

Polimorfisme Gen *Growth Hormone* dan Hubungannya dengan Sifat Pertumbuhan Sapi Silangan Peranakan Ongole dan Simmental

(Polymorphism of the Growth Hormone Gene and its Association with Growth Traits in Ongole Grade Crossed with Simmental Cattle)

Muhamad Affan Mu'in^{1*}, Maria Astuti², Muladno³, Tridjoko Wisnu Murti², dan Wayan Tunas Artama⁴

¹ Fakultas Peternakan, Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Negeri Papua, Manokwari 98314

² Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

³ Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

⁴ Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

ABSTRACT : The present study was conducted to detect polymorphism of growth hormone (GH) gene in Ongole grade crossed with Simmental bull (SIMPO) and its association with growth traits. Blood samples of 62 cattle were taken from population of SIMPO cattle were located in the sub-province region of Bantul, Special Region of Yogyakarta. A 211 bp fragment of GH gene spanning from the forth intron region (49 bp) to fifth of exon (162 bp) was amplified and digested with *AluI* restriction enzyme to identified polymorphism at this locus. The resulted indicated that two genotypes LL and LV were found at the GH gene in SIMPO population cattle. The frequencies of L and V alleles were 0.82 and 0.18, respectively. In SIMPO calves, the average birth weight, 2 months body weight and daily body weight gains of LV genotypes were tend to higher than that of LL genotypes.

Key Words : Gene, growth hormone, polymorphism, cattle, SIMPO

Pendahuluan

Pertumbuhan pada sapi dikendalikan oleh sistem yang kompleks, dengan *somatotropic axis* memainkan peranan penting. Gen-gen yang menjalankan *somatotropic axis* bertanggung jawab terhadap pertumbuhan *postnatal*, terutama *growth hormone* (GH) yang beraksi terhadap pertumbuhan tulang dan otot (Sellier, 2000). *Growth hormone* sapi tersusun atas 191 asam amino, disandi oleh suatu gen pada kromosom 19 (Hediger *et al.*, 1990), dan mengandung 1800 bp dengan lima *exon* (Woychick *et al.*, 1982; Gordon *et al.*, 1983). Polimorfisme gen GH sapi ditemukan pada *exon* ke-5 yang menyebabkan munculnya dua bentuk GH (Lucy *et al.*, 1991). Variasi gen GH ini disebabkan oleh substitusi sebuah nukleotida, sitosin (C) dengan guanin (G), sehingga mengakibatkan perubahan urutan asam amino dari leusin (Leu): CTG (alel L) menjadi valin (Val): GTG (alel V) pada posisi 127 (Zhang *et al.*, 1992).

Beberapa penelitian terdahulu menemukan gen GH sebagian besar bangsa sapi bersifat polimorfik dengan frekuensi alel L umumnya lebih tinggi dari

alel V, serta sifat polimorfik tersebut dilaporkan berhubungan dengan aspek pertumbuhan (Reis *et al.*, 2001; Grochowska *et al.*, 2001; Vasconcellos *et al.*, 2003; Schlee *et al.*, 1994^a; 1994^b; Chrenek *et al.*, 1998; Andrzej *et al.*, 2004; Moody *et al.*, 1996; Marshall dan Kim, 2000; Pal *et al.*, 2004), walaupun pola dan derajat hubungan tersebut tidak selalu sama diantara bangsa-bangsa sapi yang dilaporkan, bahkan ada pula yang tidak menemukan hubungan polimorfisme GH dengan aspek pertumbuhan (Kratochvilova *et al.*, 2000). Hanya beberapa bangsa sapi dilaporkan memiliki gen GH tidak polimorfik, seperti pada bangsa sapi Tharparkar (Biswas *et al.*, 2003), Nellore, Gyr dan Guzerath (Vasconcellos *et al.*, 2003).

Sapi Peranakan Ongole (*Bos indicus*) atau sapi PO, dalam 10 tahun terakhir ini banyak disilangkan dengan pejantan unggul bangsa Simmental (*Bos taurus*), dengan tujuan untuk menghasilkan bangsa sapi potong baru (SIMPO, Simmental x PO) yang lebih unggul sebagai sapi penghasil daging. Evaluasi aspek genetik pertumbuhan sapi silangan tersebut sangat diperlukan, sehingga kedepan praktek persilangan tersebut diharapkan menjadi lebih terarah. Penelitian ini bertujuan mengungkap polimorfisme gen GH pada populasi sapi SIMPO

* Korespondensi penulis utama : e-mail muinpa@yahoo.co.id

serta mempelajari hubungannya dengan sifat pertumbuhan.

Metode Penelitian

Sampel Darah dan Isolasi DNA

Sebanyak 62 pedet SIMPO yang dilahirkan dari 62 induk sapi PO dibawah tatalaksana pemeliharaan tradisional yang relatif seragam di wilayah Kabupaten Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta, digunakan sebagai materi dalam penelitian ini. Ke-62 pedet SIMPO tersebut diambil sampel darahnya dari *vena jugularis* (± 3 ml/ekor), kemudian ditampung dalam tabung steril berisi zat antikoagulan (K_3EDTA), dan dibawa ke Pusat Studi Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, untuk keperluan analisis DNA. Isolasi DNA genom dari sampel darah menggunakan metode ekstraksi *phenol-chloroform* (Sambrook *et al.*, 1989).

Amplifikasi DNA

Fragmen DNA spesifik gen GH sapi-sapi penelitian, berukuran 211 bp, merentang dari daerah *intron 4* (49 bp) ke *exon 5* (162 bp), diamplifikasi dengan sepasang primer, yaitu GHF (*forward*): 5'-GCTGCTCCTGAGGGCCCTTC-3', dan GHR (*reverse*): 5'-CATGACCCTCAGGTACGTCTCCG-3' (Reis *et al.*, 2001). Proses amplifikasi diawali dengan menambahkan 19 μ l dH₂O, 2 μ l larutan DNA (± 50 ng) dan sepasang primer masing-masing 2 μ l (16 pmol) ke dalam tabung 0,2 ml *Ready-To-GoTM PCR Bead* (Amersham Biosciences). Amplifikasi menggunakan mesin *Thermal Cycler*, dengan kondisi denaturasi awal 95°C selama 5 menit, dilanjutkan amplifikasi sebanyak 35 siklus dengan program setiap siklus sebagai berikut: denaturasi 95°C selama 30 detik, *annealing* 65°C selama 30 detik, ekstensi 72°C selama 30 detik. Tahap terakhir amplifikasi adalah ekstra ekstensi pada 72°C selama 5 menit.

Digesti Produk PCR

Produk PCR berupa hasil amplifikasi fragmen DNA spesifik (211 bp) dari gen GH, didigesti dengan enzim restriksi *AluI* (*Arthrobacter luteus*). Urutan sekuen dan tempat pemotongan *AluI* adalah 5'-AG|CT-3'. Proses digesti diawali dengan mencampur 10 μ l produk PCR, 2 μ l 10X L buffer dan 0,5 μ l enzim *AluI* (10 unit/ μ l) ke dalam tabung *ependorf* 1,5 ml, lalu ditambahkan dH₂O hingga 20 μ l. Campuran ini diinkubasi pada 37°C selama 2

jam. Produk digesti yang diperoleh dielektroforesis pada gel agarose 2% mengandung etidium bromida dalam bufer TBE. Produk digesti diambil 5 μ l dan dicampur 2 μ l *loading bufer*, lalu dimasukkan ke sumuran gel. *Running* gel dilakukan pada tegangan 100 volt selama 30 menit dengan melibatkan *marker* DNA. Hasil elektroforesis diperiksa di bawah sinar *ultraviolet*, lalu difoto dengan kamera polaroid.

Identifikasi Genotipe dan Sekuensing DNA

Identifikasi genotipe dilakukan dengan membandingkan pola pita hasil elektroforesis setiap sampel terhadap pita *marker* DNA. Pada GH sapi, genotipe VV ditunjukkan oleh satu pita: 211 bp, genotipe LV oleh tiga pita: 211 bp, 159 bp, dan 52 bp, dan genotipe LL oleh dua pita: 159 bp dan 52 bp (Reis *et al.*, 2001). Hasil identifikasi genotipe seluruh sampel, dihitung frekuensi alel dan genotipenya. Bila frekuensi alel terbanyak yang ditemukan tidak melebihi 0,99, maka gen tersebut dikategorikan sebagai gen polimorfik. Sekuensing DNA dilakukan terhadap alel-alel yang ditemukan dalam penelitian ini di Lembaga Biologi Molekuler Eijkman, Jakarta.

Pendataan Aspek Pertumbuhan

Pendataan bobot badan dilakukan pada pedet yang baru dilahirkan dalam kurun waktu tidak melebihi 24 jam, dan pada saat pedet berumur 2 bulan (60 hari), kemudian pertambahan bobot badan (g/hari) dihitung berdasarkan dua peubah tersebut. Selain itu dicatat pula jenis kelamin pedet dan paritas induknya.

Analisis Data

Efek genotipe terhadap pertumbuhan sapi penelitian dipelajari dengan analisis kovariansi; jenis kelamin dan paritas digunakan sebagai kovariabel. Pada variabel pertambahan bobot badan, selain jenis kelamin dan paritas, bobot lahir pedet digunakan juga sebagai kovariabel. Analisis data menggunakan prosedur *General Linear Model* pada program *MINITAB for Windows*.

Hasil dan Pembahasan

Identifikasi Genotipe GH

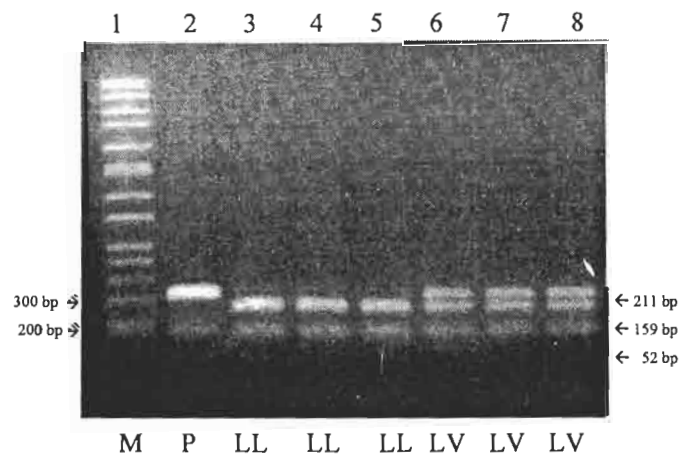
Fragmen DNA spesifik gen GH berukuran 211 bp yang mengandung daerah polimorfik, telah berhasil diamplifikasi dari DNA genom sapi-sapi penelitian menggunakan primer GHF dan GHR.

Hasil digesti terhadap produk PCR dengan *AluI* (5'-AG|CT-3') pada seluruh sampel menghasilkan dua macam alel: L dan V. Alel L ditunjukkan oleh berhasilnya *AluI* menemukan sekuen DNA yang dikenal disepanjang produk PCR dan berhasil memotongnya menjadi dua fragmen berukuran 159 bp dan 52 bp. Hasil sekuensing DNA (Tabel 1) memperlihatkan bahwa berhasilnya *AluI* menemukan sekuen yang dikenali ini disebabkan sekuen DNA tempat pemotongan tersebut tidak mengalami mutasi. Tidak adanya mutasi pada tempat pemotongan tersebut menunjukkan bahwa urutan kodon triplet yang terbentuk adalah CTG yang menyandi asam amino leusin (*Leu*) pada posisi 127 dari polipeptida GH (Woychick *et al.*, 1982). Sebaliknya, alel V ditunjukkan dengan gagalnya *AluI* menemukan sekuen DNA yang dikenali disepanjang produk PCR sehingga gagal memotongnya. Akibatnya ukuran produk PCR sebelum dan sesudah didigesti dengan *AluI* tetap sama, yaitu 211 bp. Tabel 1 memperlihatkan bahwa gagalnya *AluI* menemukan sekuen DNA yang dikenali disebabkan tempat pemotongan enzim tersebut mengalami mutasi dari nukleotida C menjadi G sehingga sekuen pemotongan berubah dari AGCT menjadi AGGT. Akibat mutasi ini menyebabkan urutan kodon triplet yang terbentuk menjadi GTG yaitu menjadi asam amino valin (*Val*) pada posisi 127 dari urutan polipeptida GH (Zhang *et al.*, 1992).

Sebagaimana diketahui bahwa gen GH pada sapi merupakan fragmen dari DNA genom dan tersimpan dalam kromosom yang terdapat dalam inti sel. Setiap sel tubuh individu eukariot (sapi) mengandung dua perangkat kromosom yang disebut diploid (2n). Bila *AluI* menemukan tempat pemotongan DNA pada kedua perangkat kromosom yang terdapat dalam produk PCR, maka keduanya akan dipotong sehingga menghasilkan dua alel L; individu demikian digolongkan bergenotipe LL (homosigot). Bila *AluI* menemukan tempat pemotongan DNA hanya pada salah satu dari dua perangkat kromosom yang terdapat dalam produk PCR, maka hanya kromosom yang memiliki tempat pemotongan *AluI* yang dipotong, sedangkan kromosom satunya yang tidak memiliki tempat pemotongan *AluI* tidak dipotong, sehingga menghasilkan satu alel L dan satu alel V; individu demikian digolongkan bergenotipe LV (heterosigot). Namun, bila *AluI* tidak menemukan sekuen DNA tempat pemotongan pada kedua perangkat kromosom dalam produk PCR, maka keduanya tidak

dipotong. Akibatnya perlakuan digesti tersebut menghasilkan dua alel V; individu demikian digolongkan bergenotipe VV (homosigot). Individu bergenotipe VV tidak ditemukan pada sapi-sapi penelitian ini. Gambar 1 memperlihatkan genotipe GH yang ditemukan pada sapi-sapi penelitian.

Hasil identifikasi genotipe GH terhadap 62 pedet SIMPO yang dilahirkan oleh induk sapi PO tersebut, ditemukan 40 pedet bergenotipe LL dan 22 pedet bergenotipe LV. Frekuensi alel L dan V yang ditemukan pada populasi sapi SIMPO penelitian sebesar 0,82 dan 0,18. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gen GH pada populasi sapi SIMPO penelitian bersifat polimorfik. Dalam penelitian terdahulu ditemukan bahwa sebagian besar (97,70%) sapi PO di wilayah Daerah Istimewa Yogyakarta bergenotipe LL, dan hanya 2,30% (1 ekor) yang bergenotipe LV (Mu'in *et al.*, 2006). Sedangkan dalam penelitian ini, sapi SIMPO ditemukan memiliki alel V dengan frekuensi yang cukup tinggi (0,18). Keadaan ini menunjukkan bahwa telah terjadi migrasi alel V yang mencolok dari *Bos taurus* pada sapi SIMPO. Berdasarkan kedua penelitian tersebut, maka diduga sebagian besar pejantan Simmental yang digunakan untuk membentuk sapi SIMPO adalah bergenotipe LV. Penelitian terdahulu menemukan frekuensi alel V pada sapi Simmental mencapai 0,18 (Regitano *et al.*, 2000 dalam Vasconcellos *et al.*, 2003) sampai 0,29 (Schlee *et al.*, 1994^b). Keberhasilan mengungkap sifat polimorfik gen GH pada bangsa sapi SIMPO ini berarti efeknya terhadap sifat-sifat pertumbuhan dapat dipelajari.



Gambar 1. PCR-RFLP *AluI* Gen GH Sapi SIMPO

Lajur 1 = *Marker* DNA (50 bp hingga 10.000 bp);
 lajur 2 = Produk PCR (211 bp);
 lajur 3, 4, dan 5 = Genotipe LL (159 bp dan 52 bp);
 lajur 6, 7, dan 8 = Genotipe LV (211 bp, 159 bp dan 52 bp).

Efek Genotipe GH terhadap Pertumbuhan

Rata-rata aspek pertumbuhan yang diamati (bobot lahir, bobot badan umur 2 bulan dan penambahan bobot badan harian) berdasarkan genotipe GH pedet SIMPO yang ditemukan dalam penelitian ini serta hasil analisis statistiknya, disajikan dalam Tabel 2. Berdasarkan analisis kovariansi, efek genotipe GH terhadap aspek pertumbuhan pedet SIMPO menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($P > 0,05$). Beberapa kemungkinan yang dapat dikemukakan sehubungan dengan ditemukannya perbedaan yang tidak signifikan tersebut adalah bahwa data aspek pertumbuhan sapi SIMPO secara langsung diperoleh di tingkat peternak, sehingga dimungkinkan ada faktor-faktor lain selain genotipe GH yang ikut berpengaruh terhadap aspek pertumbuhan. Beberapa

faktor non genetik yang dicurigai ikut berpengaruh terhadap aspek pertumbuhan, seperti jenis kelamin pedet dan paritas, dilibatkan dalam model statistika sebagai kovariabel sehingga data pertumbuhan yang diamati akan dikoreksi terhadap pengaruh variabel-variabel tersebut. Walaupun demikian, tidak menutup kemungkinan ada faktor lain yang luput atau sulit dieliminasi pada penelitian ditingkat peternak, misalnya faktor pakan, meski dalam penelitian ini telah dilakukan antisipasi terhadap munculnya keragaman dalam faktor pakan dengan menggunakan sapi-sapi penelitian milik peternak rakyat tradisional yang relatif sama dalam tatalaksana pemberian pakannya. Oleh karena itu, disarankan penelitian serupa perlu dilakukan pada tingkat stasiun percobaan.

Tabel 1. Urutan 211 bp nukleotida hasil sekuensing Alel L¹⁾ dan Alel V²⁾ pada gen GH sapi SIMPO

	5	15	25	35	45	55
Alel L →	GCTGCTCCTG	AGGGCCCTTC	GGCCTCTCTG	TCTCTCCCTC	CCTTGGCAGG	AGCTGGAAGA
Alel V →	GCTGCTCCTG	AGGGCCCTTC	GGCCTCTCTG	TCTCTCCCTC	CCTTGGCAGG	AGGTGGAAGA

	65	75	85	95	105	115
Alel L →	TGGCACCCCC	CGGGCTGGGC	AGATCCTCAA	GCAGACCTAT	GACAAATTTG	ACACAAACAT
Alel V →	TGGCACCCCC	CGGGCTGGGC	AGATCCTCAA	GCAGACCTAT	GACAAATTTG	ACACAAACAT

	125	135	145	155	165	175
Alel L →	GCGCAGTGAC	GACGCGCTGC	TCAAGAACTA	CGGTCTGCTC	TCCTGCTTCC	GGAAGGACCT
Alel V →	GCGCAGTGAC	GACGCGCTGC	TCAAGAACTA	CGGTCTGCTC	TCCTGCTTCC	GGAAGGACCT

	185	195	205			
Alel L →	GCATAAGACG	GAGACGTACC	TGAGGGTCAT	G		
Alel V →	GCATAAGACG	GAGACGTACC	TGAGGGTCAT	G		

¹⁾ Alel L mengandung nukleotida C pada urutan ke-53.

²⁾ Alel V mengandung nukleotida G pada urutan ke-53.

Tabel 2. Efek genotipe GH terhadap aspek pertumbuhan sapi SIMPO

Aspek Pertumbuhan	Genotipe		P
	LL	LV	
Bobot lahir (kg)	32,15 ± 3,97 (n=40)	34,36 ± 4,95 (n=22)	0,108
Bobot badan umur 60 hari (kg)	75,57 ± 10,29 (n=37)	78,50 ± 9,05 (n=22)	0,064
Petambahan bobot badan (g/hari)	670,80 ± 137,50 (n=37)	735,60 ± 94,00 (n=22)	0,187

P = Probabilitas

Terlepas dari alasan tersebut, data aspek pertumbuhan sapi SIMPO (Tabel 2), secara rata-rata memperlihatkan bahwa pedet bergenotipe LV memiliki pertumbuhan lebih tinggi dibandingkan pedet bergenotipe LL. Hasil penelitian senada juga pernah dilaporkan sebelumnya terhadap nilai pemuliaan pertambahan bobot badan pada pejantan Simmental (Schlee *et al.*, 1994^a), bobot badan pada pejantan Simmental (Chrenek *et al.*, 1998), bobot badan pada pejantan muda dari bangsa sapi Friesian (Andrzej *et al.*, 2004), pertambahan bobot badan sejak lahir hingga umur 180 hari pada sapi Hereford (Moody *et al.*, 1996), dan konsentrasi GH dalam plasma darah pada sapi muda bangsa Polish Friesian (Grochowska *et al.*, 2001). Walaupun ada beberapa peneliti lain menemukan sapi genotipe LL memiliki performans pertumbuhan lebih baik dibandingkan sapi bergenotipe LV, seperti yang dilaporkan Schlee *et al.* (1994^b) bahwa sapi GBW (*German Black and White*) jantan, sapi BTB (*Baharian and Tyrolean Brown*) dan sapi Simmental jantan yang bergenotipe LL memiliki konsentrasi GH lebih tinggi dibandingkan yang bergenotipe LV. Pengamatan Marshall dan Kim (2000) terhadap polimorfisme gen GH pada pedet-pedet hasil silangan Angus x Hereford, Simmental x Hereford, dan Tarentaise x Hereford, juga menunjukkan hasil yang berbeda dengan penelitian ini ternyata ditemukan hubungan bobot sapih pedet dengan jumlah alel L. Pal *et al.* (2004) juga menemukan bahwa bobot lahir, bobot badan umur 3 bulan dan pertambahan bobot badan harian pedet Karan Fries jantan bergenotipe LL secara signifikan lebih tinggi dibandingkan sapi bergenotipe LV. Dilain pihak, Kratochvilova *et al.* (2000) tidak menemukan hubungan antara polimorfisme gen GH dengan pertumbuhan pada sapi Holstein. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu dan juga hasil penelitian ini menunjukkan bahwa belum didapat kesepakatan untuk merekomendasikan secara tegas hubungan polimorfisme gen GH pada sapi dengan aspek pertumbuhannya. Kedepan, perlu dikaji pula kemungkinan adanya interaksi antara bangsa, genotipe GH dan kondisi lingkungan pemeliharaan sapi.

Kesimpulan

Polimorfisme gen GH ditemukan pada bangsa sapi silangan Peranakan Ongole dan Simmental (SIMPO). Pedet SIMPO bergenotipe LV cenderung memiliki pertumbuhan lebih tinggi dibandingkan pedet bergenotipe LL.

Daftar Pustaka

- Andrzej, MAJ., O.P.D. Jolanta, O.P.D. Artur, D.Y. Edward and Z.W. Lech, 2004. Polymorphism in the 5'-noncoding region of the bovine growth hormone receptor gene and its association with meat production traits in cattle. *Animal Res.* 53: 503-514.
- 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-Australian Journal Animal Science* 16(4): 494-497.
- Chrenek, P., J. Kmet, T. Sakowski, T. Vasicek, J. Huba and J. Chrenek, 1998. Relationships of growth hormone genotype with meat production traits of Slovak Pied Bulls. *Czech Journal Animal Science* 43(12): 541-544.
- Gordon, D.F., D.P. Quick, C.R. Erwin, J.E. Donelson and R.A. Maurer, 1983. Nucleotide sequence of the bovine growth hormone chromosomal gene. *Molecular and Cellular Endocrinology* 33(1): 81-95.
- 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. *Journal Animal Science* 79: 450 - 476.
- Hediger, R., S.E. Johnson, W. Barendse, R.E. Drinkwater, S.S. Moore and J. Hetzel, 1990. Assignment of the GH gene locus to 19q26qter in cattle and to 11q25qter in sheep by in situ hybridization. *Genomic* 8: 171-174.
- Kratochvilova, M., F. Nesper and F. Urban, 2000. *AluI* growth hormone gene polymorphism, lifetime growth parameters and milk production in Holstein cattle. *51st Annual meeting of the European Association for Animal Production (21-24 August 2000)*, The Hague, The Netherlands.
- Lucy, M.C., S.D. Hauser, P.J. Eppard, G.G. Krivi and R.J. Collier, 1991. Genetic polymorphism within the bovine somatotropin (bST) gene detected by polymerase chain reaction and endonuclease digestion. *Journal Dairy Science* 74 (Suppl.1): 284 (Abstr.).
- Marshall, D.M. and J. Kim, 2000. Associations of beef production traits with polymorphism in the growth hormone gene and insulin-like growth factor-I gene. http://ars.sdstate.edu/BeefExt/BeefReport/2000/ascbeef_production.htm. [16 Mei 2004].

- Moody, D.E., D. Pomp, S. Newman and M.D. MacNeil, 1996. Characterization of DNA polymorphism in three populations of Hereford cattle and their associations with growth and maternal EPD in line 1 Hereford. *Journal Animal Science* 74: 1784-1793.
- Mu'in, M.A., M. Astuti, Muladno, T.W. Murti, and W.T. Artama, 2006. Polymorphism of growth hormone gene in Indonesian cattles. In: *Animal Production and Sustainable Agriculture in the Tropic. Proceedings of The 4th International Seminar on Tropical Animal Production*. November 8-9, 2006. Faculty of Animal Science, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia. 84-89.
- Pal, A., A.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-Australian Journal Animal Science*. 17(10): 1334-1337.
- Reis, C., D. Navas, M. Pereira and A. Cravador, 2001. Growth hormone *AluI* polymorphism analysis in eight Portuguese bovine breeds. *Arch. Zootec.* 50: 41-48.
- Sambrook, J., Fritsch and T. Maniatis, 1989. *Molecular Cloning Laboratory Manual*. Second Edition, Vol. 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press. USA.
- Schlee, P., R. Graml, O. Rottmann and F. Pirchner, 1994^a. Influence of growth hormone genotypes on breeding values of Simmental bulls. *Journal Animal Breed Genet* 111: 253-256.
- Schlee, P., R. Graml, E. Schallenberger, D. Schams, O. Rottmann, A. Olbrich-Bludau and F. Pirchner, 1994^b. Growth hormone and insulin-like growth factor I concentrations in bulls of various growth hormone genotypes. *Theor Appl Genet*. 88:497-500.
- Sellier, P., 2000. Genetically caused retarded growth in animals. *Domestic Animal Endocrinol.* 19: 105-119.
- Vasconcellos, L.P.M.K., D.T. Talhari, A.P. Pereira, L.L. Coutinho, L.C.A. Regitano, 2003. Genetic characterization of Aberdeen Angus cattle using molecular markers. <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttex&pid=S14154572003000200005&Ing=en&nrm=iso>. [3 Oktober 2003].
- Woychick, R.P., S.A. Camper, R.H. Lyons, S. Horowitz, E.C. Goodwin and F.M. Rottman, 1982. Cloning and nucleotide sequencing of the bovine growth hormone gene. *Nucleic Acids Research* 10 (22): 7197-7210.
- Zhang, H.M., D.R. Brown, S.K. Denise and R.L. Ax, 1992. Nucleotide sequence determination of a bovine somatotropin allele. *Animal Genet.* 23: 578.