

Deteksi polimorfisme gen *growth hormone (GH-MspI)* pada sapi Sumba Ongole (SO)

Detection of growth hormone (GH-MspI) gene polymorphism in Sumba Ongole (SO) cattle

SAIFUL ANWAR^{1*}, PASKAH PARTOGI AGUNG¹, ARI SULISTYO WULANDARI¹, ADITYA SUDIRO²,
SYAHRUDDIN SAID¹, BAHARUDDIN TAPPA¹

¹Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong Science Center, Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong-Bogor 16911, Jawa Barat, Tel. +62-21-8754587, Fax. +62-21-8754588, *email: saiful.anwar@lipi.go.id

²PT. Karya Anugerah Rumpin (KAR), Rumpin, Bogor. Jl. Desa Cibodas No. 99 Cibinong, Rumpin, Bogor, Jawa Barat

Manuscrip diterima: 18 Februari 2015. Revisi disetujui: 24 April 2015.

Abstrak. Anwar S, Agung PP, Wulandari AS, Sudiro A, Said S, Tappa B. 2015. Deteksi polimorfisme gen *growth hormone (GH-MspI)* pada sapi Sumba Ongole (SO). Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 398-403. Deteksi polimorfisme suatu gen penting dilakukan untuk memperoleh informasi awal dalam identifikasi penanda genetik yang berhubungan dengan sifat-sifat ekonomis yang diinginkan. Gen *growth hormone* telah digunakan sebagai kandidat genetik marker yang berhubungan dengan sifat-sifat pertumbuhan pada sapi potong. Sapi Sumba Ongole (SO) (*Bos indicus*) dari Pulau Sumba, Nusa Tenggara Timur, Indonesia memiliki potensi genetik sebagai bangsa sapi potong lokal unggul. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya polimorfisme gen *GH-MspI* pada sapi SO. Polimorfisme gen *GH-MspI* dideteksi menggunakan metode PCR-RFLP dan dilanjutkan dengan analisis sekuening. Referensi sekuen gen *GH-MspI* yang digunakan pada penelitian ini berasal dari GenBank (EF592534). Fragmen spesifik dari Gen *GH-MspI* (1072 pb) telah berhasil diamplifikasi dengan suhu annealing 57°C. Fragmen DNA hasil amplifikasi dipotong menggunakan enzim restriksi *MspI* dan divisualisasi menggunakan gel elektroforesis untuk identifikasi genotipe. Polimorfisme *GH-MspI* terdeteksi dengan ditemukannya tiga varian pola potongan DNA. Analisis *alignment* sekuen berhasil menemukan dua titik mutasi. Mutasi pertama berupa substitusi nukleotida *Thymine* (T) menjadi *Cytosine* (C) di intron 3 (1047T>C) dan mutasi kedua berupa insersi nukleotida C di intron 4 (1395_1396insC). Penemuan titik mutasi pertama dan kedua tersebut membuktikan adanya variasi sekuen gen GH dalam satu bangsa (*within breed*) dan antar bangsa sapi (*between breed*).

Kata kunci: *growth hormone*, PCR-RFLP, polimorfisme, Sumba Ongole, sekuening

Singkatan: DNA: *deoxyribonucleic acid*, GH: *growth hormone*, pb: pasang basa, PCR: *polymerase chain reaction*, PO: Peranakan Ongole, RFLP: *restriction fragment length polymorphism*, SO: Sumba Ongole

Abstract. Anwar S, Agung PP, Wulandari AS, Sudiro A, Said S, Tappa B. 2015. Detection of growth hormone (GH-MspI) gene polymorphism in Sumba Ongole (SO) cattle. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 398-403. Detection of gene polymorphisms was important to get early information in the identification of genetic markers associated with economically desirable traits. Growth hormone gene has been used as candidate genetic marker related to growth traits in beef cattle. Sumba Ongole (SO) cattle (*Bos indicus*) originated from Sumba Island, East Nusa Tenggara, Indonesia which has potential genetic as superior local beef cattle breed. This study was aimed to detect *GH-MspI* gene polymorphism in SO cattle. *GH-MspI* gene polymorphism was detected using PCR-RFLP method and followed by sequencing analysis. Growth hormone gene sequence from GenBank (EF592534) was used as a reference for this study. A specific fragment of GH gene (1072 base pairs) was successfully amplified with the annealing temperature at 57°C. The amplified DNA fragments were digested using *MspI* restriction enzyme and visualized by gel electrophoresis for genotype identification. Polymorphism of *GH-MspI* gene in SO cattle has been detected with the presence of three variants of restriction pattern of DNA. The sequence alignment analysis has been successfully detected in the two point mutations. The first was a nucleotide substitution in the third intron (1047T>C) and the second was a nucleotide insertion in the fourth intron (1395_1396insC). The first and second point mutations were found revealed that there was GH gene sequence variations within and between cattle breed, respectively.

Keywords: *growth hormone*, PCR-RFLP, polymorphism, Sumba Ongole, sequencing

PENDAHULUAN

Penggunaan teknologi genetika molekuler saat ini menjadi bagian penting dalam program peningkatan mutu genetik ternak. Salah satu teknologi genetika molekuler yang populer digunakan adalah *marker assisted selection* (MAS) yaitu metode seleksi ternak berdasarkan informasi

data fenotipe yang dikombinasikan dengan penanda (*marker*) genetik. Penggunaan penanda genetik dalam seleksi ternak mampu meningkatkan respons seleksi dan mengurangi tingkat *inbreeding* dibanding tanpa menggunakan penanda genetik (Meuwissen dan Goddard 1996; Dekkers 2007) karena penggunaan penanda genetik memungkinkan

pendeksi potensi genetik hingga level DNA dalam hubungannya dengan sifat fenotipe yang bernilai ekonomis.

Growth hormone (GH) merupakan suatu hormon protein yang disintesis dan disekresikan oleh kelenjar hipofisis bagian anterior (Etherton dan Bauman 1998). *Growth hormone* menjadi bagian dari *somatotropic axis* yang berperan penting dalam pengaturan metabolisme dan fisiologi pertumbuhan mamalia (Curi et al. 2006). Fenomena peran GH dalam pertumbuhan telah dibuktikan dengan adanya peningkatan laju pertumbuhan dan komposisi karkas setelah dilakukan pemberian GH eksogenus pada ternak (Etherton dan Bauman 1998). Gen penyandi GH pada sapi ditemukan di kromosom 19 pada posisi 19q26qter (Hediger et al. 1990). Terkait dengan fungsi tersebut, gen GH digunakan sebagai salah satu kandidat kuat marker genetik untuk sifat pertumbuhan (Silveira et al. 2008) dan karkas (Ribeca et al. 2014). Kedua sifat tersebut merupakan aspek yang paling diperhatikan dalam peningkatan mutu genetik ternak potong.

Sapi Sumba Ongole (SO) merupakan satu dari beberapa *breed* sapi potong lokal Indonesia. Keberadaan sapi SO di Indonesia sudah ada sejak dilakukan impor sapi Ongole dari India oleh pemerintah Hindia Belanda pada tahun 1905 yang diempatkan di Sumba Timur, Nusa Tenggara Timur (NTT). Ternyata sapi Ongole tersebut mampu berkembang dan beradaptasi dengan baik, sehingga Sumba ditetapkan sebagai wilayah sumber bibit sapi Ongole yang kemudian dikenal sebagai sapi Sumba Ongole (Hardjosubroto 2004).

Sapi SO diketahui merupakan tetua terbentuknya sapi PO sejak dilakukannya program “Ongolisasi” di Pulau Jawa pada Tahun 1925-1929 (Hardjosubroto 2004). Sapi SO dilaporkan mempunyai pertambahan bobot badan (PBBH) mencapai 1,18 kg per hari, persentase karkas lebih dari 50% dan produksi daging mencapai 77% (Ngadiyono, 1995). Laporan tersebut memberikan gambaran bahwa SO berpotensi digunakan sebagai bangsa sapi potong lokal unggul. Namun, referensi mengenai potensi sapi SO masih terbatas, sehingga masih perlu digali lebih lanjut secara ilmiah.

Salah satu cara menggali potensi sapi SO adalah melalui deteksi polimorfisme dari gen-gen pengendali sifat-sifat pertumbuhan dan karkas pada sapi SO. Data polimorfisme yang diperoleh dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam pelestarian dan pemanfaatan genetik sapi SO sebagai bangsa sapi potong lokal unggul. Studi polimorfisme gen GH pada beberapa sapi lokal Indonesia sudah dilaporkan seperti pada sapi Pesisir Sumatera Barat (Jakaria et al. 2007), sapi Bali (Jakaria dan Noor 2011), sapi Madura (Hartatik et al. 2013), sapi Peranakan Ongole (PO) (Paputungan et al. 2013) dan sapi Aceh (Putra et al. 2013). Hasil studi Paputungan et al. (2013) pada sapi PO, memberikan gambaran tentang kemungkinan penggunaan gen GH sebagai kandidat penanda genetik sifat pertumbuhan pada sapi potong dimana individu yang memiliki genotipe heterozigot *MspI*^{+/−} terkait dengan hasil bobot badan, lingkar dada dan panjang badan yang lebih tinggi dibanding genotipe homozigot *MspI*⁺⁺ maupun *MspI*^{−−}. Deteksi polimorfisme gen GH belum dilakukan pada sapi SO. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan deteksi polimorfisme gen GH pada sapi SO.

BAHAN DAN METODE

Sampel darah dan isolasi DNA

Sampel darah diperoleh dari 65 ekor sapi Sumba Ongole dewasa (18 jantan dan 47 betina). Pengambilan darah melalui *vena coccigea* sebanyak ±6-9 ml per ekor ke dalam tabung vaccutainer yang sudah berisi antikoagulan (K₃EDTA). Sapi yang digunakan merupakan milik PT. Karya Anugerah Rumpin (KAR), Rumpin, Bogor. Isolasi DNA dari sampel darah dilakukan menggunakan Genomic DNA mini kit (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan) dan dilakukan sesuai prosedur dalam kit tersebut.

Amplifikasi fragmen gen GH-*MspI*

Fragmen gen GH-*MspI* berukuran 1072 pb diamplifikasi menggunakan sepasang primer sepanjang 20 basa, yaitu primer *forward*: 5'-CAAAGAGTTGTAAGCTCCC-3' dan *reverse*: 5'-TCCTCAAGCAGACCTATGAC-3'. Sekuen primer tersebut didesain berdasarkan informasi data sekuen gen GH dari National Center for Biotechnology Information (NCBI) dengan nomor akses GenBank EF592534. Amplifikasi dilakukan menggunakan mesin PCR *Mastercycler gradient* (Eppendorf). Reaksi PCR terdiri dari campuran 4,5 µL PCR kit KAPA2G Robust HotStart ReadyMix (KAPA Biosystem Inc., USA), 0,9 µL tiap primer (*forward* dan *reverse*), 1 µL sampel DNA (± 6 ng/µL), dan 4,7 µL ddH₂O. Program mesin PCR diatur dalam tiga tahap siklus. Tahap pertama, satu kali siklus pra-denaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit; tahap kedua dengan 35 kali siklus yang meliputi denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, annealing pada suhu 57°C selama 45 detik dan ekstensi awal dengan suhu 72°C selama 45 detik. Siklus amplifikasi diakhiri pada tahap ketiga dengan satu kali siklus ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit. Produk PCR selanjutnya dielektroforesis dengan medium separasi gel agarose 1% yang direndam dalam buffer 1x TBE (*Tris borate EDTA*) pada tegangan 180 volt selama 60 menit. Pita yang terbentuk dalam gel divisualisasi menggunakan GBOX *Gel Documentation System* (Syngene, UK) yang sebelumnya direndam dalam larutan *Ethidium bromide* (EtBr).

Deteksi polimorfisme gen GH-*MspI*

Deteksi polimorfisme dilakukan menggunakan metode PCR-RFLP. Produk hasil amplifikasi dipotong menggunakan enzim restriksi *MspI* (Biolabs Inc., New England) dengan situs pemotongan C↓CGG. Proses pemotongan DNA dijalankan dalam campuran 4,2 µL produk PCR; 1,82 µL ddH₂O; 0,7 µL 10x NE buffer; dan 0,28 µL enzim restriksi *MspI* pada suhu inkubasi 37°C selama satu jam. Produk hasil pemotongan dielektroforesis dengan medium separasi gel agarose 3% yang direndam dalam buffer 1x TBE pada tegangan 180 volt selama 80 menit. Visualisasi hasil elektroforesis dilakukan seperti pada proses amplifikasi DNA.

Identifikasi genotipe setiap sampel ditentukan berdasarkan ukuran dan pola potongan pita. Ukuran panjang pita diketahui dengan melihat posisi pita dibandingkan dengan marker (DNA ladder) 100 pb (Biolabs Inc., New England) yang juga disertakan pada proses elektroforesis.

Sekuensing DNA

Dua sampel produk PCR dipilih mewakili seluruh sampel yang diketahui memiliki pola potongan pita yang berbeda (alel A dan B) untuk disekuensing. Sekuensing dilakukan melalui jasa perusahaan Macrogen, Korea. Hasil sekuensing diperoleh dalam bentuk kromatogram. Analisis penyejajaran (*alignment*) menggunakan bantuan program aplikasi Bioedit *sequence alignment editor* dan MEGA6 dengan metode *clustalW* terhadap sekuen gen GH-*MspI* sapi SO dan sekuen gen GH sapi Kenana (GenBank: EF592534).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi fragmen gen GH-*MspI*

Amplifikasi fragmen gen GH-*MspI* sepanjang 1072 pb berhasil dilakukan dengan suhu optimal *annealing* 57°C selama 45 detik. Berdasarkan peruntutan dari sekuen gen GH sapi Kenana (GenBank: EF592534), fragmen tersebut terletak di posisi 621 pb sampai 1692 pb yang merentang mulai dari sebagian ekson 2 hingga sebagian ekson 5. Diagram representasi posisi sekuen gen GH-*MspI* ditampilkan pada Gambar 1. Hasil visualisasi gen GH-*MspI* yang berhasil diamplifikasi ditampilkan pada Gambar 2.

Deteksi polimorfisme gen GH-*MspI*

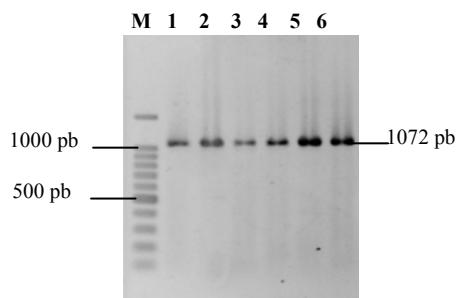
Hasil visualisasi menunjukkan terdapat tiga pola potongan pita. Pola potongan pita pertama, kedua dan ketiga berturut-turut diberi simbol genotipe AA (4 pita), BB (5 pita) dan AB (6 pita) (Tabel 1). Hasil visualisasi dari ketiga genotipe tersebut ditampilkan pada Gambar 3.

Sekuensing fragmen gen GH-*MspI*

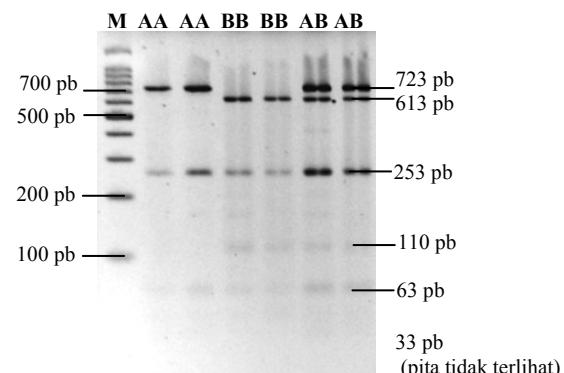
Sebanyak dua sampel yang diketahui memiliki pola potongan pita yang berbeda (alel A dan B) dilakukan sekuensing. Panjang sekuen gen GH-*MspI* yang berhasil dibaca sepanjang 708 dan 636 pb berturut-turut untuk sampel alel A dan B. Diagram representasi hasil *alignment* sekuen gen GH-*MspI* sampel Alel A dan B dengan sekuen gen GH pada sapi Kenana (GenBank: EF592534) ditampilkan pada Gambar 4.

Pada penelitian ini ditemukan dua titik mutasi. Mutasi pertama terjadi pada fragmen sampel alel B, yaitu di daerah intron 3 tepatnya pada posisi nukleotida ke-1047 berupa

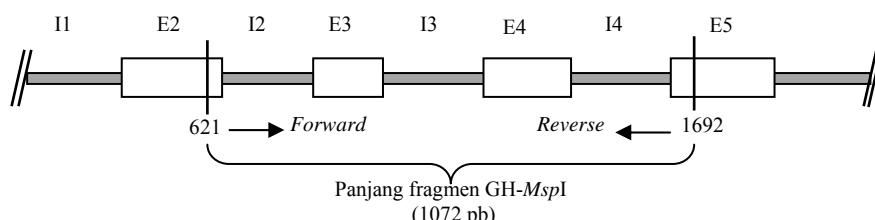
substitusi (transisi) nukleotida T menjadi C (1047T>C). Posisi tersebut pada fragmen sampel alel A tidak terjadi mutasi. Mutasi kedua berupa insersi nukleotida C di daerah intron 4 tepatnya di antara posisi nukleotida ke-1395 dan 1396 pada fragmen sampel alel A dan B (1395_1396insC).



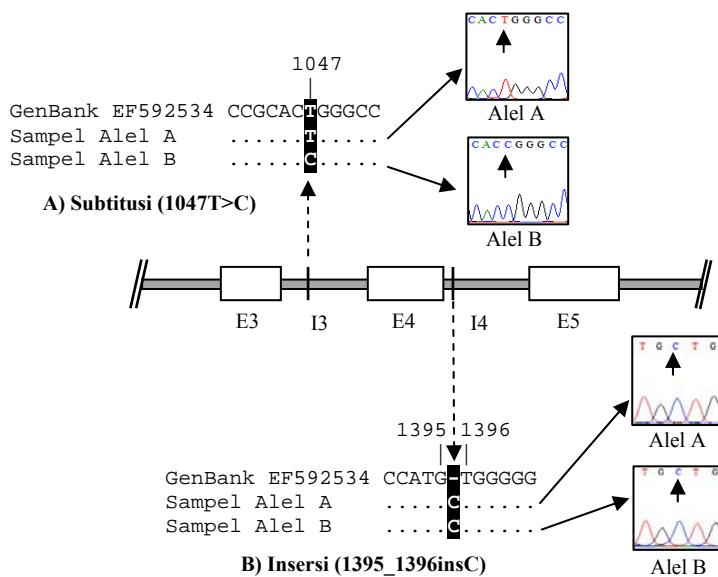
Gambar 2. Visualisasi produk PCR gen GH-*MspI* sepanjang 1072 pb pada suhu *annealing* 57°C selama 45 detik dengan gel agarose 1%. Lajur M: marker 100 pb; lajur 1,2,3,4,5,6: nomor sampel



Gambar 3. Visualisasi tiga bentuk genotipe gen GH-*MspI* sapi SO menggunakan medium separasi gel agarose 3%. Lajur M: marker 100 pb; lajur AA, BB, AB: pola potongan pita (genotipe). Ukuran pasti dari pita tersebut ditentukan dengan melihat panjang fragmen-fragmen yang terbentuk akibat pemotongan oleh enzim restriksi *MspI* pada data sekuen gen GH dari GenBank maupun dari sampel DNA sapi SO hasil sekuensing sepanjang 1072 pb, kemudian dibandingkan dengan posisi pita pada gel. Pita berukuran 33 pb tidak terlihat jelas pada gel



Gambar 1. Diagram representasi posisi sekuen gen GH-*MspI* (GenBank: EF592534). I1, I2, I3, I4: daerah intron; E2, E3, E4, E5: daerah ekson. Tanda panah menunjukkan posisi (*forward* dan *reverse*) mengawali proses amplifikasi



Gambar 4. Diagram representasi hasil *alignment* sekuen sampel alel A dan B gen GH-MspI sapi SO dengan sekuen gen GH dari Genbank (EF592534). A) Subtitusi (1047T>C) ditemukan pada sampel alel B; B) Insersi (1395_1396insC) ditemukan pada sampel alel A dan B. Tanda titik (.) pada baris sampel Alel A dan B menunjukkan runutan nukleotida yang sama dengan baris GenBank EF592534. Bukti nukleotida yang mengalami mutasi ditunjukkan pada kromatogram

Tabel 1. Tiga genotipe gen GH-MspI sapi SO

Enzim restriksi	Genotipe	Jumlah potongan pita	Ukuran fragmen (pb)
<i>MspI</i>	AA	4	723, 253, 63, 33
	BB	5	613, 253, 110, 63, 33
	AB	6	723, 613, 253, 110, 63, 33

Tabel 2. Hasil deteksi polimorfisme fragmen spesifik dari gen GH pada beberapa bangsa sapi lokal Indonesia menggunakan metode PCR-RFLP dengan enzim restriksi *MspI*

Ukuran fragmen (pb)	Posisi	Enzim restriksi sapi	Bangsa	Hasil deteksi polimorfisme	Referensi
1072	Sebagian ekson 2 hingga sebagian ekson 5	<i>MspI</i>	SO	Terdeteksi	Hasil penelitian ini
329	Intron 3	<i>MspI</i>	Grati	Terdeteksi	Maylinda (2011)
327	Intron 3 hingga ekson 4	<i>MspI</i>	Pesisir Sumatera Barat	Terdeteksi	Jakaria et al. (2007)
327	Intron 3	<i>MspI</i>	PO	Terdeteksi	Paputungan et al. (2013)
327	Sebagian ekson 3 hingga sebagian ekson 4	<i>MspI</i>	Aceh (Banda Aceh)	Tidak	Putra et al. (2013)

Pembahasan

Referensi sekuen gen GH yang digunakan pada penelitian ini adalah dari bangsa sapi Kenana yang sudah didaftarkan di GenBank dengan nomor akses EF592534. Pertimbangan penggunaan sekuen tersebut karena sapi Kenana masih dalam satu spesies yang sama dengan sapi SO (*Bos indicus*) dan memiliki sekuen paling lengkap di antara sekuen bangsa sapi *Bos indicus* yang lain yang terdapat dalam GenBank. Ukuran fragmen gen GH-MspI yang diambil dan dilakukan amplifikasi (PCR) adalah sepanjang 1072 pb dari 2061 pb sekuen gen GH sapi Kenana (GenBank: EF592534). Amplifikasi fragmen gen GH target telah berhasil dilakukan dengan suhu optimum annealing 57°C selama 45 detik. Keberhasilan PCR secara umum ditentukan oleh bahan dan konsentrasi pereaksi yang digunakan serta kondisi program PCR yang dijalankan. Akan tetapi ketepatan lama dan suhu annealing menjadi bagian yang penting untuk diperhatikan. Lama dan suhu annealing yang tidak tepat pada saat proses PCR, dapat menyebabkan tidak munculnya pita (produk PCR) target atau kemungkinan muncul tetapi juga muncul produk lain yang bukan target (Roux 2009).

Polimorfisme gen GH-MspI sapi SO pada penelitian ini berhasil terdeteksi dengan ditemukannya tiga pola potongan pita yang berbeda (genotipe AA, AB dan BB). Masing-masing pola potongan pita merupakan bentuk gabungan dari dua bentuk alel (A dan B). Alel A terdiri dari 4 potongan pita sedangkan alel B terdiri dari 5 pita. Kombinasi kedua alel tersebut menyusun genotipe AA (4 pita), AB (6 pita) dan BB (5 pita). Banyaknya potongan pita yang terbentuk tergantung pada banyaknya situs potong enzim restriksi dalam sekuen gen GH yang

digunakan. Selain dari hasil penelitian ini, beberapa penelitian sebelumnya telah memperlihatkan hasil deteksi polimorfisme fragmen spesifik dari gen GH pada beberapa bangsa sapi lokal Indonesia menggunakan metode PCR-RFLP dengan enzim restriksi *MspI* (Tabel 2). Berdasarkan Tabel 2 tersebut, dapat dilihat bahwa ukuran dan posisi fragmen gen target, jenis enzim restriksi yang digunakan dan bangsa sapi menjadi faktor penentu hasil deteksi polimorfisme gen menggunakan metode PCR-RFLP.

Hasil deteksi polimorfisme menggunakan metode PCR-RFLP selanjutnya dikonfirmasi dengan analisis sekuening untuk menemukan situs potong enzim *MspI* dalam runutan DNA. Berdasarkan hasil analisis sekuening, kejadian mutasi ditemukan pada fragmen sampel alel B, yaitu di daerah intron 3 pada nukleotida ke-1047 (1047T>C). Mutasi inilah yang menjadi tanda adanya polimorfisme pada gen GH-*MspI* dalam satu populasi sapi SO. Keberadaan mutasi di intron 3 juga ditemukan pada beberapa bangsa sapi *Bos indicus* seperti sapi Aceh (Putra et al, 2013), sapi Kenana dan Butana (Musa et al, 2013). Mutasi lain yang ditemukan adalah di daerah intron 4 di antara nukleotida ke-1395 dan 1396 berupa insersi nukleotida C pada kedua sampel alel (A dan B), sedangkan pada sekuen GH sapi Kenana tidak terdapat nukleotida C. Penelitian ini membuktikan bahwa polimorfisme gen dapat terjadi pada populasi sapi dalam satu bangsa (*within breed*) dan antar bangsa (*between breed*). Studi yang dilakukan oleh Lagziel et al. (2000), Jakaria dan Noor (2011) dan Hartatik et al. (2013) memperlihatkan bahwa distribusi geografis, sistem perkawinan dan seleksi (alam maupun buatan) dapat mempengaruhi kejadian polimorfisme gen.

Berdasarkan hasil penelitian ini, deteksi polimorfisme gen GH dapat dilakukan dengan melihat variasi pola potongan pita melalui metode PCR-RFLP maupun kejadian mutasi DNA melalui analisis sekuening. Analisis sekuening DNA dapat dimanfaatkan untuk mengungkap dan mengkonfirmasi lebih detail kejadian mutasi terhadap penemuan polimorfisme pada metode PCR-RFLP. Harapannya metode PCR-RFLP dapat digunakan sebagai penanda genetik yang valid dan lebih murah karena setelah terbukti terdapat titik mutasi melalui analisis sekuening, metode tersebut dapat langsung digunakan untuk menseleksi individu sapi SO tanpa melakukan sekuening ulang. Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan alel tertentu terhadap sifat pertumbuhan pada sapi (Pereira et al. 2005; Maylinda 2011; Paputungan et al. 2013). Meskipun demikian, perlu dilakukan studi validasi penanda genetik dengan sampel DNA dan koleksi data fenotipe populasi sapi dalam jumlah yang besar dan terorganisir dengan baik untuk mendapatkan validasi yang sangat akurat (Van Eenennaam et al. 2007).

Kesimpulan penelitian ini adalah gen GH-*MspI* pada sapi SO terdeteksi terdapat polimorfisme dengan ditemukannya tiga pola potongan pita yang berbeda. Dua titik mutasi yang telah ditemukan membuktikan adanya variasi sekuen gen GH sebagai bentuk polimorfisme dalam satu bangsa sapi SO maupun antar bangsa (SO dan Kenana).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan salah satu bagian dari proyek Meat-Milk Pro yang didanai oleh DIPA Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI Tahun Anggaran 2014. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Lusiana dan Wike Andre Septian atas bantuan teknis selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Curi RA, Palmieri DA, Sugisawa L, de Oliveira HN, Silveira AC, Lopes CR. 2006. Growth and carcass traits associated with GH1/*Alu* I and POU1F1/*Hinf* I gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle. Genet Mol Biol 29 (1): 56-61.
- Dekkers JCM. 2007. Marker-assisted selection for commercial crossbred performance. J Anim Sci 85: 2104-2114.
- Etehrton TD, Bauman DE. 1998. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. Physiol Rev 78 (3): 745-761.
- Hardjosubroto W. 2004. Alternatif kebijakan pengelolaan berkelanjutan sumberdaya genetik sapi potong lokal dalam sistem perbibitan ternak nasional. Wartazoa 14 (3): 93-97.
- Hartatik T, Volkandari SD, Rachmana MP, Sumadi. 2013. Polymorphism leu/val of growth hormone gene identified from Limousin cross local cattle in Indonesia. The 3rd International Conference on Sustainable Future for Human Security SUSTAIN 2012. Procedia Environ Sci 17: 105-108.
- Hediger R, Johnson SE, Barendse W, Drinkwater RE, Moore SS, Hetzel J. 1990. Assignment of the GH gene locus to 19q26qter in cattle and to 11q25qter in sheep by *in situ* hybridization. Genomics 8: 171-174.
- Jakaria, Duryadi D, Noor RR, Tappa B, Martojo H. 2007. Hubungan polimorfisme gen hormon pertumbuhan *MspI* dengan bobot badan dan ukuran tubuh sapi Pesisir Sumatera Barat. J Indon Trop Anim Agric 32 (1): 33-40.
- Jakaria, Noor RR. 2011. Analysis on *Alu*-I growth hormone (GH^{*Alu*-I}) gene in Bali cattle. J Indon Trop Anim Agric 36 (2): 77-82.
- Lagziel A, DeNise S, Hanotte O, Dhara S, Galzko V, Broadhead A, Davoli R, Russo V, Soller M. 2000. Geographic and breed distribution of an *MspI* PCR-RFLP in the bovine growth hormone (bGH) gene. Anim Genet 31: 210-213.
- Maylinda S. 2011. Genetic polymorphism of growth hormone locus and its association with bodyweight in Grati dairy cows. Int J Biotechnol Mol Biol Res 2 (7): 117-120.
- Meuwissen THE, Goddard ME. 1996. The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. Genet Sel Evol 28: 161-176.
- Musa LMA, Reissmann M, Ishag IA, Rahamtalla SA, Brockmann G, Peters JK. 2013. Characterization of the growth hormone gene (GH1) in Sudanese Kenana and Butana cattle breeds. J Anim Prod Adv 3 (2): 28-34.
- Ngadiyono N. 1995. Pertumbuhan serta Sifat-Sifat Karkas dan Daging Sapi Sumba Ongole, Brahman Cross dan Australian Commercial Cross yang Dipelihara secara Intensif pada berbagai Bobot Potong. [Dissertasi]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Paputungan U, Hakim L, Ciptadi G, Lapian HNF. 2013. Polymorphism of growth hormone *MspI* enzyme-restriction associated with production performance of Ongole-Crossbred cattle mated by artificial insemination technique. J Basic Appl Sci Res 3 (6): 581-589.
- Pereira AP, de Alencar MM, de Oliveira HN, de Almeida Regitano LC. 2005. Association of GH and IGF-1 polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed. Genet Mol Biol 28 (2): 230-236.
- Putra WPB, Hartatik T, Sumadi. 2013. Growth hormone gene genotyping by *MspI* restriction enzyme and PCR-RFLP methods in Aceh cattle breed at Indrapuri district of Aceh province. J Indon Trop Anim Agric 38 (4): 207-211.
- Ribeca C, Bonfatti V, Cecchinato A, Albera A, Gallo L, Carnier P. 2014. Effect of polymorphisms in candidate genes on carcass and meat quality traits in double muscled Piemontese cattle. Meat Sci 96: 1376-1383.
- Roux KH. 2009. Optimization and troubleshooting in PCR. Cold Spring Harb Protoc 4 (1): 1-6.
- Silveira LGG, Furlan LR, Curi RA, Ferraz ALJ, de Alencar MM, Regitano LCA, Martins CL, de Beni Arrigoni M, Sugisawa L, Silveira AC, de Oliveira HN. 2008. Growth hormone 1 gene (GH1)

polymorphisms as possible markers of the production potential of beef cattle using the Brazilian Canchim breed as a model. *Genet Mol Biol* 31 (4): 874-879.

Van Eenennaam AL, Li J, Thallman RM, Quaas RL, Dikeman ME, Gill CA, Franke DE, Thomas MG. 2007. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. *J Anim Sci* 85: 891-900.