

Pemanfaatan Famili Gen Hormon Pertumbuhan (GH, GHR, GHRH dan PIT-1) untuk Mendeteksi Keragaman Genetik Kerbau di Kabupaten Pandeglang dan Lebak Provinsi Banten

CECE SUMANTRI¹, R. DIYONO¹, A. FARAJALLAH², A. ANGGRAENI³ dan E. ANDREAS¹

¹Fakultas Peternakan –Institut Pertanian Bogor

²Fakultas MIPA –Institut Pertanian Bogor

³Balai Penelitian Ternak, Bogor.

(Diterima dewan redaksi 15 Oktober 2010)

ABSTRACT

SUMANTRI, C., R. DIYONO, A. FARAJALLAH, A. ANGGRAENI and E. ANDREAS. 2010. Application of growth hormone genes family (GH, GHR, GHRH and Pit-1) for detecting genetic variation of buffaloes in Pandeglang and Lebak districts in Banten Province. *JITV* 15(4): 286-296.

Selection using genetic markers are commonly performed to improve livestock productivity in the livestock industry. The objectives of this study were to identify growth hormone genes family (GH|*MspI*, GH|*AluI*, GHR|*AluI*, GHRH|*HaeIII* and Pit-1|*HinfI*) polymorphisms of Banten buffalo population consisted of Pandeglang and Lebak subpopulations. A total number of 209 blood samples were collected from 15 districts. Genomic DNAs were extracted by a standard phenol-chloroform protocol and amplified by a polymerase chain reaction (PCR) techniques, then PCR products of GH, GHR, GHRH and Pit-1 Genes were digested with *MspI*, *AluI*, *HaeIII* and *HinfI* enzyme restriction. Fragments of GH|*MspI*, GH|*AluI*, GHR|*AluI*, GHRH|*HaeIII* and Pit-1|*HinfI* were detected by EtBr method. The results showed that GH|*MspI* and GHRH|*HaeIII* loci were polymorphic, GH|*AluI*, GHR|*AluI* and Pit-1|*HinfI*, loci were monomorphic. GH allele (-) at locus GH|*MspI* was only found in Cisata (0.03) and Menes (0.11). Allele B at locus GHRH|*HaeIII* only found in Cibadak (0.42), Cisata (0.30) and Menes (0.11). In the total population of Banten locus GH|*MspI* have low diversity ($H_e = 0.02$) and polymorphic information content ($Pic = 0.02$), whereas GHRH|*HaeIII* locus has a higher diversity ($H_e = 0.23$) and Pic (0.22).

Key Words: Polymorphism, Growth Hormone Genes, Buffalo

ABSTRAK

SUMANTRI, C., R. DIYONO, A. FARAJALLAH, A. ANGGRAENI dan E. ANDREAS. 2010. Pemanfaatan famili gen hormon pertumbuhan (GH, GHR, GHRH dan PIT-1) untuk mendeteksi keragaman genetik kerbau di Kabupaten Pandeglang dan Lebak Provinsi Banten. *JITV* 15(4): 286-296.

Seleksi dengan menggunakan marker genetik sudah umum dilakukan untuk meningkatkan produktivitas ternak di industri peternakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman gen GH, GHR, GHRH dan Pit-1 pada lokus (GH|*MspI*, GH|*AluI*, GHR|*AluI*, GHRH|*HaeIII* dan Pit-1|*HinfI*) pada populasi kerbau Banten (Pandeglang dan Lebak) dengan metode *polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphisms* (PCR-RFLP) Sebanyak 209 sampel darah dikoleksi dari 15 kecamatan. Genom DNA diekstrak menggunakan *phenol-chloroform* protocol dan diamplifikasi dengan teknik *polymerase chain reaction* (PCR), kemudian PCR produk dipotong dengan enzim restriksi. Potongan fragmen dari gen GH|*MspI*, GH|*AluI*, GHR|*AluI*, GHRH|*HaeIII* dan Pit-1|*HinfI* dideteksi dengan metoda EtBr. Analisis polimorfisme meliputi frekuensi alel dan genotipe, heterosigositas pengamatan (H_o), heterosigositas harapan (H_e) dan keseimbangan Hardy-Weinberg. Lokus GH|*MspI* dan GHRH|*HaeIII* bersifat polimorfik, sedangkan lokus GH|*AluI*, GHR|*AluI* dan Pit-1|*HinfI* bersifat monomorfik. Alel GH(-) pada lokus GH|*MspI* hanya ditemukan di kecamatan Cibarani (0,03) dan Kecamatan Menes (0,11). Alel B pada lokus GHRH|*HaeIII* hanya ditemukan di kecamatan Cibadak (0,42), Cibarani (0,30) dan Menes (0,11) Pada populasi total Banten lokus GH|*MspI* mempunyai keragaman yang rendah ($H_e = 0,02$) dan polymorphic information content ($Pic = 0,02$), sedangkan lokus GHRH|*HaeIII* mempunyai keragaman lebih tinggi ($H_e = 0,23$) dan Pic (0,22)

Kata Kunci: Keragaman, Gen Hormon Pertumbuhan, Kerbau

PENDAHULUAN

Informasi keragaman gen sebagai MAS (*marker assisted selection*) yang berkaitan dengan sejumlah sifat ekonomis penting, sangat dibutuhkan untuk perbaikan

mutu genetik dan pengembangan kerbau lokal. Kandidat gen yang dapat digunakan yaitu gen yang tergabung dalam grup hormon pertumbuhan diantaranya gen *growth hormone* (GH), *growth hormone releasing hormone* (GHRH), dan *pituitary*

transcription factor (*Pit-1*). Menurut COHEN *et al.* (1997), gen *Pit-1* yang juga dikenal dengan nama *growth hormone factor 1* (*GHF1*) merupakan faktor transkripsi spesifik pituitari yang berperan untuk perkembangan pituitari dan ekspresi hormon pada mamalia. Hormon pertumbuhan (*GH*), reseptor hormon pertumbuhan (*GHR*) serta *Insulin-like growth factor1* (*IGF-1*) merupakan faktor kritis untuk regulasi pertumbuhan dan perkembangan tubuh dan reproduksi ternak (HINES *et al.*, 1998). LECHNIAK *et al.* (1999) melaporkan genotipe LL pada *GH|Alu1* mempunyai kecenderungan menghasilkan volume ejakulasi yang rendah bila dibandingkan dengan genotipe VV pada *GH|Alu1*. GROCHOWSKA *et al.* (2001) mendapatkan genotipe bGH LV memproduksi susu dan persentase protein lebih tinggi dibandingkan dengan genotipe LL dan VV, tetapi genotip VV mempunyai kadar lemak lebih tinggi. Hubungan polimorfisme gen *GHRH/HaeIII* dengan produksi susu telah diteliti oleh MAREK *et al.* (2007) pada populasi sapi perah di Polandia ini menghasilkan tiga genotipe yaitu AA, AB dan BB dengan frekuensi masing-masing 0,10; 0,37 dan 0,53, dan frekuensi alel A dan B masing-masing 0,28 dan 0,72. Sapi dengan genotipe AA mempunyai produksi susu lebih tinggi dibandingkan dengan kedua genotipe lainnya. Gen-gen ini telah banyak dilaporkan pada beberapa spesies termasuk *Bos taurus* dan *Bos indicus* (GE *et al.*, 2003; BEAUCHEMIN *et al.*, 2006). DI STASIO *et al.* (2005) melaporkan hormon pertumbuhan *GH* sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan metabolisme melalui interaksi dengan spesifik receptor (*GHR*) pada permukaan sel target. Oleh karena itu *GHR* menjadi gen kandidat yang berpengaruh terhadap produksi daging pada sapi. CHEONG *et al.* (2006) melaporkan keterkaitan antara polimorfisme gen *GHRH* dengan kualitas karkas pada sapi Korea. Pada sapi Zebu dan silangannya, CURI *et al.* (2006) mengidentifikasi gen *GH1|Alu1* dan *POU1F1|Hinf1* nyata berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kualitas karkas, genotipe *GH1|Alu1* LL mempunyai penambahan bobot tubuh harian dan bobot karkas lebih tinggi daripada genotipe *GH1|Alu1* LV. THOMAS *et al.* (2007) melaporkan genotipe *GH* dan *Pit-1* berpengaruh terhadap sifat pertumbuhan dan karkas pada sapi Brangus. Genotipe *Pit-1* GG mempunyai persentase lemak intramuscular lebih tinggi dari pada AA atau AG, dan Genotipe *GH* CG mempunyai penambahan bobot tubuh lebih cepat dari pada genotipe CC dan GG. SHERMAN *et al.* (2007) melaporkan gen pengontrol metabolisme dan distribusi energi mempunyai dampak ekonomi yang sangat penting pada dunia peternakan. Gen-gen tersebut diantaranya *growth hormone receptor* (*GHR*), *IGF2*, dan *GH*. Genotipe AG pada *GHR* berpengaruh terhadap Bobot tubuh dan efisiensi pakan *IGF2* sangat berpengaruh terhadap marbling, ketebalan lemak

punggung, penambahan bobot tubuh harian dan efisiensi pakan..

Penelitian genetika molekuler tentang identifikasi keragaman gen *Pit-1* pada kerbau di Indonesia dan sapi FH Friesian Holstein telah di laporkan (MISRIANTI *et al.*, 2010), identifikasi keragaman gen *GH|Alu1* dan *GHR|Alu1* pada kerbau di Indonesia (ANDREAS *et al.*, 2010). DIYONO *et al.* (2010) telah melakukan penelitian pendahuluan tentang keragaman gen *GH*, *GHRH* dan *Pit-1* dengan data populasi terbatas (44 ekor Kabupaten Pandeglang dan 33 ekor Kabupaten Lebak) di Banten, hasil penelitian menunjukkan keragaman yang sangat rendah pada lokus *Pit-1|Hinf1* dengan $He=0,00$, lokus *GH|Msp1* dengan $He=0,0469$ dan lokus *GHRH|HaeIII* dengan $He=0,4908$. Rendahnya keragaman kemungkinan disebabkan oleh keterbatasan sampel yang diambil, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan gen *GH*, *GHR*, *GHRH* dan *Pit-1* pada lokus (*GH|Msp1*, *GH|Alu1*, *GHR|Alu1*, *GHRH|HaeIII* dan *Pit-1|Hinf1*) pada populasi kerbau yang lebih banyak dan menyebar terutama di Kabupaten Pandeglang Banten.

MATERI DAN METODE

Pengambilan sampel darah

Sebanyak 209 ekor ternak kerbau yang berasal dari 13 kecamatan di Kabupaten Pandeglang dan dua kecamatan di Kabupaten Lebak Provinsi Banten. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui *vena jugularis* menggunakan jarum Vacutainer sebanyak 2 ml dan dimasukkan ke dalam tabung vakum berantikoagulan dan disimpan dengan etanol 95% sebagai pengawet.

Ekstraksi DNA

DNA diisolasi menggunakan metode fenol kloroform (SAMBROOK *et al.*, 1989). Sampel darah total yang disimpan dalam etanol 95% disentrifugasi 3500 rpm selama 5 menit. Endapan sel-sel darah yang diperoleh dicuci dengan buffer TE sebanyak 2 kali. Sekitar 100 μ l sel-sel darah yang telah bebas dari etanol disuspensikan dengan 1xSTE sampai volume mencapai 350 μ l. Sel-sel darah kemudian dilisis dengan 20 μ l proteinase K (10 mg/ml) dan 40 μ l 10% SDS. Campuran ini dikocok pelan-pelan selama 2 jam pada suhu 55°C.

Pemurnian DNA dilakukan dengan metode fenol-kloroform, yaitu dengan menambahkan 1/10 volume 5 M NaCl, 1 x volume larutan fenol, dan 1 x volume kloroform iso amil alkohol (24:1), kemudian dikocok pelan-pelan pada suhu ruang selama 2 jam. Fase DNA dipisahkan dari fase fenol dengan sentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 5 menit. Molekul DNA

diendapkan dengan menambahkan 1/10 x volume 5 M NaCl dan 2 x volume etanol absolut. Endapan DNA dicuci dengan etanol 70% kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 5 menit. Sisa etanol dibuang dan diuapkan dengan menggunakan pompa vakum. DNA selanjutnya dilarutkan dengan 80 µl *buffer* TE 80%.

Identifikasi keragaman gen GH|*MspI*, GH|*AluI*, GHR|*AluI*, GHRH|*HaeIII* dan Pit-1|*HinfI*

Amplifikasi DNA dilakukan pada total volume 25 µl terdiri dari 2 µl (10-100 ng) DNA, 15,75 µl air bebas ion steril; 2,5 µl 10x *buffer* tanpa Mg²⁺; 2 µl MgCl₂; 0,5 µl 10mM dNTP; 0,25 µl *Taq* polimerase; 2 µl (25 pmol) primer. Tahap I dilakukan dengan 1 x siklus, meliputi proses denaturasi awal pada suhu 94 °C selama 4 menit. Tahap II dilakukan dengan 30 x siklus, meliputi denaturasi pada suhu 94°C selama 10 detik, penempelan primer (*annealing*) pada suhu 60 °C masing-masing untuk primer GH|*AluI* GHRH|*HaeIII* dan Pit1|*HinfI* dan pada suhu 62°C untuk primer GH|*MspI* dan GHR|*AluI* selama 1 menit, pemanjangan molekul DNA pada suhu 72°C selama 2 menit. Tahap III dilakukan dengan 1 x siklus, meliputi pemanjangan akhir molekul DNA pada suhu 72°C selama 7 menit. Inkubasi pada 4°C hingga digunakan untuk analisis lebih lanjut. Informasi primer yang digunakan pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 1.

Produk PCR selanjutnya dipotong dengan enzim restriksi yang spesifik dengan gen tersebut. Enzim restriksi yang digunakan untuk gen GH, GHR, GHRH dan Pit-1 secara berurutan yaitu *MspI*, *AluI*, *HaeIII* dan *HinfI*. Enzim restriksi *MspI* mengenali situs restriksi

C*CGG, enzim *AluI* mengenali situs restriksi AG*CT, sedangkan enzim restriksi *HaeIII* dan *HinfI* masing-masing mengenali situs GG*CC dan G*ANTC. Sebanyak 2 µl produk PCR dicampur dengan 1 sampai 2 unit enzim restriksi dalam 1x*Buf*er (New England Biolabs) dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama minimal 4 jam. Visualisasi pola pita hasil RFLP menggunakan elektroforesis gel poliakrilamid 6% dilanjutkan dengan metode pewarnaan perak (TEGELSTROM, 1992) dan agarose 2% w/v dalam 0,5 x TBE dan diwarnai dengan Etidium Bromida.

Analisis statistik

Analisis data molekuler lokus GH|*MspI*, GH|*AluI*, GHR|*AluI*, GHRH|*HaeIII* dan Pit-1|*HinfI*. pada populasi kerbau Banten meliputi frekuensi alel, keseimbangan Hardy-Weinberg, nilai heterosigositas meliputi heterosigositas pengamatan (H_o) dan heterosigositas harapan (H_e).

Frekuensi alel

Frekuensi alel untuk setiap lokus dihitung menurut NEI dan KUMAR (2000) dengan formula sebagai berikut:

$$x_1 = \frac{(2N_{11} + N_{12})}{2N}$$

Keterangan:

- x_1 = frekuensi alel ke-1
- N_{11} = jumlah genotipe A₁A₁
- N_{12} = jumlah genotipe A₁A₂

Tabel 1. Informasi sekuen primer yang digunakan dalam penelitian

Lokus	Sekuen Primer	Pustaka	Annealing
GH <i>MspI</i>	F: 5'-CCCACGGGCAAGAATGAGGC-3'	MITRA <i>et al.</i> , 1995	62°C
	R: 5'-TGAGGAACTGCAGGGGCCCA-3'		
GH <i>AluI</i>	F: 5'-CGGACCGTGTCTATGAGAAGCTGAAG-3'	BALOGH <i>et al.</i> , 2008	60°C
	R: 5'-GTTCTTGAGCAGCGCGTCGTCA-3'		
GHR <i>AluI</i>	F: 5'-CGCTTACTTCTGCGAGGTAGACGC-3'	ANDREAS <i>et al.</i> , 2010	62°C
	R: 5'-GTCTGTGCTCACATAGCCAC-3'		
GHRH <i>HaeIII</i>	F: 5'-TGAAGGATGCTGCTCTGGGT-3'	MOODY <i>et al.</i> 1995	60°C
	R: 5'-TGCCTGTTTCATGATATCCTGGA-3'		
Pit1 <i>HinfI</i>	F: 5'-AAACCATCATCTCCCTTCTTCTT-3'	WOLLARD <i>et al.</i> 1994	60°C
	R: 5'-AATGTACAATGTGCCCTTCTTCTG-3'		

Keseimbangan Hardy-Weinberg

Keseimbangan Hardy-Weinberg diuji dengan *chi-square* (χ^2) menurut HARTL (1988), sebagai berikut:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

- χ^2 = nilai chi-square uji
- O = jumlah pengamatan genotipe ke-i
- E = jumlah harapan genotipe ke-i

Nilai Heterozigositas Pengamatan (H_o)

Nilai heterosigositas teramati (H_o) dan heterosigositas harapan (H_e) dapat digunakan untuk menduga nilai koefisien *inbreeding* pada suatu kelompok ternak. Perhitungan nilai H_o dan H_e dilakukan menurut HARTL (1988) dengan formula sebagai berikut:

$$H_o = \frac{\sum_{i \neq j} N_{ij}}{N}$$

Keterangan:

- H_o = heterosigositas pengamatan
- N_{ij} = jumlah individu heterosigot pada lokus ke-1
- N = jumlah individu yang diamati

Nilai Heterozigositas Harapan (H_e)

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

Keterangan:

- H_e = heterosigositas harapan
- P_{ii} = frekuensi alel ke-i pada lokus ke-1
- n = jumlah alel pada lokus-1

Polymorphic Information Content (PIC) was calculated by following formula (BOTSTEIN *et al.*, 1980):

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2 P_i^2 P_j^2$$

Keterangan:

- PIC = polymorphic information content
- P_i = frekuensi alel ke-i
- n = jumlah alel

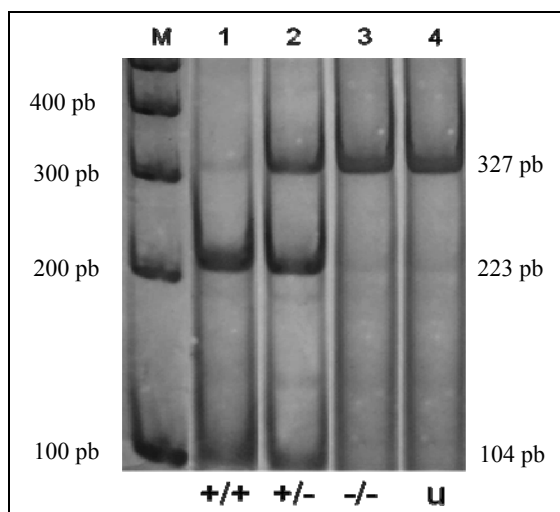
HASIL DAN PEMBAHASAN

Frekuensi Alel lokus GH|*MspI*, GH|*AluI*, GHR|*AluI*, GHRH|*HaeIII* dan Pit-1|*HinfI*

Frekuensi alel, frekuensi genotipe dan keseimbangan Hardy-Weinberg (χ^2) untuk lokus GH|*MspI*, GHRH|*HaeIII* dan Pit-1|*HinfI* pada subpopulasi kerbau Pandeglang dan Lebak disajikan pada Tabel 2.

Lokus GH|*MspI*

Hasil visualisasi PCR-RFLP lokus GH|*MspI* sepanjang 327 panjang basa (pb) menghasilkan dua alel yaitu GH(+) dan GH(-). Mutasi yang terjadi terletak pada basa ke-104 yaitu mutasi titik C-T pada intron 3. Gen GH dengan genotipe GH(+/+) ditunjukkan dengan potongan sempurna dengan dua fragmen yaitu 104 dan 223 pb, genotipe GH(+/-) dengan tiga fragmen yaitu 104, 223 dan 327 pb dan genotipe GH(-/-) ditunjukkan dengan tidak terpotongnya produk PCR sepanjang 327 pb (Gambar 1.)



Gambar 1. Pola pita pemotongan lokus GH|*MspI* pada gel poliakrilamid 6%

Secara umum lokus GH|*MspI* bersifat monomorfik dengan alel GH (+) sebesar 1,0 kecuali di Kecamatan Menes dan Cisata Kabupaten Pandeglang dengan frekuensi alel GH (+) masing-masing 0,89 dan 0,97. Tingginya frekuensi alel GH(+) ini juga ditemukan pada beberapa populasi ternak sapi (FALAKI *et al.*, 1996; LAGZIEL *et al.*, 2000). Oleh beberapa peneliti, keragaman pada lokus GH|*MspI* ini digunakan untuk mengetahui pola distribusi alel antara bangsa sapi tidak berpuncuk (*Bos taurus*) dan bangsa sapi berpuncuk (*Bos Indicus*). Pada bangsa sapi *Bos indicus*, dijumpai frekuensi alel GH(-) yang lebih tinggi dibandingkan dengan frekuensi alel GH(+) (LAGZIEL *et al.*, 2000).

Lokus GH|AluI

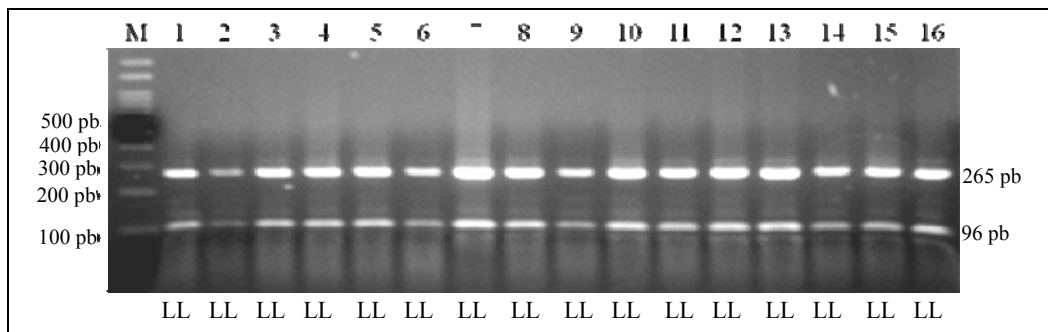
Hasil amplifikasi PCR-RFLP lokus GH|AluI sepanjang 432 pb sesuai dengan pustaka genom (Genbank Nomor Akses J00008; BALOGH *et al.*, 2009). Berdasarkan sekuen DNA ruas gen GH yang diamplifikasi terdapat tiga situs pemotongan AluI, alel leucine (L) ditunjukkan dengan panjang fragmen 20, 51, 96, dan 265 bp, dan alel valine (V) ditunjukkan dengan fragmen 20, 147, dan 265 bp. Hal ini disebabkan adanya perubahan basa pada posisi ke 1758, yaitu dari C menjadi G. (BALOGH *et al.*, 2009). Gambar 2 menunjukkan semua genotipe adalah LL. lokus GH|AluI secara umum bersifat monomorfik dengan frekuensi alel (L) sebesar 1,0.

PEREIRA *et al.* (2005) melaporkan genotipe GH|AluI berpengaruh nyata terhadap bobot sapi Canchim (5/8 Charolais + 3/8 Zebu) umur satu tahun, sedangkan pada sapi Japanese Black berpengaruh terhadap sifat karkas dan komposisi asam lemak (ARDIYANTI *et al.*, 2009).

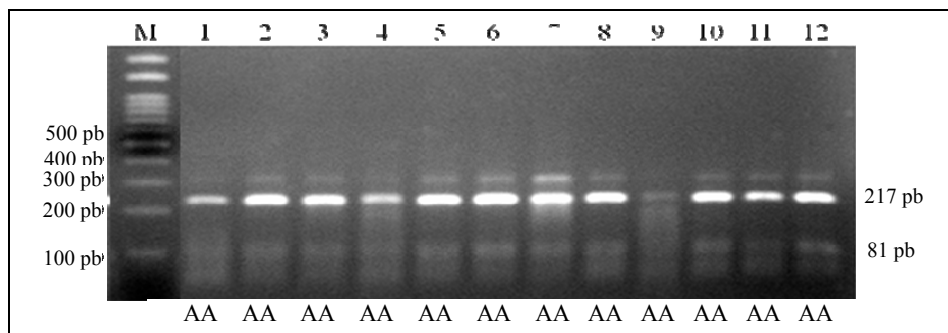
Lokus GHR|AluI

Hasil amplifikasi PCR-RFLP lokus GHR|AluI sepanjang 298 pb pada ekson 10 sesuai dengan pustaka genom (Genbank Nomor Akses AY053546). Alel A ditunjukkan dengan panjang fragmen 81 dan 217 pb, sedangkan alel G ditunjukkan panjang fragmen 298 pb. Hal ini disebabkan adanya mutasi basa pada posisi ke 256, yaitu dari A menjadi G. Perubahan tersebut menyebabkan situs pemotong tidak dikenali oleh enzim AluI (GE *et al.*, 2000; dan DI STASIO *et al.*, 2005). Gambar 3 menunjukkan semua kebau bergenotipe AA. Tabel 2. menunjukkan lokus GHR|AluI bersifat monomorfik karena semua populasi mempunyai alel A (1,0).

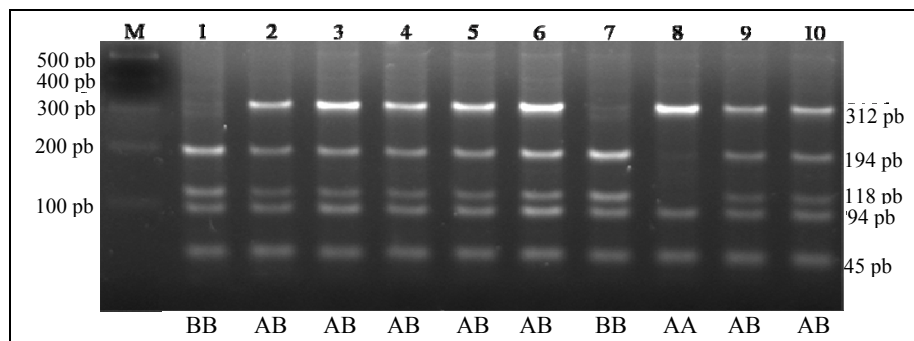
Keragaman gen GHR pada sapi yang telah dilaporkan diantaranya terdapat pada daerah promotor dan ekson 10 (GE *et al.*, 2000). Analisis PCR-RFLP menggunakan NsiI pada daerah regulator GHR sapi berpengaruh terhadap tingkat serum IGF-1 (GE *et al.*, 2000). Keragaman pada GHR sapi ekson 10 berpengaruh terhadap kualitas daging (DI STASIO *et al.*, 2005).



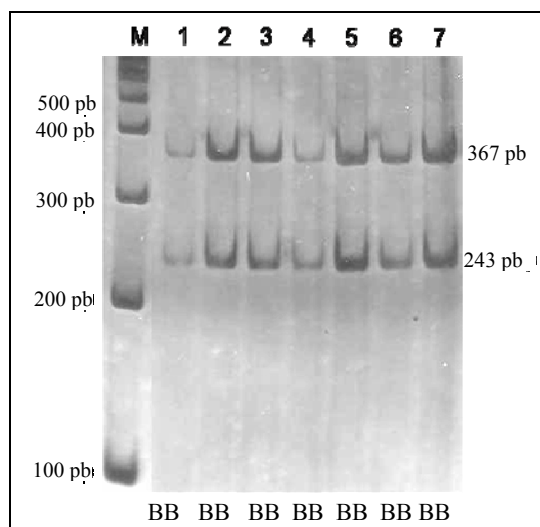
Gambar 2. Pola pita pemotongan lokus GH|AluI bergenotipe LL pada gel agarosa 2%



Gambar 3. Pola pita pemotongan lokus GHR|AluI bergenotipe AA pada gel agarosa 2%



Gambar 4. Pola pita pemotongan lokus *GHRH/HaeIII* pada gel agarosa 2%



Gambar 5. Pola pita pemotongan lokus *Pit-1/HinfI* pada gel poliakrilamid 6%

Lokus *GHRH/HaeIII*

Hasil amplifikasi PCR-RFLP lokus *GHRH/HaeIII* sepanjang 451 pb sesuai dengan pustaka genom (GenBank: AF242855). Alel A dengan panjang fragmen 312, 94 dan 45 pb, sedangkan alel B dengan 4 fragmen panjangnya adalah 118, 194, 94 dan 45 pb. Mutasi terjadi pada intron 2 basa ke 312. Genotipe AA ditunjukkan dengan 3 fragmen 312, 94 dan 45, genotipe BB ditunjukkan dengan adanya empat fragmen yaitu 194, 118, 94 dan 45 pb, dan genotipe AB ditunjukkan dengan adanya lima fragmen 312, 194, 118, 94 dan 45 pb.

Lokus *GHRH/HaeIII* bersifat polimorfik hanya pada populasi Menes dan Cisata di Kabupaten Pandeglang dan Cibadak Kabupaten Lebak dengan frekuensi alel A masing-masing 0,89; 0,70 dan 0,58 (Tabel 2). Penelitian tentang keragaman gen *GHRH* belum banyak dilakukan pada populasi kerbau rawa. Pada populasi kerbau perah Murrah yang termasuk dalam kelompok kerbau sungai (*riverine buffalo*), lokus *GHRH/HaeIII* bersifat monomorfik dengan tidak ditemukannya alel A

(RAJAMURUGAN *et al.*, 2007). Beberapa penelitian mengenai keragaman gen *GHRH* telah dilakukan pada ternak sapi. KMEIC *et al.* (2007) melaporkan keragaman lokus *GHRH/HaeIII* pada sapi perah *Polish Red and White* dengan frekuensi alel A dan B masing-masing 0.28 dan 0.72, serta frekuensi genotipe AA, AB dan BB masing-masing 0.09, 0.38 dan 0.53.

Lokus *Pit-1/HinfI*

Hasil amplifikasi PCR-RFLP lokus *Pit-1/HinfI* sepanjang 611 pb sesuai dengan pustaka genom (gene bank Y 15995 dan AM 490263) JAVANMARD *et al.* (2005), alel A ditunjukkan dengan satu pita 611 pb sedangkan alel B ditunjukkan dengan dua fragmen 367 dan 244 pb. Perbedaan ini diakibatkan adanya mutasi titik G ke A pada ekson 6 tepatnya pada basa ke-357 yang dikenali dengan enzim restriksi *HinfI* pada situs restriksi G*ANTC. Mutasi ini tidak mengakibatkan terjadinya perubahan asam amino (*silent mutation*) (DIERKES *et al.*, 1998). Lokus *Pit-1/HinfI* bersifat monomorfik pada populasi kerbau Banten dan semua

bergenotipe BB. Pada penelitian ini gen Pit-1 pada populasi kerbau di Kabupaten Pandeglang dan Lebak Banten, bersifat monomorfik. Berbeda dengan yang dilaporkan oleh JAVANMARD *et al.* (2005), bahwa pada populasi kerbau di Iran yang merupakan kerbau sungai (tipe perah), frekuensi alel A dan B dilaporkan sebesar 0.15 dan 0.85 serta frekuensi genotipe AA, AB dan BB masing-masing secara berurutan 0.10; 0.10 dan 0.80. Pada bangsa sapi *Bos taurus*, laporan mengenai keragaman gen Pit-1 dilaporkan oleh WOLLARD *et al.* (1994). Frekuensi alel A gen Pit-1 pada sapi bervariasi mulai dari 0.25 (DI STASIO *et al.*, 2002), 0.45 (MOODY *et al.*, 1995), dan 0.53 (RENAVILLE *et al.*, 1997).

Keseimbangan Hardy-Weinberg

Suatu populasi dikatakan dalam keseimbangan Hardy-Weinberg yaitu jika frekuensi genotipe dan frekuensi alel selalu konstan dari generasi ke generasi berikutnya. Hal ini terjadi sebagai penggabungan gamet secara acak dalam populasi yang besar (VASCONCELLOUS *et al.*, 2003). Keseimbangan gen dalam populasi terjadi jika tidak ada seleksi, mutasi, migrasi dan *genetic drift* (FALCONER dan MACKAY (1996). Pada penelitian ini (Tabel 2), menunjukkan bahwa frekuensi alel lokus GH|MspI, GHRH|HaeIII di populasi Menes Kabupaten Pandeglang menyimpang dari keseimbangan Hardy-Weinberg ($P < 0,05$). Populasi Cisata Kabupaten Pandeglang tidak menyimpang dari keseimbangan Hardy-Weinberg, sedangkan populasi lainnya tidak dianalisis karena monomorfik.

Heterosigositas pengamatan (H_o), harapan (H_e) dan polymorphic information conten (PIC)

Nilai heterosigositas pengamatan (H_o) dan heterosigositas harapan (H_e) digunakan untuk menduga keragaman genetik. Heterosigositas harapan (H_e) merupakan penduga keragaman genetik yang tepat pada populasi hewan ternak karena perhitungannya langsung berdasarkan pada frekuensi alel (MOIOLI *et al.*, 2004). Nilai heterosigositas pengamatan (H_o), heterosigositas harapan (H_e) ditunjukkan pada Tabel 3. Nilai H_o dan H_e untuk lokus GH|MspI dan GHRH|Hae III hanya ditemukan pada populasi Menes masing-masing sebesar (0,00 dan 0,29; 0,00 dan 0,20) dan Cisata masing-masing sebesar (0,07 dan 0,07; 0,45 dan 0,42). Perbedaan nilai H_o dan H_e pada lokus GH|MspI dan GHRH|HaeIII pada populasi Menes, mengindikasikan adanya ketidakseimbangan Hardy-Winberg (Tabel 2) pada populasi yang diamati (TOMBASCO *et al.*, 2003). Nilai H_o dan H_e untuk lokus GHRH|Hae III pada populasi Cibadak sebesar (0,48 dan 0,49). Secara keseluruhan nilai heterosigositas pengamatan (H_o) dan nilai heterosigositas harapan (H_e) pada populasi kerbau

di Banten untuk lokus GH|MspI dan GHRH|Hae III masing-masing sebesar (0,01 dan 0,02) dan (0,17 dan 0,23). Hasil penelitian ini jauh lebih rendah dari penelitian DIYONO *et al.* (2010) yang melaporkan H_e untuk lokus GH|MspI sebesar 0,0469 dan untuk lokus GHRH|HaeIII sebesar 0,4908. Hal ini disebabkan perbedaan pengambilan jumlah dan lokasi sampel yang lebih menyebar. Nilai H_o dan H_e untuk lokus GH|AluI, GHR|AluI, dan Pit-1|HinfI pada semua populasi bernilai 0,00 karena bersifat monomorfik.

Nilai polymorphic information conten (Pic) hanya ditemukan pada populasi Menes dan Cisata untuk lokus GH|MspI dan GHRH|Hae III masing-masing sebesar (0,19 dan 0,19) dan (0,06 dan 0,37). Populasi Cibadak untuk lokus GHRH|Hae III mempunyai Pic sebesar 0,43. Secara keseluruhan nilai Pic pada populasi Banten untuk lokus GH|MspI dan GHRH|Hae III masing-masing sebesar 0,02 dan 0,22. Perbedaan keragaman bisa juga disebabkan oleh metode analisis seperti melalui PCR-SSCP (polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism) pada kerbau India ditemukan adanya keragaman pada gen GH (MUHAGHEGH dan GOSWAM, 2006). Deteksi keragaman genetik dengan menggunakan 13 mikrosatelit pada kerbau di Italia, Yunani dan Mesir dengan rata-rata heterosigositas observasi masing-masing sebesar 0,135, 0,151 and 0,158 untuk kerbau Italia, Yunani dan Mesir. telah dilaporkan oleh (MOIOLI *et al.* 2001). Dengan metode yang sama yaitu dengan menggunakan mikrosatelit VAN HOOFT *et al.* (2000) melaporkan keragaman genetik pada kerbau liar Afrika cukup tinggi dengan nilai H_o sebesar 0,729 dan H_e sebesar 0,759.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat keragaman yang sangat rendah pada gen grup hormon pertumbuhan (GH|AluI, GH|MspI, GHR|AluI, GHRH|HaeIII dan Pit-1|HinfI) pada populasi kerbau di Kabupaten Pandeglang dan kabupaten Lebak. Keragaman genetik perlu ditingkatkan melalui (1) kebijakan manajemen perkawinan terutama dalam penyediaan dan perguliran pejantan dari luar populasi. (2) Melakukan seleksi pejantan melalui uji performa dan perguliran pejantan perlu dilakukan untuk menghindari silang dalam Hal ini menguatkan penelitian sebelumnya (SAROJI *et al.*, 2010) terdapat kecenderungan penurunan performa bobot tubuh dan ukuran tubuh dari pejantan lebih kecil dari betinanya.

KESIMPULAN

Lokus GH|MspI dan GHRH|HaeIII bersifat polimorfik, sedangkan lokus GH|AluI, GHR|AluI dan Pit-1|HinfI bersifat monomorfik. Pada lokus GH|AluI hanya ditemukan alel V, GHR|AluI hanya alel A dan pada lokus Pit-1|HinfI hanya ditemukan alel B dengan

Tabel 2. Frekuensi alel dan uji keseimbangan Hardy-Weinberg (χ^2) pada kerbau di Banten

Kabupaten (n)	Kecamatan (n)	GH MspI			GH AluI			GHR AluI			GHRH HaeIII			Pit-1 Hinfi		
		Frek Alel		χ^2	Frek Alel		χ^2	Frek Alel		χ^2	Frek Alel		χ^2	Frek Alel		χ^2
		-	+		L	V		A	G		A	B		A	B	
Pandeglang (174)	Bojong (4)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,00	1,00	td
	Carita (7)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,00	1,00	td
	Cibaliung (71)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,00	1,00	td
	Kadupandak (1)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,00	1,00	td
	Labuan (8)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,00	1,00	td
	Menes (9)	0,11	0,89	9,00*	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,89	0,11	9,00*	0,00	1,00	td
	Pagelaran (19)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,00	1,00	td
	Cisata (44)	0,03	0,97	0,05	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,70	0,30	0,37	0,00	1,00	td
	Panimbang (2)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,00	1,00	td
	Saketi (8)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,00	1,00	td
	Sumur (1)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,00	1,00	td
Lebak (35)	Cibadak (33)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,58	0,42	0,00	0,00	1,00	td
	Warung Gunung (2)	0,00	1,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,00	1,00	td
Total (209)		0,01	0,99	32,24	1,00	0,00	td	1,00	0,00	td	0,87	0,13	13,88	0,00	1,00	td

Keterangan:

$\chi^2_{0,05} = 5,99$

td = tidak dianalisis

Tabel 3. Nilai heterosigositas pengamatan (H_o) dan heterosigositas harapan (H_e)

Kabupaten (n)	Kecamatan (n)	GH MspI			GH AluI			GHR AluI			GHRH HaeIII			PitI Hinfi		
		H_o	H_e	PIC	H_o	H_e	PIC	H_o	H_e	PIC	H_o	H_e	PIC	H_o	H_e	PIC
Pandeglang (174)	Bojong (4)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Carita (7)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Cibaliung (71)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Picung (1)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Labuan (8)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Menes (9)	0,00	0,20	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,19	0,00	0,00	0,00
	Pagelaran (19)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Cisata (44)	0,07	0,07	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,42	0,37	0,00	0,00	0,00
	Panimbang (2)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Saketi (8)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Sumur (1)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Lebak (35)	Cibadak (33)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,48	0,49	0,43	0,00	0,00	0,00
	Warung Gunung (2)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Total (209)		0,01	0,02	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17	0,23	0,22	0,00	0,00	0,00

frekuensi alel masing-masing (1,0). Alel GH(-) pada lokus GH|*MspI* hanya ditemukan di kecamatan Cibarani (0,03) dan Kecamatan Menes (0,11). Alel B pada lokus GHRH|*HaeIII* hanya ditemukan di kecamatan Cibadak (0,42), Cibarani (0,30) dan Menes (0,11) Pada populasi total Banten lokus GH|*MspI* mempunyai keragaman yang rendah ($H_e = 0.02$) dan polymorphic information content ($Pic = 0,02$), sedangkan lokus GHRH|*HaeIII* mempunyai keragaman lebih tinggi ($H_e = 0,23$) dan Pic (0,22)

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kementerian Pertanian RI yang telah mendanai sebagian kegiatan penelitian ini melalui Program KKP3T dgn No. 707/LB.620/I.1/3/2008. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Dinas Peternakan Provinsi Banten yang telah mengizinkan dan membantu dalam pengambilan sampel darah kerbau di kabupaten Lebak dan Pandeglang.

DAFTAR PUSTAKA

- ANDREAS, E., C. SUMANTRI, H. NURAINI, A. FARAJALLAH and A. ANGGRAENI. 2010. Identification of GH|*AluI* and GHR|*AluI* genes polymorphism in Indonesian Buffalo. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 35: 215-221..
- ARDIYANTI, A., Y. OKI, Y. SUDA, K. SUZUKI, K. CHIKUNI, Y. OBARA and K. KATOH. 2009. Effects of GH gene polymorphism and sex on carcass traits and fatty acid compositions in Japanese Black cattle. *Anim. Sci. J.* 80: 62-69.
- BALOGH, O., K. KOVACS, M. KULCSAR, A. GASPARDY, H. FEBEL, A. ZSOLNAI, L. FESUS, C. DELAUAUD, Y. CHILLIARD, R.O. GILBERT and G.Y. HUSZENICZA. 2009. Interrelationship of growth hormone *AluI* polymorphism and hyperketonemia with plasma hormones and metabolites in the beginning of lactation in dairy cows. *Livest. Sci.* 123: 180-186.
- BEAUCHEMIN, V.R., M.G. THOMAS, D.E. FRANKE and G.A. SILVER. 2006. Evaluation of DNA polymorphisms involving growth hormone relative to growth and carcass characteristics in Brahman steers. *Genet. Mol. Res.* 5:438-447.
- BOTSTEIN, D., R.L. WHITE, M. SKOLNICK and R.W. DAVIS. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.
- CHEONG, H.S., D.K. YOON, L.Y. KIM, B.Y. PARK, Y.H. CHOI, E.R. CHUNG, Y.M. CHO, E.W. PARK, I.C. CHEONG, S.J. OH, S.G. YI, T. PARK and H.D. SHIN. 2006. Growth hormone-releasing hormone (GHRH) polymorphisms associated with carcass traits of meat in Korean cattle. *BMC Genet.* 7:35-41.
- COHEN, L.E., F.E. WONDISFORD and S. RADOVICK. 1997. Role of Pit-1 in the gene expression of growth hormone, prolactin, and thyrotropin. *Endocr. Metab. Clin. North Am.* 25: 523-540.
- CURI, R.A., D.A. PALMIERI, L. SUGISAWA, H.N. DE OLIVEIRA, A.C. SILVEIRA and C.R. LOPES. 2006. Growth and carcass traits associated with GH1/*AluI* and POU1F1/*HinfI* gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle. *Genet. Mol. Biol.* 29: 56-61.
- DIERKES, B., KRIEGSMANN, B.G. BAUMGARTNER and B. BREINIG. 1998. Partial genomic structure of the bovine Pit1 gene and characterization of a *HinfI* transition polymorphism in exon 6. *Anim. Genet.* 29: 405-412.
- DIYONO, R., C. SUMANTRI dan A. FARAJALLAH. 2010. Polymorfisme gen GH, GHRH dan Pit1 pada populasi kerbau di Banten. Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional Kerbau. Lebak-Banten, 2-4 November 2010. Puslitbang Peternakan. Bogor. (Abstrak). hlm. 26.
- DI STASIO, L., A. BRUGIAPAGLIA, G. DESTEFANIS, A. ALBERA and S. SARTORE. 2002. GH1 as candidate gene for variability of meat production traits in Piedmontese cattle. *J. Anim. Breed. Genet.* 120:358-361.
- DI STASIO, L., G. DESTEFANIS, A. BRUGIAPAGLIA, A. ALBERA and A. ROLANDO. 2005. Polymorphism of the GHR gene in cattle and relationships with meat production and quality. *Anim. Genet.* 36: 138-140.
- FALAKI, M., N. GENGLER, M. SNEYERS, A. PRANDI, S. MASSARTA, FORMIGONI, A. BURNYD, PORTETELLE and R. RENAUVILLE. 1996. Relationships of polymorphism for growth hormone and growth hormone receptor genes with milk production traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *J. Dairy Sci.* 79: 1446-1453.
- FALCONER, D.S. and T.F.C. MACKAY. 1996. Introduction to Quantitative Genetic. 4th Ed. Essex, England: Longman Group Ltd.
- GE, W., M.E. DAVIS, H.C. HINES and K.M. IRVIN. 2000. Single nucleotide polymorphisms detected in exon 10 of the bovine growth hormone receptor gene. *J. Anim. Sci.* 78: 2229-2230.
- GROCHOWSKA, R., P. SØRENSEN, L. ZWIERZCHOWSKI, M. SNOCHOWSKI and P. LØVENDAHL. 2001. Genetic variation in stimulated GH release and in IGF-I of young dairy cattle and their associations with the leucine/valine polymorphism in the GH gene. *J. Anim. Sci.* 79: 470-476.
- HARTL, D.L. 1988. Principle of Population Genetic. Sunderland: Sinauer Associates, Inc. Publisher.
- HINES, H.C., W. GE, Q. ZHAO and M.E. DAVIS. 1998. Association of genetic markers in growth hormone and insulin-like growth factor I loci with lactation traits in Holstein. *Anim. Genet.* 29: 69-74.
- JAVANMARD, A., N. ASADZADEH, M. HOSSEIN, BANABAZI and J. TAVAKOLIAN. 2005. The allele and genotype frequencies of bovine pituitary specific transcription factor and leptin genes in Iranian cattle and buffalo

- populations using PCR-RFLP. *Iran J. Biotechnol.* 3: 104-108.
- KMIEC, M., I.K. LUCZAK, H. KULIG and A. TERMAN. 2007. Association between GHRH/HaeIII restriction polymorphism and milk production traits in a herd of dairy cattle. *J. Anim. Vet. Adv.* 6: 1298-1303.
- LAGZIEL, A., S. DENISE, O. HANOTTE, S. DHARA, V. GLAZKO, A. BROADHEAD, R. DAVOLI, V. RUSSO and M. SOLLER. 2000. Geographic and breed distribution of an MspI PCR-RFLP in the bovine growth hormone (bGH) gene. *Anim. Genet.* 31: 210-213.
- LECHNIAK, D., G. MACHNIK, M. SZYDLOWSKI and M. SWITONSKI. 1999. Growth hormone gene polymorphism and reproductive performance of AI bulls. *Theriogenology* 52: 1145-1152.
- MAREK, K., I.K. LUCZAK, H. KULIG, A. TERMAN, H. WIERZBICK and A. LEPRZYNSKI, 2007. Associations between GHRH/HaeIII restriction polymorphism and milk production traits in a herd of dairy cattle. *J. Anim. Vet. Adv.* 6: 1298-1303.
- MISRIANTI, R., C. SUMANTRI and A. FARAJALLAH. 2010. Identification polymorphism of pituitary-specific positive transcription factor1 (Pit1) gene in Indonesian local buffalo (*Bubalus bubalis*) and Holstein-Friesian cows. *Media Petern.* 33: 131-136.
- MITRA, A., P. SCHELE, C.R. BALAKRISNAN and F. PIRCHNER. 1995. Polymorphisms at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo. *J. Anim. Breed. Genet.* 112: 71-74.
- MOIOLI, B., A. GEORGIOUDIS, F. NAPOLITANO, G. CATILLO, E. GIUBILEI, C.H. LIGDA and M. HASSANANE. 2001. Genetic diversity between Italian, Greek and Egyptian buffalo populations. *Livest. Prod.. Sci.* 70: 203-211.
- MOIOLI, B., F. NAPOLITANO and G. CATILLO. 2004. Genetic diversity between Peidmontese, Maremmana and Podolica cattle breeds. *J. Hered.* 95: 250-256.
- MOODY, D.E., D. POMP and W. BARENDSE. 1995. Restriction fragment length polymorphisms in amplification product in the bovine growth hormone releasing hormone gene. *J. Anim. Sci.* 73: 3789-3793.
- MUHAGHEGH, M.D. and S.L. GOSWAMI, 2006. Single strand conformation polymorphism (SSCP) in 3' region of growth hormone gene in five breeds of Indian buffalo. *Anim. Sci. Papers Rep.* 24: 159-162.
- NEI, M. and S. KUMAR. 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. New York: Oxford University Press.
- PEREIRA, A.P., M.M. DE ALENCAR, H.N. DE OLIVEIRA and L.C. DE REGITANO. 2005. Association of GH and IGF-1 polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed. *Gen. Mol. Biol.* 28: 230-236.
- RAJAMURUGAN, J., S. KUMAR, O.P. PANDEY, S.M. DEB, A. MITRA and A. SHARMA. 2007. Characterization of growth hormone releasing hormone (GHRH) partial gene in buffalo. *Ind. J. Anim. Sci.* 77: 749-751.
- RENAVILLE, R., N. GENGLER, E. VRECH, A. PRANDI, S. MASSART, C. CORRADINI, C. BERTOZZI, F. MORTIAUX, A. BURNY and D. PORTETELLE. 1997. PIT-1 gene polymorphism milk yield and conformation traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *J. Dairy Sci.* 80: 3431-3438.
- SAMBROOK, J.E.F. FRITSCH and T. MANIATIS. 1989. Molecular Cloning. a Laboratory Manual . Ed ke-2. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SAROJI, R.E. SITOMPUL, JAKARIA dan C. SUMANTRI. 2010. Karakteristik ukuran tubuh kerbau rawa di kabupaten Lebak dan Pandeglang propinsi Banten. Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional Kerbau. Lebak-Banten, 2-4 November 2010. Puslitbang Peternakan. Bogor. (Abstrak). hlm. 18.
- SHERMAN, EL, J.D. NKRUMAH, B.M. MURDOCH, C. LI , Z. WANG, A. FU and S.S. MOORE. 2007. Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 86: 1-16.
- TAMBASCO, D.D., C.C.P. PAZ, M. TAMBASCO-STUDART, A.P. PEREIRA1, M.M. ALENCAR, A.R. FREITAS, L.L. COUTINHO, I.U. PACKER and L.C.A. REGITANO. 2003. Candidate gene for growth traits in beef cattle crosses Bos taurus x Bos indicus. *J. Anim. Breed. Genet.* 120: 51-56.
- TEGELSTROM, H. 1986. Mitochondrial DNA in nature population: An improved routine for screening of genetic variation based on sensitive silver staining. *Electrophoresis* 7: 226-229.
- THOMAS, M.G., R.M. ENNS, K.L. SHIRLEY, M.D. GARCIA, A.J. GARRETT and G.A. SILVER. 2007. Associations of DNA polymorphisms in growth hormone and its transcriptional regulators with growth and carcass traits in two populations of Brangus bulls. *Genet. Mol. Res.* 6: 222-237.
- VAN HOOFT, W.F., A.F. GROEN and H.H.T. PRINS. 2000. Microsatellite analysis of genetic diversity in Africanbuffalo (*Syncerus caffer*) populations throughout Africa. *Mol. Ecol.* 9: 2017-2025.
- VASCONCELLOS, L.P.M.K., D.T. TALHARI, A.P. PEREIRA, L.L. COUTINHO and L.C.A. REGINATO. 2003. Genetic characterization of Aberden Angus cattle using molecular. *Genet. Mol. Biol.* 26: 133-137.
- WOOLLARD, J., C.B. SCHIMTZ, A.E. FREEMAN and C.K. TUGGLE. 1994. Rapid communication: HinfI polymorphisms at the bovine Pit-1 locus. *J. Anim. Sci.* 72: 1911-1916.