lokal Indonesia dengan sapi Eropa tercapai. Dimana diketahui dari penelitian ini sapi Bali persilangan dan sapi Bali memiliki kemampuan daya tahan panas yang sama yang berarti sifat

genetik dari sapi Bali yang unggul berupa kemampuan daya tahan panas telah bergabung dengan sifat genetik sapi eropa yang memiliki produktivitas yang tinggi seperti bobot badan yang cukup tinggi.

Hal ini sesuai dengan pendapat Rusfidra (2006) bahwa sapi Bali jika disilangkan dengan bangsa ternak produktif dari negara lain maka turunan pertamanya sering lebih baik hasilnya dibanding dengan ternak asli. Turunan ini ternyata menggabungkan gen-gen untuk produktivitas dengan daya adaptasi dari kedua bangsa tetua dan meningkatkan heterositas effect. Lebih jauh dijelaskan pula bahwa dengan metode persilangan antara Bali dan sapi luar diharapkan adalah kecepatan pertumbuhan yang tinggi sehingga mencapai bobot potong muda yang cukup tinggi, karkas yang baik serta daya adaptasi dengan lingkungan yang cukup tinggi.

Penelitian ini menunjukkan bahwa gen HSP 70 BSoB1 pada sapi Bali dan Bali persilangan bersifat polymorphik walaupun hanya munculnya 2 macam genotipe yaitu AA dan AC sedangkan CC tidak muncul tapi telah mengandung alel A dan C. Asumsi yang mendukung dalam penentuan tipe genotipe yaitu semua pita yang memiliki laju migrasi yang sama merupakan alel yang homolog (Nei, 1987) atau alel merupakan gen yang menempati lokus-lokus yang sama pada kromosom homolog (Noor, 2008). Penelitian ini menghasilkan gen HSP 70 yang polymorfik, hal ini sesuai dengan penelitian Rosenkras, *et al* (2010) bahwa gen HSP 70 pada sapi Brahman bersifat polymorfik; Adamowicz *et al.* (2005) yang melaporkan bahwa gen HSP 70 pada sapi Holstein di Polandia bersifat polymorfik. Penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Basirico *et al* (2010) melaporkan gen HSP 70 pada sapi perah Holstein bersifat monomorfik.

Nilai heterozogositas pada sapi Bali yaitu 0,08 dan pada Bali persilangan yaitu 0,09. Nilai heterozigositas pada sapi Bali dan Bali persilangan tergolong

rendah, sebab nilainya kurang dari 0,5. Menurut Nei *et al* (2000) dalam Muliadi *et al* (2010) bahwa nilai heterozigositas berkisar antara 0 (nol) sampai dengan 1 (satu). Apabila nilai heterozigositas mendekati 0 (nol) maka nilai heterozigositas rendah, apabila nilai heterozigositas mendekati 1 (satu), maka nilai heterozigositas tinggi. Apabila nilai heterozigositas sama dengan 0 (nol), maka diantara populasi yang diukur memiliki hubungan genetik yang sangat dekat dan apabila nilai heterozigositas sama dengan 1 (satu) maka diantara populasi yang diukur tidak terdapat hubungan genetik sama sekali. Analisa keseimbangan *Hardy-Weinberg* menunjukkan bahwa sapi Bali diperoleh nilai $X^2 = 0,023$ ($P < 0,05$) dan sapi Bali persilangan diperoleh nilai $X^2 = 0,027$ ($P < 0,05$), yang berarti bahwa sapi Bali dan Bali persilangan berada dalam keseimbangan *Hardy-Weinberg*.

Penelitian ini menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara daya tahan panas dengan gen HSP 70 berdasarkan hasil uji korelasi menggunakan SPSS 17^R memiliki hubungan tapi dengan korelasi yang sangat lemah. dimana diperoleh nilai sig 0,275 yang menunjukkan bahwa korelasi antara daya tahan panas dan genotip adalah tidak bermakna. Nilai korelasi Pearson 0,238 menunjukkan korelasi positif dengan kekuatan korelasi lemah. hal ini disebabkan sapi Bali dan Bali persilangan memiliki genotipe dominan yaitu AA sebanyak 21 ekor dan hanya 2 ekor yang ,memiliki genotipe berbeda. Hasil uji ini tidak dapat membandingkan genotipe yang memiliki daya tahan panas terbaik disebabkan sedikitnya hasil genotipe AC dan tidak adanya yang memiliki genotipe CC sebagai pembanding.

Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Xiong, *et al* (2013), bahwa terdapat perbedaan antara genotipe homozigot dominan, heterozigot dan homozigot resesif. Dimana dijelaskan bahwa genotipe heterozigot lebih sensitif terhadap cekaman panas dibandingkan

genotipe homozigot dominan. Karena dalam penelitian ini genotipe HSP 70 bersifat monomorfik maka genotipe homozigot resesif tidak bisa diukur yang bisa jadi lebih sensitif terhadap cekaman panas dibandingkan genotipe heterozigot dan homozigot dominan ataupun sebaliknya.

Tidak adanya hubungan yang signifikan antara daya tahan panas dan gen HSP 70 pada penelitian ini berbeda dengan David *et al* (2001) bahwa protein HSP merupakan protein yang muncul setelah sel mengalami cekaman panas dan berfungsi menjamin suatu perlindungan terhadap sel bila terjadi cekaman panas berikutnya dan induksi cekaman lainnya dan King *et al* (2002) bahwa HSP 70 berfungsi sebagai respons shock panas yang paling banyak terlibat terhadap termotoleransi akibat kenaikan suhu lingkungan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa Gen HSP 70 tidak memiliki hubungan dengan daya tahan panas pada sapi Bali dan sapi Bali persilangan. Disarankan untuk melakukan penelitian pada situs mutasi gen HSP 70 lainnya untuk mendapat gen yang berhubungan dengan daya tahan panas

DAFTAR PUSTAKA

- Adamowicz T, E. Pers, D. Lechniak. (2005). A new SNP in the 3'-UTR of the Hsp70-1 Gene in *Bos taurus* and *Bos indicus*. *Biochem Genet.* 2005;43:623-627. doi: 10.1007/s10528-005-9119-2.
- Basirico L, P. Morera, V. Primi, N. Lacetera, A. Nardone, U. Bernabucci., (2010). Cellular thermotolerance is associated with heat shock protein 70.1 genetic polymorphisms in Holstein lactating cows. *Cell stress and chaperones* 16:441-448. DOI:10.1007/s.12192-011-0257-7
- Chandolia, R.K., E.M Reenersten and P.J Hansen. (1999). Short communication, lack of breed differences in responses of bovine spermatozoa to heat shock. *J.Dairy. Sci.* 82. 2617-2619
- David JC, RM Tanguay and J.F. Grongnet. (2001). Prenatal expression of heat shock protein HSC 70 and HSP 70 in neural and non-neural tissues of the piglet. *Brain Res Dev Brain US*, Jun 29; 128 (2) (91-99)
- Edwards JL and P.J. Hansen.(1997). Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. *Mol reprod dev* 46 : 138-145
- Handiwirawan E dan Subandriyo. (2004). Potensi dan keragaman sumberdaya genetic sapi Bali. *Wartazoa* 14:3
- Ingraham, R.H., D.D. Gillette, and W.C. Wagner. (1974). Relationship of temperature and humidity to conception rate in holstein cows in a subtropical climate. *J.Dairy Sci.* 57: 476-481.
- King Y, C. Lin, J. Lin, and W. Lee. (2002). Whole-body hyperthermia-induced thermotolerance is associated with the induction of Heat Shock Protein 70 in mice. *J. Exp. Biol.* 205:273-278.
- Muliadi D dan J. Arifin. (2010). Pendugaan keseimbangan populasi dan heterozogosititas menggunakan pola protein albumin darah pada populasi domba ekor tipis (*Javanes Thin Tailed*) di daerah Indramayu. *Jurnal Ilmu Ternak.* Vol. 10 No. 2, 65 - 72
- Meyyehoffer D.C., R.P. Wetteman, S.W. Coleman and M.E. Wills., (1985). Impact of heat on sperm motility in bulls. *J.Anim Sci* 60: 352-357
- Nei M. dan Kumar S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics.* Oxford University Press. USA.
- Noor RR, Farajallah A, Karmita M, (2001). Pengujian Kemurnian Sapi Bali Dengan Analisis Hemoglobin

- dengan Metode Isoelectric Focusing. *Hayati* 8(4): 107–111.
- Oka IGL, D Darmadja. (1996). History and development of Bali cattle. Proc. Seminar on Bali cattle, a special spesies for the dry tropics, field by Indonesia Australia eastern University Project (IAEUP), 21 September 1996. Udayana University Lodge, Bukit Jimbaran Bali.
- Rahardja D.P, (2010). Ilmu Lingkungan Ternak. Masagena Press. Makassar
- Rosenkras C Jr, A Banks, S Reiter and M Looper. (2009). Calving traits of crosbreed Brahmans cows are associated with Heat Shock Protein 70 genetic polymorphisms. *Jur Animal reproduction science* 119 (2010) 178 – 182
- Rusfidra, A. (2006). *Manfaat Heritabilitas dalam Pemuliaan Ternak*. <http://www.bunghatta.info>, diakses 24 Juni 2012
- Sprot L.R., G.E. Selk and D.A. Adams, (2001). Review. Factors affecting decisions on when to calve beef females. *Prof. Anim Scientist* 17: 238 – 246..
- Westerheide SD, and R.I Morimoto. (2005). Heat shock resonse modulators as therapeutic tools for disease of protein conformation. *J. Biol Chem.* 2005;280:33097-100 chaperones in the abiotic stress respons. *TREND in plant science*. Vol 9 No. 5 May 2004..
- Widjaja FF, LA Santoso, S Waspadji. (2009). Peran Heat Shock Protein terhadap resistensi insulin. *Maj Kedolt Indon*, Volum: 59, Nomor: 3, Maret 2009
- Xiong Q, J Chai, H Xiong, W Li, T Huang, Y Liu , X Suo , N Zhang , X Li, S Jiang, M Chen. (2013). Association analysis of HSP70A1A haplotypes with heat tolerance in Chinese Holstein cattle.