

POLIMORFISME GEN *GROWTH HORMONE* (GH) PADA SAPI LIMURA
***GROWTH HORMONE* (GH) GENE POLYMORPHISM OF LIMURA CATTLE**

Slamet Diah Volkandari*, Tety Hartatik, dan Sumadi

Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna No. 3, Bulaksumur, Yogyakarta, 55281

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui polimorfisme gen *Growth Hormone* pada sapi Limura. Penelitian dilakukan pada peternak rakyat di desa Lancar, Montok, dan Duko, Kecamatan Larangan, Kabupaten Pamekasan, Provinsi Jawa Timur dan Laboratorium Pemuliaan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada pada bulan April 2012. Sampel yang digunakan sebanyak 35 ekor sapi Limura dan 10 ekor sapi Madura (kontrol). Sampel darah diambil dan digunakan untuk analisis DNA yang meliputi isolasi DNA dengan metode SDS-PK modifikasi, amplifikasi DNA dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dan *genotyping* dengan metode *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). Identifikasi polimorfisme gen GH dilakukan dengan digesti fragmen DNA spesifik berukuran 211 bp yang merentang dari intron keempat (49 bp) ke *exon* kelima (162 bp) menggunakan enzim restriksi *AluI*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa gen GH sapi Madura tidak ditemukan polimorfik dengan frekuensi alel L sebesar 1,00 dan alel V sebesar 0,00 sehingga diperoleh genotip LL sebesar 1,00. Frekuensi alel L dan V sapi Limura berturut-turut 0,91 dan 0,09. Sapi Limura ditemukan polimorfisme dengan genotip LL sebesar 0,83 dan LV 0,17. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa polimorfisme gen GH ditemukan pada populasi sapi Limura dengan frekuensi alel L lebih besar dibandingkan alel V. Populasi sapi Limura dalam keadaan keseimbangan genetik *Hardy-Weinberg*.

(Kata kunci: Gen *Growth Hormone*, Polimorfisme, Sapi Limura)

ABSTRACT

*The research was conducted to identify Growth Hormone (GH) polymorphism of Limura cattle. The research was conducted in the smallholder at Lancar, Montok and Duko village, Larangan subdistrict in Pamekasan district, East Java Province and Animal Breeding Laboratory of Faculty of Animal Science, Gadjah Mada University in April 2012. The research used 35 Limura calves and 10 Madura calves (as control). Blood samples for DNA molecular analysis, i.e. DNA isolation with SDS-PK modification method, DNA amplification with PCR method and genotyping with RFLP method. Identification of GH gene polymorphism was conducted by digesting the DNA fragment of 211 bp extended from the fourth intron region (49 bp) to fifth of exon (162 bp) by *AluI* enzyme. The result indicated that GH gene of Madura cattle was not polymorphic with frequencies of L allele 1.00 and V allele 0.00. The LL genotype of Madura cattle was 1.00. Frequencies of L and V allele in Limura cattle were 0.91 and 0.09, respectively. Limura cattle indicated polymorphic with genotype LL 0.83 and LV 0.17. As a results, GH gene polymorphism was found in Limura cattle with L allele frequencies higher than V allele. Limura cattles population were not deviated from Hardy-Weinberg equilibrium genetic condition.*

(Key words: *Growth Hormone Gene, Limura Cattle, Polymorphism*)

Pendahuluan

Indonesia merupakan suatu negara dengan keanekaragaman hayati sangat tinggi (*mega-biodiversity*), salah satunya adalah kekayaan sumber daya genetik sapi. Berbagai macam bangsa sapi hidup dan tersebar di Indonesia, baik bangsa sapi lokal maupun sapi silangan. Salah satu sapi lokal Indonesia yang cukup banyak dikenal adalah sapi Madura yang merupakan silangan antara Bos banteng liar dan sapi Jawa (*Javanese cattle*). Sapi Madura merupakan sapi lokal Indonesia yang telah menunjukkan bentuk yang seragam. Nijman *et al.* (2003) melaporkan bahwa *Deoxyribonuclease*

acid (DNA) sapi Madura mempunyai campuran antara sapi Zebu dan Banteng. Beberapa wilayah di Pulau Madura gencar menyilangkan sapi lokal dengan sapi Limousin melalui metode Inseminasi Buatan (IB). Hasil perkawinan melalui IB menggunakan pejantan sapi Limousin dan induk sapi Madura dihasilkan keturunan yang dikenal dengan nama sapi Limura. Menurut catatan Dinas Peternakan Kabupaten Pamekasan tahun 2010 dan 2011, populasi sapi Limura secara berturut-turut 7.272 ekor dan 7.609 ekor sedangkan populasi sapi Madura mencapai 117.508 ekor dan 119.905 ekor. Persentase pertumbuhan sapi Limura per tahun mencapai 2,26% dan sapi Madura mencapai 1% (Anonimus, 2011). Sapi Limura memiliki karakteristik eksterior yang menyerupai sapi Limousin dan Madura atau perpaduan antara ciri-ciri kedua sapi tersebut. Pertumbuhan dan kinerja

* Korespondensi (*corresponding author*):
Telp. +62 856 4335 4820
E-mail: ipoel_1287@yahoo.com

sapi Limura merupakan perpaduan dari sapi Limousin dan Madura.

Pertumbuhan pada sapi dikendalikan oleh sistem yang kompleks, dimana *somatotropic axis* mempunyai peranan penting. Gen-gen yang menjalankan *somatotropic axis* bertanggungjawab terhadap pertumbuhan *postnatal*, terutama GH yang beraksi terhadap pertumbuhan tulang dan otot yang dimediasi oleh IGF-1 (Sellier, 2000). Protein GH adalah rantai tunggal polipeptida yang terdiri dari 191 deretan asam amino dan disintesis serta disekresi oleh kelenjar anterior pituitari di bawah kontrol *hypothalamic* pada dua hormon (GHRH dan SRIF). *GH-releasing hormone* (GHRH), meningkatkan sekresi GH dan *somatotropin release-inhibiting factor* (SRIF atau juga dikenal sebagai somatostatin) yang menghambat sekresi GH (Nicoll *et al.*, 1986 *cit.* Silveira *et al.*, 2008). *Growth Hormone* berperan dalam regulasi pertumbuhan *postnatal*, stimulasi proses anabolisme seperti pertumbuhan tulang dan sintesis protein (Goodman, 1993 *cit.* Silveira *et al.*, 2008).

Gen GH terletak pada posisi 19q26qter pada kromosom sapi (Hediger *et al.*, 1990) dengan 5 *exon* dan 4 *intron*. Titik mutasi terletak pada posisi 2141 (*transverse*: sitosin ke guanin), dideteksi oleh restriksi endonuklease *AluI* dan memberi perubahan dari leusin (L) ke valin (V) pada urutan asam amino di posisi 127 rantai protein GH sapi.

Penelitian sebelumnya tentang analisis genotip gen GH pada sapi Madura diperoleh hasil bahwa sapi Madura mempunyai genotip 100% LL atau monomorfisme (Hartatik *et al.*, 2010; Rachman, 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui polimorfisme gen GH pada sapi persilangan Limousin x Madura (sapi Limura).

Materi dan Metode

Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian ini dilakukan pada peternakan rakyat di tiga desa yang terletak berdekatan di Kecamatan Larangan, Kabupaten Pamekasan, Jawa Timur yaitu Desa Montok, Duko Timur, dan Lancar. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2012.

Sampel dan ekstraksi DNA

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah sapi Limura sebanyak 35 ekor dan sapi Madura sebanyak 10 ekor (sebagai kontrol). Sampel ternak yang digunakan dalam penelitian merupakan milik peternak yang dipelihara secara tradisional dan terletak dalam tiga desa yang berdekatan. Hal tersebut bertujuan untuk meminimalisir error yang timbul dan mempermudah penanganan sampel. Sampel darah diambil pada setiap sampel ternak dari vena jugularis

dan ditampung dalam tabung yang mengandung K₃EDTA. Metode ekstraksi DNA menggunakan metode Sambrook *et al.* (1989) yang telah dimodifikasi.

Amplifikasi DNA dengan metode PCR

Amplifikasi fragmen DNA spesifik dari gen GH sapi Limura berukuran 211 bp (merentang dari *intron* 4 sepanjang 49 bp sampai *exon* 5 sepanjang 162 bp) dilakukan menggunakan sepasang primer, *GH-forward*: 5'-GCTGCTCCTGA GGGCCCTC-3' dan *GH-reverse*: 5'-CATGACCCTCAGGTACGTCTCCG-3' (Reis *et al.*, 2001). Total volume untuk amplifikasi adalah 20 µl yang terdiri dari 10 µl FastStart PCR Master (ROCHE), 1 µl (10pmol/µl) primer *Forward* dan *Reverse*, 7 µl ddH₂O dan 1 µl DNA genom. Campuran tersebut diproses dalam mesin *Thermal Cycler* (Infinigen T/H 25, USA), yang sebelumnya kondisi mesin diprogram sebagai berikut: denaturasi awal 95°C selama 5 menit, dilanjutkan amplifikasi sebanyak 35 siklus, setiap siklus diprogram yaitu denaturasi 95°C selama 30 detik, *annealing* 65°C selama 30 detik, ekstensi 72°C selama 30 detik. Proses amplifikasi diakhiri dengan final ekstensi pada 72°C selama 5 menit (Muin, 2008).

Deteksi polimorfisme dengan metode PCR-RFLP

Hasil amplifikasi (produk PCR) yang diperoleh kemudian didigesti dengan enzim restriksi *AluI* dengan situs pemotongan 5'-AG | CT-3' (Fermentas). Total volume untuk digesti sebanyak 12 µl yang terdiri dari 3 µl produk PCR, 1,2 µl 10x *Buffer* dan 0,2 µl enzim *AluI* (10 unit/µl) dan ddH₂O sebanyak 7,7 µl yang dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* 0,6 ml dan diinkubasikan pada temperatur 37°C selama 3 jam. Produk digesti dielektroforesis pada gel poliakrilamid 12% dengan tegangan 50 volt selama 3 jam 30 menit. Gel hasil elektroforesis dilakukan pewarnaan dengan menggunakan *Ethidium bromide* (EtBr). Gel diperiksa di bawah sinar *ultraviolet* untuk didokumentasikan menggunakan kamera digital.

Identifikasi genotip dilakukan menurut petunjuk Reis *et al.* (2001), yaitu genotip *Val/Val* ditunjukkan oleh satu pita: 211 bp, genotip *Leu/Val* oleh tiga pita: 211 bp, 159 bp, dan 52 bp, dan genotip *Leu/Leu* oleh dua pita: 159 bp dan 52 bp. Diagram alel L dan alel V tersaji pada Gambar 2.

Analisis statistika

Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan penghitungan frekuensi genotip dan alel serta uji keseimbangan *Hardy-Weinberg Equilibrium* (Warwick *et al.*, 1990).

Hasil dan Pembahasan

Deteksi polimorfisme gen GH pada sapi Limura dan Madura (kontrol) pada penelitian ini telah dilakukan menggunakan teknik PCR-RFLP, yaitu amplifikasi fragmen DNA spesifik sepanjang 211 bp yang dilanjutkan dengan pemotongan pada titik tertentu menggunakan enzim restriksi *AluI*. Tujuan deteksi ini adalah mengungkap polimorfisme gen GH pada bangsa sapi yang digunakan dalam penelitian. Perhitungan frekuensi genotip dan alel dari sapi penelitian serta pengujian keseimbangan genetik pada populasi sapi penelitian didasarkan pada distribusi genotip dari gen GH yang ditemukan polimorfisme.

Berdasarkan hasil RFLP produk PCR sepanjang 211 bp dengan enzim restriksi *AluI* (5'-AG|CT-3') pada sapi Limura menghasilkan dua alel yaitu alel L dan alel V. Alel L ditandai dengan terpotongnya fragmen 211 bp menjadi dua bagian sepanjang 159 bp dan 52 bp, hal ini disebabkan karena tidak adanya mutasi pada posisi keempat dari ekson kelima dan enzim restriksi *AluI* berhasil menemukan situs restriksi 5'-AG|CT-3'. Sedangkan pada sapi Madura hanya ditemukan satu jenis alel yaitu alel L.

Frekuensi genotip dan alel

Frekuensi genotip dan alel dari gen GH pada sapi Limura dan Madura pada penelitian ini diperoleh hasil seperti pada Tabel 1. Hasil perhitungan frekuensi alel pada populasi sapi Limura menunjukkan polimorfik. Populasi sapi Limura bersifat polimorfik karena frekuensi alel umum (alel L) tidak lebih dari 0,99. Harris (1994) menyatakan jika frekuensi alel yang umum dari gen GH yang ditemukan tidak lebih dari 0,99 maka populasi sapi yang diteliti bersifat polimorfik. Pada Tabel 1 terlihat bahwa alel L dari gen GH pada populasi sapi Limura merupakan alel umum (*common allele*) atau alel terbanyak yang ditemukan sebab alel tersebut lebih tinggi dibanding alel V. Beberapa penelitian sebelumnya menemukan hasil bahwa frekuensi alel lebih tinggi dibanding alel V seperti pada Tabel 2.

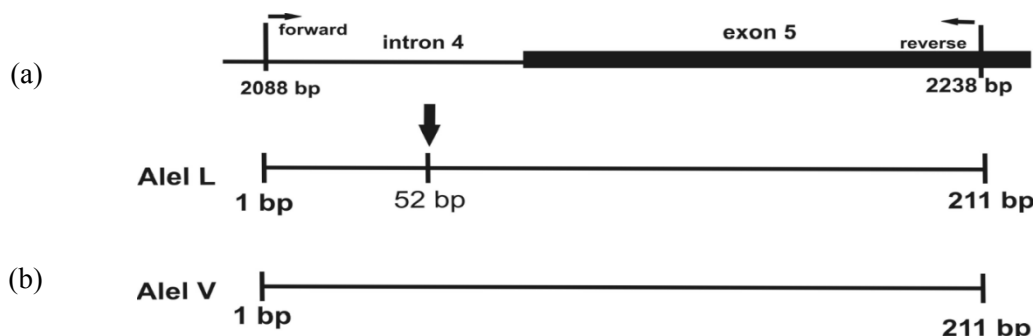
Hasil penelitian sebelumnya (Tabel 2) diperoleh informasi bahwa bangsa sapi *Bos indicus* bersifat monomorfisme (frekuensi alel L 0,99 sampai 1,00) sedangkan bangsa sapi *bos taurus* bersifat polimorfisme (frekuensi alel V 0,52 sampai 0,96). Bangsa sapi hasil persilangan antara *Bos taurus x indicus* mempunyai kecenderungan frekuensi alel L yang lebih rendah dibandingkan pada bangsa sapi *Bos indicus*.

Sekuen nukleotida gen GH 211 bp

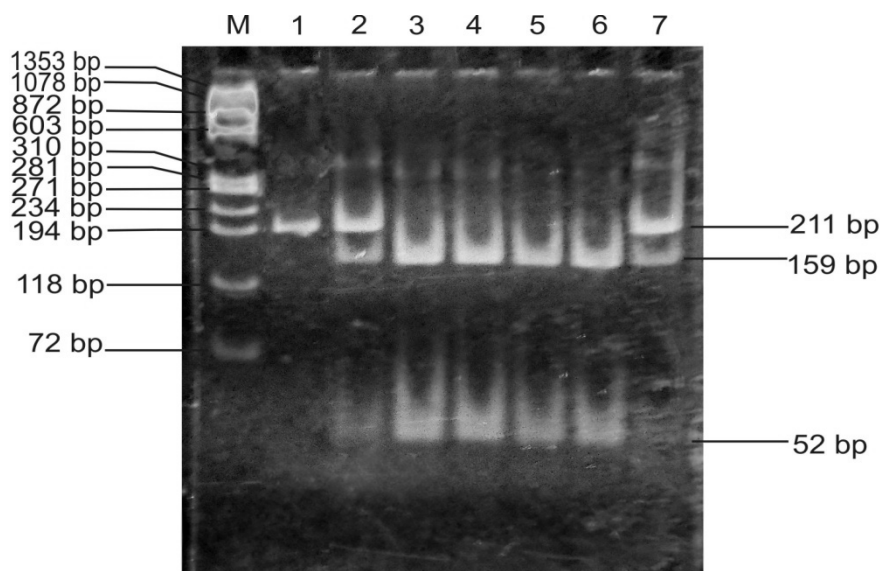
GH-F

2088: gctgctctg agggcccttc ggcctctctg tctctccctc ccttggcagg
 2138: ag*ctgggaaga tggcaccccc cgggtgggc agatcctca gacacctat
AluI
 2188: gacaaattg acacaaacat ggcagtgac gacgcgctgc tcaagaacta
 2238: cggctgctc tctgctccc ggaaggacct gcataagacg gagacgtacc
 style="text-align: center;">GH-R

Gambar 1. Sekuens 211 bp gen GH sapi (NCBI: M57764) dan letak titik potong enzim *AluI* (5'-AG|CT-3').
 (A 211 bp sequence of GH gene of bovine (NCBI: M57764) and location of restriction site of *AluI* enzyme (5'-AG|CT-3')).



Gambar 2. Diagram representatif (a) letak exon dan intron pada sapi, (b) alel L dan V pada sekuen gen GH (211 bp) dengan enzim restriksi *AluI* (*representative diagram (a) exon and intron region of bovine, (b) L and V allele of GH gene sequence (211 bp) with *AluI* restriction enzyme*).



Gambar 3. Hasil elektroforesis PCR-RFLP *AluI* gen GH sapi Limura dan Madura. Lajur M: Marker (Φ X174 DNA/BsuRI (HaeIII), Lajur 1: produk PCR (211 bp), Lajur 3-6, genotip LL (159 bp dan 52 bp), lajur 2,7 genotip LV (211 bp, 159 bp, 52 bp) (electrophoresis result of PCR-RFLP *AluI* GH gene of Limura and Madura cattle. Lane M: Marker (Φ X174 DNA/BsuRI (HaeIII), Lane 1: PCR product (211 bp), Lane 3-6: LL genotype (159 bp dan 52 bp), Lane 2, 7 : LV genotype (211 bp, 159 bp, 52 bp)).

Pada penelitian ini, frekuensi alel L dan genotip LL dari populasi sapi Madura secara berturut-turut adalah 1,00 dan 1,00 sedangkan pada sapi Limura sebesar 0,83 dan 0,91. Berdasarkan hasil tersebut telah terjadi perubahan frekuensi alel dan genotip pada sapi Limura dimana sapi Limura merupakan sapi hasil persilangan antara sapi Limousin dan sapi Madura. Genotip pejantan yang digunakan diduga mempunyai genotip LL dan LV sehingga kemungkinan munculnya alel V akan lebih kecil dibandingkan dengan alel L. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Rachman (2011) yang menemukan genotip semen beku sapi Limousin yang digunakan dalam Inseminasi Buatan di Kecamatan Larangan, Kabupaten Pamekasan sebanyak lima pejantan adalah LL. Menurut Dybus *et al.*, 2003 *cit.* Dario *et al.*, 2005 dan Jakaria *et al.*, 2009 secara berturut-turut frekuensi alel L dan V pada sapi Limousin adalah 0,67 dan 0,33; 0,82 dan 0,18. Hal ini menunjukkan bahwa sapi Limousin mempunyai alel V.

Berdasarkan perhitungan untuk frekuensi alel pada populasi sapi Madura dan Limura diperoleh hasil bahwa populasi sapi Limura bersifat polimorfisme (Tabel 1), sehingga uji keseimbangan

genetik populasi dilakukan pada populasi sapi Limura. Hasil uji diperoleh nilai X^2 sebesar 0,31 (Tabel 3), nilai tersebut lebih kecil dibandingkan dengan X^2 tabel sebesar 5,99. Hal tersebut menunjukkan bahwa populasi sapi Limura dalam keadaan keseimbangan genetik.

Keadaan keseimbangan *Hardy-Weinberg* pada populasi sapi penelitian ini memberi pengertian bahwa frekuensi alel dan genotip pada populasi sapi penelitian tersebut akan tetap konstan dari satu generasi ke generasi berikutnya selama tidak terdapat faktor-faktor pengganggu, yaitu tidak terjadi seleksi, tidak terjadi mutasi, tidak terjadi migrasi, dan perkawinan antar individu dalam populasi tersebut terjadi secara acak (Widodo dan Hakim, 1981; Warwick *et al.*, 1990; Hardjosubroto, 1999).

Pada populasi sapi Limura ditemukan migrasi alel V akan tetapi masih rendah yang diduga berasal dari salah satu tetua yaitu pejantan. Hal tersebut diperkuat dari hasil penelitian sebelumnya bahwa sapi Madura betina bergenotip 100% LL (Hartatik *et al.*, 2010; Rachman, 2011). Migrasi genotip LV dari pejantan tersebut belum mengganggu keseimbangan genetik populasi sapi Limura pada

Tabel 1. Frekuensi genotip dan alel gen GH pada sapi Limura dan Madura (genotype and allele frequencies of Limura and Madura cattle)

Bangsa (<i>breed</i>)	N	Frekuensi genotip (<i>genotype frequency</i>)			Frekuensi alel (<i>allele frequency</i>)	
		LL=29	LV=6	VV=0	L	V
Limura	35	0,83	0,17	0,00	0,91	0,09
Madura	10	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00

Tabel 2. Frekuensi alel L/V pada gen GH beberapa bangsa sapi (*allele L/V frequency of GH gene in several cattle breed*)

Bangsa sapi (<i>cattle breed</i>)	<i>Bos</i>	N	Alel (<i>allele</i>)		Sumber (<i>source</i>)
			L	V	
Karan Fries	<i>taurus</i>	26	0,94	0,06	Aruna Pal <i>et al.</i> , 2004
Holstein Friesian	<i>taurus</i>	33	0,85	0,15	Biswas <i>et al.</i> , 2003
Sahiwal	<i>indicus</i>	31	1,00	0,00	Biswas <i>et al.</i> , 2003
Podolian		132	0,85	0,15	Dario <i>et al.</i> , 2005
Hungarian Holstein Friesien (<i>bull</i>)	<i>taurus</i>	363	0,93	0,07	Kovacs <i>et al.</i> , 2006
Friesian Holstein	<i>taurus</i>	35	0,91	0,09	Mu'in dan Zurahmah, 2009
Bali	<i>sondaicus</i>	111	1,00	0,00	Mu'in, 2008
Peranakan Ongole	<i>indicus</i>	43	0,99	0,01	Mu'in, 2008
SIMPO	<i>taurus x indicus</i>	44	0,75	0,25	Mu'in, 2008
LIMPO	<i>taurus x indicus</i>	42	0,89	0,11	Mu'in, 2008
Holstein	<i>taurus</i>	50	0,63	0,27	Mohammadabadi <i>et al.</i> , 2010
Polish Friesian	<i>taurus</i>	214	0,69	0,31	Grochowska <i>et al.</i> , 2001
Krankrej	<i>indicus</i>	54	1,00	0,00	Pawar <i>et al.</i> , 2007
Gir	<i>indicus</i>	50	0,99	0,01	Pawar <i>et al.</i> , 2007
Sapi Pesisir	<i>indicus</i>	134	0,99	0,01	Jakaria <i>et al.</i> , 2007
Brazilian Canchim	<i>taurus</i>	203	0,52	0,48	Silveira <i>et al.</i> , 2008
Italian Jersey	<i>taurus</i>	164	0,52	0,48	Dario <i>et al.</i> , 2008
Limousin	<i>taurus</i>	20	0,82	0,18	Jakaria <i>et al.</i> , 2009
Limousin	<i>taurus</i>	130	0,67	0,33	Dybus <i>et al.</i> , 2003 <i>cit.</i> Dario <i>et al.</i> , 2005

Tabel 3. Uji X^2 terhadap genotip GH populasi sapi Limura (X^2 test to GH genotype of Limura cattle population)

Populasi sapi (<i>cattle population</i>)	Jumlah (<i>total</i>)	Genotip GH (<i>GH genotype</i>)			Frekuensi alel (<i>allele frequency</i>)		X^2
		LL	LV	VV	L	V	
Limura	<i>Observed</i>	29	6	0	0,91	0,09	0,31
	<i>Expected</i>	29,26	5,48	0,26			

$X^2_{0,05;2} = 5,99$; GH: *Growth Hormone*.

penelitian ini. Pengujian dari *Hardy-Weinberg* juga dapat untuk mengetahui apakah perkawinan terjadi secara acak dalam keadaan dimana dua genotip atau lebih dapat dikenal (Warwick *et al.*, 1990).

Kesimpulan

Polimorfisme gen GH ditemukan pada populasi sapi Limura dengan frekuensi alel L lebih besar dibandingkan alel V. Populasi sapi Limura dalam keadaan keseimbangan genetik.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada atas ijin peminjaman alat PCR selama penelitian, Dinas Peternakan Kabupaten Pamekasan dan inseminator Kecamatan Larangan yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian di lapangan.

Daftar Pustaka

- Anonimus. 2011. Data Populasi Ternak. Dinas Peternakan Kabupaten Pamekasan. Pamekasan.
- Aruna Pal, K., Chakravarty, T. K. Bhattacharya, B. K. Joshi and A. Sharma. 2004. Detection of polymorphism of growth hormone gene for the analysis of relationship between allele type and growth traits in Karan Fries cattle. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 17: 1334-1337.
- Biswas, T. K., T. K. Bhattacharya, A. D. Narayan, S. Badola, P. Kumar and A. Sharma. 2003. Growth hormone gene polymorphism and its effect on birth weight in cattle and buffalo. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 16: 494-497.
- Dario, C., D. Carnicella and G. Bufano. 2005. A note on the growth hormone (*GHI-AluI*) polymorphism in Podolian cattle in Southern Italy. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 23: 43-49.

- Dario, C., D. Carnicella, F. Ciotola, V. Peretti and G. Bufano. 2008. Polymorphism of growth hormone GH1-AluI in Jersey cows and its effect on milk yield and composition. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21: 1- 5.
- Grochowska, R., P. Sorensen, L. Zwierzchowski, M. Snochowski and P. Lovendahl. 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.
- Hardjosubroto, W. 1999. Pengantar Genetika Hewan. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Harris, H. 1994. Dasar-Dasar Genetika Biokemis Manusia. Edisi Ketiga, diperbaharui penerjemah: dr. Abdul Salam M. Sufro, Ph.D. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Hartatik, T., Sumadi, H. Mulyadi, dan R. D. M. Sari. 2010. Pemanfaatan teknologi DNA untuk analisis genetik sapi lokal. Laporan Hibah Laboratorium, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Hediger, R., S. E. Johnson, W. Barendse, R. D. Drinkwater, S. S. Moore and J. Hetzel. 1990. Assignment of the growth hormone gene locus to 19q26-qter in cattle and to 11q25-qter in sheep by in situ hybridization. *Genomics.* 8: 171 (Abstr.).
- Jakaria, D. Duryadi, R. R. Noor, B. Tappa, dan H. Martojo. 2007. Evaluasi keragaman genetik gen hormon pertumbuhan (GH) pada sapi Pesisir Sumatera Barat menggunakan penciri PCR-RFLP. *Media Peternakan* 30: 1-10.
- Jakaria, R. R. Noor, H. Martojo, D. Duryadi and B. Tappa. 2009. Identification of Growth Hormone (Gh) Gene MspI and AluI Loci Polymorphism in Beef Cattles. The 1st International Seminar on Animal Industry. Faculty of Animal Science, Bogor Agricultural University, pp: 42-47.
- Kovacs, K., J. Völgyi-Csík, A. Zsolnai, I. Györkös and L. Fésüs. 2006. Associations between the *Alu* I polymorphism of growth hormone gene and production and reproduction traits in a Hungarian Holstein-Friesian bull dam population. *Arch. Tierz. Dummerstorf.* 49: 236-249.
- Mohammadabadi, M. R., A. Torabi, M. Tahmourespoor, A. Baghizadeh, A. E. Koshkoieh and A. Mohammadi. 2010. Analysis of bovine growth hormone gene polymorphism of local and Holstein cattle breeds in Kerman province of Iran using polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *Afr. J. Biotechnol.* 9: 6848-6852.
- Mu'in, M. A. 2008. Polimorfisme genetik *Growth Hormone* dan *Insuline-like Growth Factor-I* serta efeknya pada pertumbuhan prasapi sapi potong di Indonesia. Disertasi. Program Pascasarjana, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada.
- Mu'in, M. A. dan N. Zurahmah. 2009. Evaluasi polimorfisme *Leu/Val* pada gen hormon pertumbuhan sapi Friesian Holstein di Balai Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah Baturraden. *Anim. Prod.* 11: 155-159.
- Nijman, I. J., M. Otsen, E. L. C. Vekaar, C. de Ruijter, E. Hanekamp, J. W. Ocheing, S. Shamshad, J. E. O. Rege, O. Hanotte, M. W. Barwegen, T. Sulawati and J. A. Lestra. 2003. Hybridation of banteng (*Bos javanicus*) and zebu (*Bos indicus*) revealed by mitochondrial DNA, satellite DNA, AFLP and microsatellites. *Heredity.* 90: 10-16.
- Pawar, R. S., K. R. Tajane, C. G. Joshi, D. N. Rank and B. P. Bramkshtri. 2007. Growth hormone gene polymorphism and its association with lactation yield in dairy cattle. *Indian. J. Anim. Sci.* 77: 884-888.
- Rachman, M. P. 2011. Polimorfisme gen *Growth Hormone* (GH) pada sapi Madura dan Persilangan Limousin-Madura. Tesis. Program Studi Bioteknologi, Jurusan Antar Bidang, Program Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Reis, C., D. Navas, M. Pereira and A. Cravador. 2001. Growth hormone *Alu* I polymorphism analysis in eight portuguese bovine breeds. *Arch. Zootec.* 50: 41-48.
- Sambrook J., E. F. Fritsch and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual.* Cold Spring Harbour Laboratory Press: Cold Spring Harbour.
- Sellier, P. 2000. Genetically caused retarded growth in animals. *Domest Anim Endocrinol.* 19: 105-119.

- Silveira, L. G. G., L. R. Furlan, R. A. Curi, A. L. J. Ferraz, M. M. de Alencar, L. C. A. Regitano, C. L. Martins, M. de Beni, Arrigoni, L. Suguisawa, A. C. Silveira and H. N. de Oliveira. 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: 874-879.
- Warwick, E. J., J. M. Astuti, dan W. Hardjosubroto. 1990. *Pemuliaan Ternak*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Widodo, W. dan L. Hakim. 1981. *Pemuliaan Ternak*. Universitas Brawijaya. Malang.