

## Identifikasi Keragaman Gen *Pituitary Transcription Factor 1 (Pou1f1)* Pada Kambing Peranakan Etawah (Pe) di BPTU KDI-HPT Pelaihari

### Identification Of Pituitary Transcription Factor 1 (POU1F1) Gene In Etawah Grade Goat (PE) in BPTU KDI-HPT Pelaihari

A.B.P. Suparman<sup>1)</sup>, R. H. Mulyono<sup>2)</sup>, Jakaria<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Mahasiswa Program Sarjana Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, IPB

<sup>2)</sup>Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

#### ABSTRACT

Pituitary Transcription Factor 1 (POU1F1) has been identified as the pituitary specific transcription factor that regulates the expression of the growth hormone (GH) and prolactin (PRL) in the anterior pituitary. The objective of this research is identification the polymorphism of POU1F1 gene of etawah grade goat in BPTU KDI-HPT Pelaihari South Kalimantan use Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP). PCR products of POU1F1 digested with HinfI enzyme which restric G|AnTC. Samples are used as the material of DNA from blood samples of 115 PE goats. POU1F1 gene amplification was performed with annealing temperature of 62 °C for 20 seconds resulting in a fragment with the length of 601 bp which is located at intron 5 and exon 6. The result of PCR-RFLP analysis indicated that the POU1F1 gene was monomorphic. B allele had 3 fragments at 275, 243, and 83 bp respectively.

**Key words:** Etawah grade goat, PCR-RFLP, Pituitary Transcription Factor 1 (POU1F1)

#### PENDAHULUAN

Indonesia memiliki potensi peternakan yang sangat besar, berbagai macam jenis ternak yang dimiliki. Salah satu ternak yang relatif banyak dipelihara oleh masyarakat Indonesia yaitu kambing. Kambing merupakan hewan domestikasi setelah anjing, kuda, dan domba. Kambing domestikasi menyebar ke berbagai pelosok dunia dan beradaptasi untuk menghasilkan berbagai nilai fungsional. Hasil adaptasi memunculkan karakter unik dan spesifik di beberapa daerah. Kambing etawah yang berasal dari India pertama kali dikembangkan di perbukitan Manoreh sebelah barat Yogyakarta. Persilangan kambing tersebut dengan kambing lokal (kambing jawa randu atau kambing kacang) menghasilkan kambing peranakan etawah (PE) (Kusuma dan Irmansah 2009).

Direktorat Jenderal Peternakan (2013) menyatakan bahwa populasi kambing di Indonesia pada tahun 2012 berjumlah 17 905 862 ekor, relatif rendah bila dibandingkan dengan ternak lain sehingga diperlukan peningkatan baik dari segi kuantitas maupun kualitas. Kambing PE merupakan kambing unggul dwiguna, yaitu sebagai penghasil susu dan daging. Kambing PE penghasil susu baik, yang pada akhir-akhir ini juga dimanfaatkan sebagai kambing penghasil daging karena pada umur yang sama memiliki bobot potong yang lebih besar dibandingkan dengan kambing lokal.

Salah satu upaya untuk meningkatkan produktivitas kambing PE yaitu seleksi berdasarkan data fenotipik dan

genotipik. Kontrol genetik yang dilakukan bertujuan untuk memanfaatkan gen-gen yang berkaitan dengan pertumbuhan dan produktivitas kambing PE diantaranya gen *Pituitary transcription factor 1* (POU1F1). Lan *et al.* (2007b) menyatakan bahwa gen *POU1F1* merupakan pengatur positif untuk hormon pertumbuhan (GH), prolaktin (PRL), dan *thyroid stimulating hormone*  $\beta$  (TSH $\beta$ ). Polimerfisme gen POU1F1 berkaitan dengan beberapa sifat ekonomis ternak diantaranya produksi susu, bobot lahir, bobot satu tahun, dan *littersize* pada kambing (Lan *et al.* 2007a; Lan *et al.* 2007b) serta produksi susu, konformasi tubuh, dan persentase lemak susu pada sapi (Renaville *et al.* 1997).

Hingga saat ini penelitian terkait identifikasi keragaman gen *POU1F1* khususnya di Indonesia masih jarang dilakukan, sehingga penelitian untuk mengidentifikasi keragaman gen tersebut dirasa perlu, agar dapat dirancang suatu kegiatan seleksi genetik yang lebih efektif. Selain itu identifikasi keragaman gen sebagai *marker assisted selection* (MAS) dibutuhkan untuk perbaikan mutu genetik. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaman gen *Pituitary Transcription Factor 1* (POU1F1) pada Kambing Peranakan Etawah (PE) yang dipelihara di BPTDU KDI-HPT Pelaihari Kalimantan Selatan melalui teknik *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR- RFLP).

## MATERI DAN METODE

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Genetika Molekuler Ternak, Bagian Pemuliaan dan Genetika, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Penelitian berlangsung dari bulan November 2013 hingga Mei 2014.

### Bahan

Sampel DNA yang digunakan berasal dari 115 ekor kambing peranakan etawah di BPTU KDI-HPT Pelaihari Kalimantan Selatan merupakan koleksi Laboratorium Genetika Molekuler Ternak. Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi DNA adalah *destillation water* (DW), 1 x STE (5M NaCl, 2M tris HCl,

0.2M EDTA), *Sodium Dodecyl Sulfat* (SDS) 10%, Proteinase-K (5 mg ml<sup>-1</sup>), *Chlorofom Isoamil Alkohol* (CIAA), *phenol*, etanol absolut, etanol 70%, dan buffer tris EDTA (TE) 80%.

Bahan yang digunakan untuk PCR-RFLP dan elektroforesis adalah sampel DNA hasil ekstraksi, DW, 10x buffer, MgCl<sub>2</sub>, pasangan primer *forward*, dan *reverse*, enzim *taq polymerase*, dNTPS, buffer *HinfI*, enzim restriksi *HinfI*, serbuk agarose, 0.5 x *Tris-Borat* EDTA (TBE), *Ethidium Bromide* (EtBr), *loading dye*, dan marker 100 bp. Sekuen gen *POUIF1* diperoleh dari Gen Bank dengan kode akses AJ549207.1. Primer yang digunakan untuk mengamplifikasi gen *Pituitary Transcription Factor 1* (*POUIF1*|*HinfI*) berdasarkan Javanmard *et al.* (2005) yang telah dilakukan pada sapi (*Bos indicus*) adalah *forward*: 5'GAGCTACATGAGACAAGCATC 3' dan *reverse*: 5'AAATGTACAATGTG CCTTCTGA 3'.

### Alat

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi DNA, PCR-RFLP, dan elektroforesis, yaitu tabung eppendorf 1.5 mL, tabung PCR, tabung RFLP 1 set micropipet beserta tipnya, *sentrifuge*, *freezer*, inkubator, ESCO *Swift maxi thermo cycler*, *vortex*, *micro sentrifuge*, *refrigerator*, 1 set tray pencetak gel, timbangan digital, *beaker glass*, *microwave*, *magnetic stirrer*, *power supply* 100 volt, dan UV *Transilluminator*.

### Prosedur

#### Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan acuan Sambrook *et al.* (1989) yang telah dimodifikasi. Darah diambil sebanyak 200 µL dan ditambah 1 000 µL DW, kemudian dihomogenasi menggunakan *vortex* dan didiamkan selama 5 menit, lalu disentrifugasi pada kecepatan 8 000 rpm selama lima menit sampai endapan terbentuk. Endapan yang didapat kemudian ditambah 1 x STE sebanyak 400 µL, 40 µL SDS dan 10 µL proteinase-K 5 mg mL<sup>-1</sup> lalu diinkubasi sambil digoyang secara perlahan pada suhu 55°C selama 2 jam. Setelah itu ditambah 400 µL *phenol solution*, 400 µL CIAA dan 40 µL NaCl 5 M, kemudian digoyang secara perlahan selama 1 jam pada suhu ruang.

Tahapan selanjutnya bahan disentrifugasi pada kecepatan 12 000 rpm selama 5 menit. Cairan bening

paling atas yang terbentuk diambil sebanyak 400 µL dan dipindah ke dalam tabung baru dan ditambahkan 800 µL EtOH *absolute* 90% dan 40 µL NaCl 5 M lalu dibekukan selama 12 jam di dalam *freezer* (overnight). Sampel kemudian disentrifugasi pada kecepatan 12 000 rpm selama 5 menit sampai terbentuk endapan putih. Endapan yang didapat ditiriskan dan ditambah 100 µL TE 80%.

#### Amplifikasi DNA

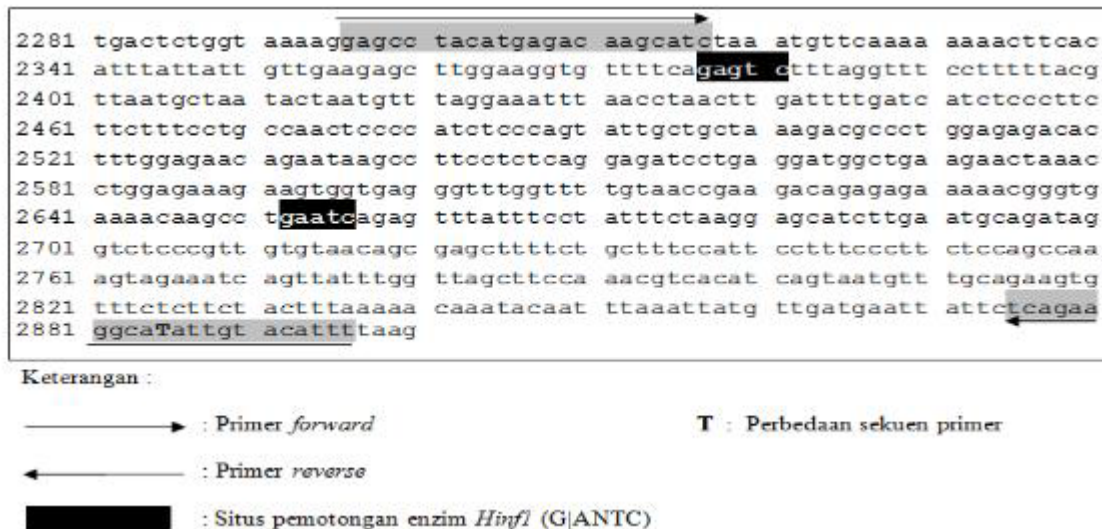
Sampel DNA yang merupakan hasil ekstraksi akan diambil sebanyak 1.0 µL dan dimasukkan ke dalam tabung PCR, kemudian ditambah larutan premix dengan volume 14 µL. Premix dibuat dengan campuran 0.3 µL primer, 0.3 µL dNTPs, 1 µL MgCl<sub>2</sub>, 1.5 µL 10 x buffer, 0.05 µL enzim *Taq polymerase*, dan 10.85 µL DW. Campuran sampel DNA dan premix tersebut diinkubasi menggunakan mesin ESCO *Swift maxi thermo cycler*. Gambar 1 menyajikan posisi penempelan primer pada sekuen *Ovis aries*. Proses amplifikasi diawali dengan proses denaturasi awal pada suhu 95 °C selama 5 menit, 35 siklus yang terdiri atas tahapan denaturasi akhir pada suhu 95 °C selama 10 detik, penempelan primer (*annealing*) pada suhu 62°C selama 20 detik, pemanjangan DNA (*ekstensi awal*) pada suhu 72°C selama 30 detik dan *ekstensi akhir* pada suhu 72°C selama 5 menit. Hasil amplifikasi dianalisis menggunakan gel agarose 1.5%.

#### Elektroforesis Produk PCR

Elektroforesis produk PCR dilakukan menggunakan 5 µL produk PCR pada gel agarose 1.5% dengan tegangan 100 volt selama 45 menit. Gel dibuat dengan mencampurkan serbuk agarose 0.45 g dan 30 mL 0.5 x TBE kemudian dipanaskan dalam *microwave* dengan suhu *medium high* selama 5 menit. Setelah itu dihilangkan uap panas menggunakan *stirrer* dan ditambahkan EtBr 2.5 µL. Gel dicetak pada *tray* pencetak lalu ditunggu sampai mengeras. Setelah gel mengeras kemudian sisir dicabut hingga terbentuk sumur-sumur gel. Produk PCR sebanyak 5 µL dilarutkan dalam *loading dye* 1 µL, lalu dimasukkan kedalam sumur-sumur gel. Setelah elektroforesis selesai, pita-pita akan tampak pada UV *Transilluminator* dengan menggunakan sinar ultra violet.

#### Genotyping Gen *POUIF1*

Genotyping dilakukan dengan metode *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). Tahapan awal proses ini, yaitu produk PCR sebanyak 5 µL dimasukkan ke dalam tabung 0.5 mL kemudian ditambahkan 0.4 µL enzim restriksi *HinfI* dan 0.7 buffer *HinfI*. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 16 jam pada suhu 37°C. Sampel DNA yang telah dipotong dengan enzim restriksi dielektroforesis pada gel agarose 2% dengan tegangan 100 volt selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan visualisasi menggunakan UV-Transilluminator. Pita DNA yang muncul pada tahap ini dibandingkan dengan marker untuk mengetahui panjang pita. Genotipe gen *POUIF1* ditentukan berdasarkan panjang pita DNA yang muncul. Penentuan genotipe mengacu pada sekuen gen *Ovis aries* yang terdapat di GenBank (kode akses AJ549207.1). Genotipe AA ditunjukkan dengan 2 pita (*fragmen*) DNA dengan panjang 518 dan 83 pb. Genotipe AB ditunjukkan dengan 4 pita DNA yaitu 518, 275, 243, dan 83 pb. Genotipe



Gambar 1 Posisi penempelan primer pada sekuen Gen *Pituitary Transcription Factor 1 POU1F1/HinfI* (GenBank Nomor Akses AJ549207.1)

BB ditunjukkan dengan adanya 3 pita yaitu 275, 243, dan 83 pb (Gambar 2).

**Analisis Data**

**Frekuensi Alel Gen *POU1F1***

Nei dan Kumar (2000) menyatakan bahwa frekuensi alel dan frekuensi genotipe dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

Frekuensi alel:

$$x_i = \frac{(2n_{ii} + n_{ij})}{2N}$$

Keterangan:

- $x_i$  = frekuensi alel ke-*i*
- $N$  = jumlah sampel
- $n_{ii}$  = jumlah individu yang bergenotipe *ii*
- $n_{ij}$  = jumlah individu yang bergenotipe *ij*

Frekuensi genotipe:

$$x_{ii} = \frac{n_{ii}}{N}$$

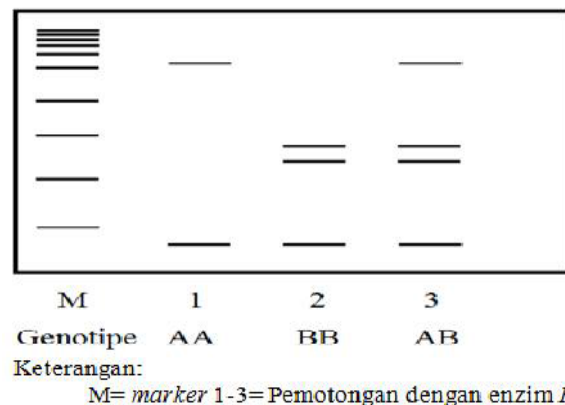
Keterangan:

- $x_i$  = frekuensi genotipe ke-*i*
- $N$  = jumlah sampel
- $n_{ii}$  = jumlah individu yang bergenotipe *ii*

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Amplifikasi Gen *Pituitary Transcription Factor 1 (POU1F1)***

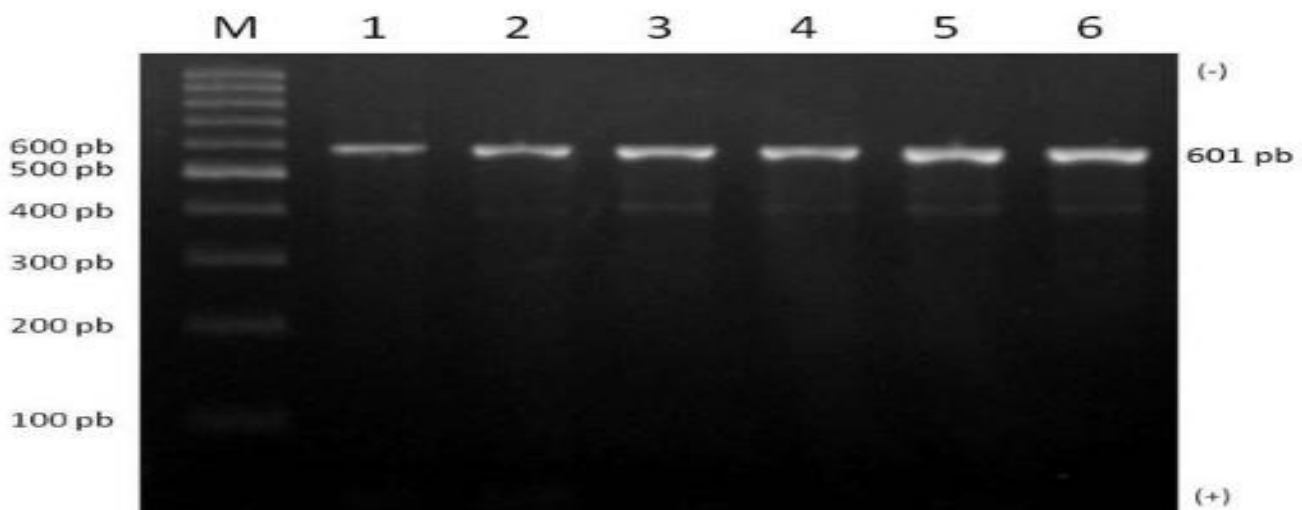
Keseluruhan sampel darah (115 sampel) berhasil diekstraksi yang diperlihatkan dengan visualisasi pada gel agarose 1%. Amplifikasi gen *POU1F1* berhasil dilakukan pada 110 sampel darah dari 115 sampel darah kambing PE yang diamati. Persentase keberhasilan amplifikasi gen *POU1F1* dalam penelitian ini adalah 95.65%. Gambar 3 menyajikan hasil amplifikasi gen *POU1F1* pada gel agarose 1.5%. Sekuen yang digunakan pada penelitian ini



Gambar 2 Penentuan genotipe gen *POU1F1* berdasarkan sekuen gen *Ovis aries* yang terdapat di GenBank (kode akses AJ549207.1)

berdasarkan sekuen gen *POU1F1 Ovis aries* (Bastos *et al.* 2006), hal tersebut dikarenakan tidak terdapat informasi atau data sekuen gen *POU1F1 Capra hircus*. Primer yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan Javanmard *et al.* (2005) berhasil mengamplifikasi gen *POU1F1* pada panjang 601 pb (Gambar 3), sehingga diduga sekuen *Capra hircus* memiliki homologi yang tinggi terhadap sekuen gen *POU1F1 Ovis aries*. Hasil ekstraksi DNA yang gagal diamplifikasi sebanyak 5 sampel disebabkan kondisi yang tidak memungkinkan penempelan primer karena proses amplifikasi telah dilakukan berulang-ulang pada kelima sampel tersebut.

Suhu *annealing* dalam penelitian ini adalah 62 °C selama 20 detik, kondisi ini berbeda dengan suhu *annealing* yang disarankan oleh Javanmard *et al.* (2005) yaitu 60 °C selama 45 detik. Viljoen *et al.* (2005) menyatakan bahwa keberhasilan mengamplifikasi DNA bergantung pada interaksi antara komponen PCR dalam konsentrasi yang tepat. Beberapa hal yang dilakukan untuk optimasi PCR diantaranya adalah suhu penempelan primer, konsentrasi Mg<sup>2+</sup>, dan konsentrasi DNA. Selain itu yang harus



**Keterangan:**  
M = marker, 1-6 = produk amplifikasi gen *POU1F1*

Gambar 3 Hasil amplifikasi gen *POU1F1* pada gel agaose 1,5%

diperhatikan dalam optimasi PCR adalah suhu penempelan primer (annealing).

Muladno (2010) menyatakan bahwa suhu *annealing* yang digunakan biasanya 5°C di bawah *melting temperature* ( $T_m$ ). Dijelaskan lebih lanjutnya, bahwa setiap gen memiliki suhu *annealing* yang berbeda untuk dapat menghasilkan panjang fragmen yang diinginkan. Perolehan  $T_m$  pada penelitian ini berdasarkan rumus  $T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$  adalah 66°C untuk  $T_m$  primer *forward* dan 60°C untuk  $T_m$  primer *reverse*. Suhu *annealing* pada penelitian ini 4°C di bawah *melting temperature* ( $T_m$ ).

#### Pendeteksian Keragaman Gen *POU1F1*

Proses pemotongan gen *POU1F1* pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan enzim restriksi *HinfI* melalui analisis *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). Sumantri *et al.* (2007) menyatakan bahwa analisis RFLP sering digunakan untuk mendeteksi adanya keragaman gen yang terkait dengan sejumlah sifat yang bernilai ekonomis, seperti produksi dan kualitas susu. Teknik ini semakin intensif digunakan sebagai penciri genetik karena memiliki beberapa keunggulan seperti perbanyakan DNA secara cepat melalui PCR dan polimorfisme fragmen dilakukan dengan enzim restriksi, sehingga mampu mengidentifikasi genotipe secara jelas (Jakaria *et al.* 2007).

Enzim restriksi *HinfI* mengenali situs pemotongan G|AnTC yang terletak di daerah intron 5 dan ekson 6 gen *POU1F1*. Setiap enzim restriksi mengenali sekuen tertentu, enzim restriksi ini akan memutus DNA setiap bertemu dengan situs yang dikenalnya, sehingga menghasilkan sejumlah fragmen DNA yang digunakan untuk mendeteksi keragaman antara individu dan antara populasi. Javanmard *et al.* (2005) menyatakan keragaman gen *POU1F1* dikarenakan terdapat mutasi titik yang terjadipada posisi basa ke-1256, yaitu terjadinya substitusi basa dari G menjadi A menyebabkan glisin berubah menjadi asam glutamat.

Penentuan genotipe BB berdasarkan Javanmard *et al.* (2005) karena menggunakan primer dan enzim restriksi

yang sama. Genotipe BB pada sapi memiliki 2 fragment 357 pb dan 243 pb (produk PCR 600 pb), sedangkan pada kambing PE penelitian, enzim restriksi *HinfI* memotong produk PCR menjadi 3 fragmen di daerah *intron 5* dan *ekson 6* dengan panjang 275, 243, dan 83 pb pada sekuen DNA ruas gen *POU1F1* (produk PCR 601 pb) fragmen 83 pb tidak terlihat (Gambar 4). Penentuan genotipe mengacu pada sekuen gen *Ovis aries* yang terdapat di Gen Bank (kode akses AJ549207.1). Berdasarkan hasil pemotongan diperoleh satu macam genotipe yaitu genotipe BB. Hal ini menunjukkan bahwa keragaman gen *POU1F1* kambing PE tidak ditemukan pada penelitian ini.

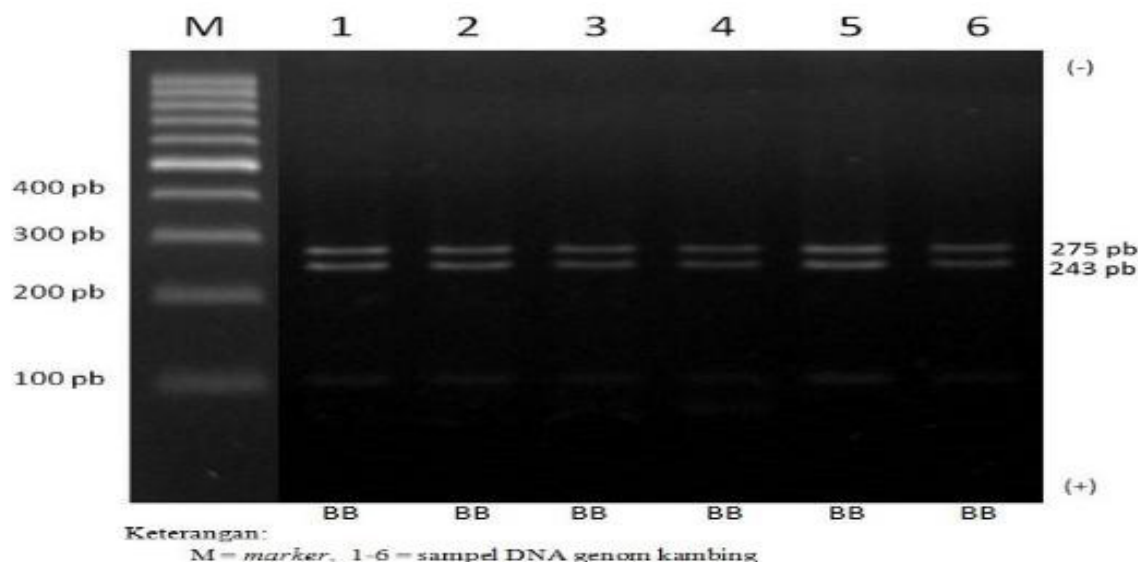
#### Frekuensi Alel Gen *POU1F1*

Hasil analisis frekuensi genotipe pada kambing PE penelitian ini menunjukkan bahwa frekuensi genotipe BB adalah 100%. Hal tersebut terjadi karena alel B pada gen *POU1F1* kambing PE penelitian telah terfiksasi, frekuensi alel B pada gen *POU1F1* adalah 1. Frekuensi alel adalah frekuensi relatif dari suatu alel dalam populasi atau jumlah suatu alel terhadap jumlah total alel yang terdapat dalam suatu populasi (Nei dan Kumar 2000). Pada populasi tersebut alel A tidak ditemukan atau tereliminasi. Alel A tidak ditemukan, sehingga gen *POU1F1* pada kambing PE bersifat monomorfik atau seragam.

#### Pendugaan Sifat Produksi Kambing PE BPTU KDI-HPT Pelaihari

##### Berdasarkan Perolehan Frekuensi Alel Gen *POU1F1* Penelitian Lain

Keseragaman gen *POU1F1* kambing PE penelitian pada alel B, mengindikasikan bahwa proses seleksi terhadap alel B telah terjadi. Berdasarkan penelitian yang melibatkan gen *POU1F1* pada beberapa jenis ternak, seperti yang disajikan pada Tabel 1, dapat diduga bahwa arah seleksi yang telah dilakukan pada kambing PE BPTU KDI-HPT Pelaihari adalah persentase lemak susu. Noor (2010) menyatakan bahwa seleksi merupakan suatu proses yang melibatkan kekuatan untuk menentukan ternak mana

Gambar 4 Hasil PCR-RFLP fragmen gen *POU1F1* kambing PE pada gel agarose 2%Tabel 1 Frekuensi alel gen *POU1F1* pada kambing PE penelitian, sapi FH Itali, Sapi Gyr, dan domba Jonggol

Ternak	Jumlah Sampel	Frekuensi Alel		Sumber
		A	B	
Kambing PE	110	0	1	Penelitian
Sapi FH Italia	89	0,19	0,81	Renaville et al. (1997)
Sapi Gyr	40	0,05	0,95	Mattos et al. (2004)
Domba Jonggol	80	0,81	0,19	Sumantri et al. (2009)

yang boleh berkembang biak pada generasi selanjutnya. Alel A pada gen *POU1F1* kambing PE yang tidak ditemukan pada penelitian ini mengindikasikan bahwa seleksi terhadap kandungan protein dan produksi susu belum dilakukan. Sehingga diduga seleksi yang dilakukan ditujukan untuk kambing PE sebagai ternak perah bukan sebagai ternak pedaging.

Seleksi ini berkaitan juga dengan kondisi lingkungan dan manajemen pemeliharaan yang dilakukan di BPTU KDI-HPT Pelaihari Kalimantan Selatan. Kondisi lingkungan di BPTU KDI-HPT Pelaihari Kalimantan Selatan relatif panas dan persentase kelembaban yang rendah sehingga lingkungan sekitar relatif kering. Manajemen pemeliharaan yang dilakukan di BPTU KDI-HPT Pelaihari Kalimantan Selatan dilakukan secara intensif, kambing PE diberi pakan berupa rumput, legum, dan konsentrat di dalam kandang serta tidak diumbar di padang penggembalaan. Tabel 1 menyajikan perolehan frekuensi alel A dan B pada gen *POU1F1* kambing PE penelitian dengan beberapa hasil penelitian pada domba, dan sapi.

Renaville *et al.* (1997) menyatakan bahwa alel A pada gen *POU1F1* sapi FH asal Italia memiliki produksi susu, dan kandungan protein yang lebih tinggi tetapi memiliki persentase lemak yang lebih rendah daripada alel B. Mattos *et al.* (2004) menambahkan bahwa dalam kondisi heterozigot dengan frekuensi alel B yang lebih tinggi, lokus *POU1F1|HinfI* memiliki hubungan kuat dengan tingkat persentase lemak susu, sedangkan menurut Sumantri *et al.* (2009) genotipe gen *POU1F1* pada domba lokal di Jonggol tidak berpengaruh nyata, baik terhadap kandungan

protein susu maupun kandungan lemak susu domba. Dijelaskan lebih lanjut bahwa hal tersebut terjadi karena kelenturan fenotipik yang menurut Noor (2010) merupakan kemampuan suatu genotipe atau individu dalam menghasilkan lebih dari satu alternatif morfologi, status fisiologi atau tingkah laku sebagai respon terhadap perubahan kondisi lingkungan.

## KESIMPULAN

Hasil analisis gen *POU1F1|HinfI* pada kambing peranakan etawah yang berasal dari BPTU KDI-HPT Pelaihari Kalimantan Selatan bersifat monomorfik (seragam) karena terfiksasi pada genotip BB sehingga frekuensi alel B 100%.

## Saran

Mengidentifikasi keragaman fragmen lain yang terdapat pada sampel DNA genom kambing PE di BPTU KDI-HPT Pelaihari Kalimantan Selatan perlu dilakukan sehingga ditemukan kemungkinan keragaman alel pada gen lain. Jumlah sampel yang dianalisis lebih banyak, dan mengidentifikasi keragaman sampel yang sama menggunakan teknik lain, seperti PCR-SSCP.

## DAFTAR PUSTAKA

**Bastos E**, Ingrid S, Isabelle P, Jose LC, Alfredo C, Henrique GP, Robert R. 2006. *Ovis aries POU1F1* gene: cloning, characterization and polymorphism

- analysis. *Genet.* 126: 303-314.
- [DITJENNAK] Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.** 2013. Statistik peternakan dan kesehatan hewan. Jakarta (ID): Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan.
- Javanmard A, Nader A, Mohammad HB, Javad T.** 2005. The allele and genotype frequencies of bovine pituitary specific transcription factor and leptine genes in Iranian cattle and buffalo populations using PCR-RFLP. *Iran. J. of Biotech.* 3(2) : 104-108.
- Jakaria, Duryadi D, Noor RR, Tappa B, Martojo H.** 2007. Evaluasi keragaman genetik gen hormon pertumbuhan (GH) pada sapi pesisir Sumatera Barat menggunakan penciri PCR-RFLP. *Med.Pet.* 30:1-10.
- Kusuma BD, Irmansah.** 2009. *Menghasilkan Kambing Peranakan Etawa Jawara.* Jakarta (ID): PT.Agromedia Pustaka.
- Lan XY, Pan CY, Chen H, Zhang CL, Li JY, Zhao M, Lei CZ, Zhang AL, Zhang L.** 2007a. An AluI PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat POU1F1 locus and its association with production traits. *Small Ruminant Research.* 73 :8-12.
- Lan XY, Pan CY, Chen H, Lei CZ, Hua LS, Yang XB, Qiu GY, Zhang RF, Lun YZ.** 2007b. DdeI polymorphism coding region of goat POU1F1 gene and its association with production traits. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20 (9) :1342-1348.
- Martojo H.** 1992. *Peningkatan Mutu Genetik Ternak.* Bogor (ID): Pusat Antar Universitas Bioteknologi, IPB.
- Mattos KK, Silvia ND, Mario LM, Ary FF.** 2004. Association of bGH and Pit-1 gene variants with milk production traits in dairy Gyr bulls. *Pesq. Agropec. Bras. Brasilia.* 39 (2). 147-150.
- Misrianti R, Sumantri C, Farajallah A.** 2010. Polymorphism identification of Pit1 gene in Indonesian buffaloes (*Bubalus bubalis*) and Holstein-Friesian cows. *Med. Peternakan.* 30 (3): 131-136.
- Muladno.** 2010. *Teknologi Rekayasa Genetika.* Bogor (ID): IPB Pr.
- Nei M.** 1987. *Molecular Evolutionary Genetics.* New York (US) : Columbia University Pr.
- Nei M, Kumar S.** 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics.* New York (US): Columbia University Pr.
- Noor RR.** 2010. *Genetika Ternak.* Jakarta (ID): Penebar Swadaya.
- Renaville R, Gengleer N, Vrech E, Prandi A, Massart S, Corradini C, Bertozzi C, Mortiax F, Burny A, Portetelle D.** 1997. Pit-1 gene polymorphism, milk and conformation traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *J. Dairy Sci.* 80 (12): 3431-3438.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T.** 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual.* New York (USA): CSH Laboratory Pr.
- Sumantri C, Herdiana D, Farajallah A, Rahmat A.** 2009. Keragaman gen pituitary-specific transcription factor-1 lokus Pit-1-Hinfl dan pengaruhnya terhadap bobot tubuh induk dan produksi susu pada domba lokal. *JITV* 14(3): 222-229.
- Viljoen GJ, Nel LH, Crowther JR.** 2005. *Molecular Diagnosis PCR Handbook.* Netherlands (NL): Springer.