

Verifikasi Kontrol Gen Kappa Kasein pada Protein Susu Sapi Friesian-Holstein di Daerah Sentra Produksi Susu Jawa Barat

ANNEKE ANGGRAENI¹, C. SUMANTRI², A. FARAJALLAH³ dan E. ANDREAS⁴

¹Balai Penelitian Ternak, PO Box 221 - Bogor 16002; balitnak@indo.net.id

²Fakultas Peternakan - Institut Pertanian Bogor

³Fakultas MIPA - Institut Pertanian Bogor

⁴Pascasarjana, Fakultas Peternakan - Institut Pertanian Bogor

(Diterima dewan redaksi 3 Pebruari 2009)

ABSTRACT

ANGGRAENI, A., C. SUMANTRI, A. FARAJALLAH and E. ANDREAS. 2009. Verification for the control of kappa-casein gene on milk protein yield of friesian-holstein in dairy central region of West Java. *JITV* 14(2): 131-141.

Genotype of BB kappa casein (κ -casein) gene positively influences high milk protein yield. The aim of this research was to verify the use of the κ -casein gene as marker of assisted selection (MAS) of high protein yield in domestic Holstein-Friesian (HF) cattle. Genotyping blood samples was conducted for lactating cows from BPPT-SP Cikole (82 head) and a number of small holders in KPSBU Lembang (190 head). Genotyping the κ -casein gene was also conducted for active and non active AI bulls (HF) from BIB Lembang (25 head) and BBIB Singosari (32 head). Variant genotypes were identified through DNA migration, whereas frequencies of alleles were calculated by Nei Method (1987). The effects of variant genotypes on protein yield and other milk component yields were studied in lactating cows (56 head in BPPT-SP Cikole and 111 head in KPSBU Lembang) by applying Least Square Means (LSM) method of the General Linear Model (GLM). Genotyping the κ -casein gene resulted in three genotypes, namely AA, AB and BB, with two alleles, namely A and B. It was identified that a very limited number of lactating cows with BB genotype (0-9%). These cows produced higher protein yield around 3.37-3.84% than that of AA cows, while AB cows produced protein yield in between, though these differences were not statistically significant ($P>0,05$). In contrast, AA cows tended to produce higher milk fat yield than BB cows. Cows BB and AB seemingly produced higher dry matter, while both specific density and pH were not affected by variant genotypes of the κ -casein gene. The results showed that BB genotype of the κ -casein gene tended to be quite consistent in controlling high protein yield, so it would be a good opportunity to be used as MAS of milk protein yield in HF domestic.

Key words: Protein Yield, Dairy Cattle (HF), κ -Casein Gene, Genotype BB

ABSTRAK

ANGGRAENI, A., C. SUMANTRI, A. FARAJALLAH dan E. ANDREAS. 2009. Verifikasi kontrol gen kappa kasein pada protein susu sapi Friesian-Holstein di daerah Sentra Produksi Susu Jawa Barat. *JITV* 14(2): 131-141.

Genotipe BB gen kappa kasein (κ -kasein) berpengaruh positif terhadap kadar protein susu. Penelitian ini bertujuan memverifikasi penggunaan gen κ -kasein sebagai marka seleksi kadar protein susu pada sapi Friesian-Holstein (FH) di dalam negeri. Dilakukan genotyping sampel darah sapi laktasi dari stasiun bibit BPPT-SP Cikole (82 ekor) dan sejumlah peternak di KPSBU Lembang (190 ekor). Sampel darah pejantan FH aktif dan non aktif di BIB Lembang (25 ekor) dan BBIB Singosari (32 ekor) juga digenotyping. Variasi genotipe diidentifikasi dari migrasi pita DNA, sedangkan frekuensi alel dihitung dengan rumus Nei. Pengaruh variasi genotipe terhadap kadar protein susu dan kualitas susu lainnya diperiksa pada sapi laktasi (56 ekor di BPPT-SP Cikole dan 111 ekor di KPSBU Lembang) menerapkan Metode Rataan Kuadrat Terkecil (RKT) dari Model Linier Umum. Genotyping gen κ -kasein menghasilkan tiga genotipe, yaitu AA, AB dan BB, dengan dua variasi alel, yaitu A dan B. Teridentifikasi sangat sedikit sapi laktasi pengamatan bergenotipe BB (0-9%). Sapi genotipe BB menghasilkan kadar protein susu lebih unggul terhadap AA sekitar 3,37-3,84%, sedangkan sapi AB memproduksi protein susu diantaranya, meski perbedaan secara statistik tidak nyata ($P>0,05$). Sebaliknya, sapi AA cenderung menghasilkan kadar lemak susu lebih tinggi terhadap sapi BB. Genotipe BB (dan AB) juga bertendensi dengan kadar bahan kering lebih tinggi dibandingkan AA, sedangkan BJ dan pH susu tidak dipengaruhi variasi genotipe. Hasil mengindikasikan genotipe BB dari gen κ -kasein cukup konsisten mengontrol kadar protein susu tinggi, sehingga memberi peluang dipakai sebagai marka seleksi protein susu dari sapi perah FH domestik.

Kata Kunci: Kappa Kasein, Genotipe BB, Protein Susu, Sapi Perah (FH)

PENDAHULUAN

Perkembangan Industri Persusuan Sapi Perah Nasional sudah berjalan lebih dari dua dekade.

Meskipun demikian, produksi susu segar di dalam negeri baru memenuhi sekitar 30% kebutuhan nasional. Selama lima tahun terakhir, laju konsumsi susu

masyarakat sudah mencapai sebesar 7,74% per tahun (DITJENNAK, 2007). Kedepannya, kebutuhan tersebut akan semakin meningkat, disebabkan pertambahan penduduk dan kesejahteraan masyarakat. Agar Industri Persusuan Nasional berkembang prospektif, baik produksi maupun kualitas susu harus ditingkatkan. Untuk itu diperlukan aplikasi teknologi tepat guna dalam menghasilkan sapi perah bibit yang lebih adaptif dan lebih produktif, sehingga dapat memacu peningkatan populasi dan perbaikan produktivitas sapi perah (FH) domestik.

Pada saat ini, konsumen susu sapi perah lebih menghargai susu atas dasar volume, kadar bahan kering tanpa lemak (BKTL), kadar lemak dan *total plate count* (TPC). Selaras dengan berkembangnya selera konsumen terhadap berbagai produk susu berkualitas, di masa mendatang, kadar protein susu diperkirakan akan menjadi salah satu sifat bernilai ekonomis penting. Selain itu, dengan bertambahnya jumlah generasi muda, balita dan anak sekolah, akan berdampak langsung pada meningkatnya kebutuhan susu berprotein tinggi. Untuk mengantisipasi permintaan pasar yang berkembang lebih kearah produksi susu berkadar protein tinggi, dari segi budidaya diperlukan pejantan (FH) unggul dalam pewarisan protein susu, disamping sapi betina bibit berkemampuan produksi protein susu tinggi.

Salah satu kendala utama dalam melakukan seleksi sapi perah bibit dengan sifat unggul produksi susu adalah proses seleksi memerlukan berbagai tahapan kompleks dan membutuhkan waktu yang lama. Sebaliknya, seleksi keunggulan kadar protein susu menggunakan marka gen kasein mengikuti prosedur seleksi lebih sederhana dan keunggulan ternak bisa dilacak secara lebih dini. Ini dimungkinkan karena protein susu sebagian besar (sekitar 78-82%) berupa kasein yang dikontrol oleh empat lokus saling berdekatan (haplotipe), dengan runutan genom α_{s1} -, β -, α_{s2} -, dan κ -kasein pada panjang 250 pb terletak di kromosom 6/BTA 6q31 (FERRETTI *et al.*, 1990; THREADGILL dan WOMACK, 1990; dan RIJNKELS *et al.*, 1997). Keterkaitan lokasi yang sangat dekat antara keempat gen kasein dan diwariskan lebih sebagai klaster, menjadikannya potensial untuk dieksplorasi sebagai marka pembantu seleksi sifat protein susu dan kualitas susu (LIEN dan ROGNE, 1993; AZEVEDO *et al.*, 2008).

Gen kappa kasein atau κ -kasein (CSN3) secara spesifik terletak di wilayah 95-120 pb dibawah α_{s2} -kasein dan sekitar 200 pb dari α_{s1} -kasein (RIJNKELS *et al.*, 1997). Gen ini memiliki 169 asam amino dengan 5 wilayah exon terdistribusi sepanjang 13 pb pada genom sapi (MARTIN *et al.*, 2002). Gen κ -kasein menyusun sekitar 25% dari fraksi kasein susu sapi perah (LIEN dan ROGNE, 1993). Sampai saat ini diketahui ada sembilan varian alel (A, B, C, E, F, G, H, I dan A₁) dari gen κ -kasein (SORIA *et al.*, 2003). Meskipun demikian dua

varian alel, yaitu alel A dan B, umum ditemukan pada sapi perah *Bos taurus* (SWAISGOOD, 1992; BEATA *et al.*, 2008). Alel A dan B memiliki perbedaan asam amino pada kodon 136 dan 148. Alel A menjadi alel B jika asam amino *threonine* digantikan *isoleucine* pada kodon 136, sedangkan *aspartic acid* digantikan *alanine* pada kodon 148 (PINDERS *et al.*, 1991). Kedua mutasi titik tersebut relatif berdekatan dengan beberapa *glycosylation sites* dan kemungkinan mempengaruhi struktur protein dan *glycosylation patterns* (FOX, 1992).

Banyak studi mempertimbangkan secara bersamaan pengaruh dua atau lebih haplotipe gen kasein terhadap sifat kualitas susu, terutama untuk kadar protein susu, baik berdasarkan tampilan fenotipe induk maupun nilai pemuliaan induk dan pejantan (BOBE *et al.*, 1999; BOETTCHER *et al.*, 2004). Pemeriksaan dua atau lebih gen kasein secara bersamaan bermanfaat bisa memperhitungkan pengaruh interaksi yang mungkin terjadi antara dua atau lebih gen haplotipe. Perlunya memperhitungkan interaksi antara lokus berbeda baik antara gen-gen kasein maupun gen-gen protein susu (kasein dan whey protein) telah direkomendasikan. Berkaitan dengan hal ini, sejumlah studi mencatat komposit empat gen protein susu (α_{s1} -kasein, β -kasein, κ -kasein dan β -laktoglobulin) berpengaruh langsung pada kualitas susu terutama kadar protein susu sapi perah (MCLEAN *et al.*, 1984; VELMALA *et al.*, 1995; IKONEN *et al.*, 1999, TSIARAS *et al.*, 2005).

Investigasi lebih spesifik pada dua atau lebih haplotipe gen kasein (genotipe α_{s1} -, β -, α_{s2} -, dan κ -kasein), menunjukkan signifikansi pengaruhnya terhadap komposisi dan kadar protein susu sapi perah. Pengamatan OJALA *et al.* (1997) terhadap sifat laktasi pertama sapi Holstein (916 ekor) dan Jersey (116 ekor) misalnya, mendapatkan sapi dengan haplotipe tipe-1 (κ -kasein genotipe AB, β -kasein genotipe A₁A₂ dan α_{s1} -kasein genotipe BB) menghasilkan baik produksi susu maupun protein susu lebih tinggi dibandingkan dengan sapi dengan haplotipe tipe-2 (κ -kasein genotipe AA, β -kasein genotipe A₁A₂ dan α_{s1} -kasein genotipe BB) dan haplotipe tipe-3 (κ -kasein genotipe AB, β -kasein genotipe A₁A₁ dan α_{s1} -kasein genotipe BB).

Mempertimbangkan kesederhanaan identifikasi gen protein susu dalam aplikasi praktis sebagai marka pembantu seleksi kadar protein susu dan kualitas susu, telah dipelajari pula konsistensi kontrol gen kasein (dan protein susu) secara individual. NG-KWAI-HANG *et al.* (1986) memeriksa pengaruh setiap gen α_{s1} -kasein (CSN_{1S1}), β -kasein (CSN₂), κ -kasein (CSN₃), α -laktalbumin (LAA) dan β -laktoglobulin (LGB) terhadap produksi dan kualitas susu sapi FH. Hasil menunjukkan pengaruh nyata (P<0,01) varian genetik individual gen α , S₁-, β -, κ -kasein dan β -laktoglobulin terhadap produksi dan komposisi susu sapi perah. Pemeriksaan pengaruh haplotipe dari varian genotipe gen κ -kasein dan β -laktoglobulin pada nilai pemuliaan komponen

susu sapi pejantan oleh MATĚJČEK *et al.* (2007) juga memberi hasil mendukung, dengan kombinasi genotipe BBAB menghasilkan nilai pemuliaan tertinggi untuk kadar protein susu (+0,15%) dan kadar lemak susu (+0,55%).

Pemeriksaan intensif mengenai berapa besar kontribusi varian genotipe dari gen κ -kasein dalam mempengaruhi protein dan kualitas susu membawa pada konsensus umum bahwa diperoleh pengaruh langsung polimorfisme gen ini pada kadar protein susu. BOVENHUIS *et al.* (1992) misalnya, melaporkan varian genotipe κ -kasein sangat signifikan ($P < 0,001$) mempengaruhi kadar protein susu, dengan sapi induk bergenotipe BB menghasilkan protein 0,08% lebih tinggi terhadap genotipe AA. Keeratan hubungan genotipe κ -kasein dengan kadar protein kasar dan kasein susu adalah berurutan pada genotipe BB>AB>AA, dengan induk BB dan AA memiliki perbedaan kadar protein sekitar + 0,1-0,2 per 100 g (NG-KWAI-HANG *et al.*, 1990). Pengamatan lain juga mencatat korelasi langsung antara genotipe BB (vs genotipe AA) dengan keunggulan kadar protein susu (LITWIŃCZUK *et al.*, 2006; MOLINA *et al.*, 2006). Meningkatnya kadar protein ini dikarenakan adanya penambahan kadar kasein dan jumlah kasein (FITZGERALD, 1997; NG-KWAI-HANG, 1998). Genotipe BB dari gen κ -kasein juga memberi hasil lebih baik terhadap proses dan hasil olahan susu, seperti pemendekan waktu pembentukan rennet dan kehalusan produksi keju (NG-KWAI-HANG, 1998; VERDIER-METZ *et al.*, 2001; KÜBARSEPP *et al.*, 2005; BEATA *et al.*, 2008). Hal ini tentunya akan berdampak pada nilai ekonomi pada hasil olahan susu seperti keju, dikarenakan kasein memegang peran penting dalam rangkaian proses olahan susu menjadi sejumlah produk yang lebih disukai konsumen.

Dalam upaya mengetahui konsistensi genotipe BB gen κ -kasein mengontrol kadar protein susu sapi perah domestik, telah dilakukan pengujian awal pada 249 ekor sapi FH laktasi di BPTU Baturraden, Purwokerto (SUMANTRI *et al.*, 2005). Hasil menunjukkan genotipe κ -kasein berpengaruh langsung pada protein susu. Berdasarkan klasifikasi tiga nilai pemuliaan (NP) kadar uji harian protein susu, diketahui sapi induk dengan genotipe BB dan AB mempunyai frekuensi pemunculan tinggi (0,64) pada klasifikasi NP protein tinggi, sedangkan pada klasifikasi NP kadar protein sedang didominasi oleh sapi dengan genotipe AB (0,59). Sebaliknya pada klasifikasi NP protein rendah, genotipe AA mempunyai frekuensi sangat tinggi (0,80) jika dibandingkan terhadap sapi dengan genotipe BB (0,20) dan AB (0,00). Hasil memperlihatkan pengaruh langsung varian genotipe dari gen κ -kasein terhadap kadar protein susu, dengan genotipe BB mengontrol kadar protein susu tinggi sapi FH.

Mengingat apa yang sudah disampaikan bahwa protein susu diperkirakan akan menjadi komponen penting dalam penentuan harga susu, maka untuk memilih sapi perah unggul kadar protein susu, diperlukan kegiatan verifikasi kontrol gen κ -kasein pada protein susu. Dengan demikian kegiatan penelitian ini bertujuan memverifikasi kontrol gen κ -kasein pada protein susu dan sejumlah kualitas susu pada sapi FH laktasi pada dua sistem pemeliharaan berbeda, yaitu semi intensif di peternakan rakyat dan intensif di stasiun bibit sapi perah di Jawa Barat.

MATERI DAN METODE

Verifikasi kontrol gen κ -kasein terhadap kadar protein susu dan sejumlah kualitas susu lainnya dilakukan pada sapi FH laktasi pada daerah sentra produksi sapi perah, di Kabupaten Lembang, Jawa Barat. Studi dilakukan pada dua kondisi pemeliharaan berbeda. Lokasi pertama adalah Unit Pembibitan Ternak Daerah (UPTD) Balai Pengembangan Pembibitan Sapi Perah (BPPT-SP) Cikole, Lembang. Pemeliharaan sapi dilakukan dalam skala besar menerapkan manajemen intensif. Lokasi kedua adalah sejumlah peternak rakyat dari desa Cilumber dan Desa Pasar Kemis, Kecamatan Cilumber, Lembang dibawah binaan Koperasi Susu Bandung Utara (KPSBU), Lembang. Pemeliharaan sapi umum dilakukan dalam skala kecil menerapkan manajemen semi-intensif.

Koleksi sampel darah dilakukan terhadap sapi FH laktasi sejumlah 82 ekor di BPPT-SP Cikole dan 190 ekor di KPSBU Lembang, yaitu peternak di desa Cilumber (98 ekor) dan desa Pasar Kemis (92 ekor), Kecamatan Lembang. Penelitian juga melakukan genotyping gen κ -kasein dari sampel darah pejantan aktif dan non aktif IB sebanyak 25 ekor dari BIB Lembang dan 32 ekor di BBIB Singosari. Tujuannya untuk memperoleh informasi lebih lengkap tentang sumbangan pejantan IB terhadap frekuensi genotipe dan alel dari gen κ -kasein pada sapi FH betina.

Sampel susu dikoleksi berdasarkan uji satu hari dengan menjumlahkan produksi pagi dan sore dari sapi laktasi dalam kisaran bulan laktasi antara 1- \geq 6 bulan dan periode laktasi antara 1- \geq 5. Hasil genotyping gen κ -kasein dari sampel darah, menunjukkan sangat sedikit sapi bergenotipe BB, di BPPT-SP Cikole ada 4 ekor dan KPSBU Lembang ada 6 ekor, sehingga diperoleh proporsi genotipe BB masing-masing 4,85% dan 6,11%. Oleh karenanya pemeriksaan pengaruh varian genotipe terhadap kadar protein dan kualitas susu lainnya melibatkan semua sapi laktasi genotipe BB, tetapi mengurangi sapi *genotipe* AB dan AA. Dengan demikian jumlah akhir sapi laktasi ketiga genotipe BB, AB dan AA yang dipakai dalam pengamatan akhir berurutan 11, 118 dan 40 ekor.

Tahapan kegiatan *genotyping* secara ringkas meliputi ekstraksi DNA dari sampel darah (SAMBROOK *et al.*, 1989), amplifikasi fragmen κ -kasein DNA dengan teknik PCR, identifikasi alel dengan memotong produknya PCR dengan enzim Pst I (PCR-RFLP) (SUMANTRI *et al.*, 2005), serta menghitung frekuensi gen κ -kasein (NEI, 1987).

Analisis data

Keragaman genotipe tiap-tiap individu dapat ditentukan dari pita-pita DNA gen yang ditemukan. Masing-masing fragmen DNA dibandingkan panjangnya terhadap panjang DNA yang bersesuaian (marka), kemudian dihitung frekuensi alelnya. Frekuensi alel dihitung berdasarkan rumus NEI (1987):

$$X_i = (2n_{ii} + n_{ij}) / (2n)$$

Keterangan:

X_i = frekuensi alel ke-i

n_{ii} = jumlah individu yang bergenotipe ii

n_{ij} = jumlah individu yang bergenotipe ij

n = jumlah sampel

Kadar protein diuji menggunakan cara titrasi formol, p yaitu banyaknya NaOH yang terpakai untuk titrasi sampel (susu) dan q yaitu banyaknya NaOH yang terpakai untuk titrasi blanko. Demikian pula dianalisis kadar lemak, total bahan kering (BK), total bahan kering tanpa lemak (BKTL) dan berat jenis (BJ) dari sapi pengamatan di BPPT-SP Cikole dan KPSBU Lembang. Lebih jauh, dilakukan uji pH susu pada sapi laktasi di BPPT-SP Cikole.

Kadar protein dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Protein} = (p - q) \text{ ml} \times 1,7 \text{ (faktor formol)}$$

Untuk mengeliminasi pengaruh signifikan dari bulan laktasi dan periode laktasi terhadap setiap komponen susu, diperiksa pengaruh bulan laktasi dilanjutkan periode laktasi di masing-masing lokasi BPPT-SP Cikole dan KPSBU Lembang. Pemeriksaan pengaruh bulan laktasi ($1 \geq 6$ bulan) menerapkan persamaan regresi linier dan kuadrat dengan bulan laktasi sebagai prediktor dari kualitas susu. Apabila pengaruh bulan laktasi nyata ($P < 0,05$), dikembangkan faktor standarisasi perbedaan bulan laktasi berdasarkan persamaan regresi yang bersesuaian. Pemeriksaan pengaruh periode laktasi terhadap setiap komponen susu mengikuti tahapan prosedur yang sama dengan pengaruh bulan laktasi.

Pengaruh varian genotipe AA, AB dan BB pada kadar protein susu dan setiap komponen susu lainnya, setelah distandarisasi terhadap perbedaan tahap laktasi dan periode laktasi, dianalisis dengan metoda Rataan Kuadrat Terkecil menerapkan Model Linier Umum bagi data tidak berimbang. Analisis dilakukan untuk BPPT-

SP Cikole, KPSBU Lembang dan kedua lokasi. Untuk lokasi gabungan, maka faktor tetap yang dipertimbangkan meliputi bulan laktasi ($1 \geq 6$ bulan), periode laktasi ($1 \geq 5$), tipe genotipe (AA, AB dan BB) dan lokasi (BPPT-SP Cikole dan KPSBU Lembang). Pemeriksaan untuk setiap lokasi bertujuan memperhitungkan kemungkinan adanya pengaruh perbedaan manajemen dan pemberian pakan di BPPT-SP Cikole dan KPSBU Lembang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

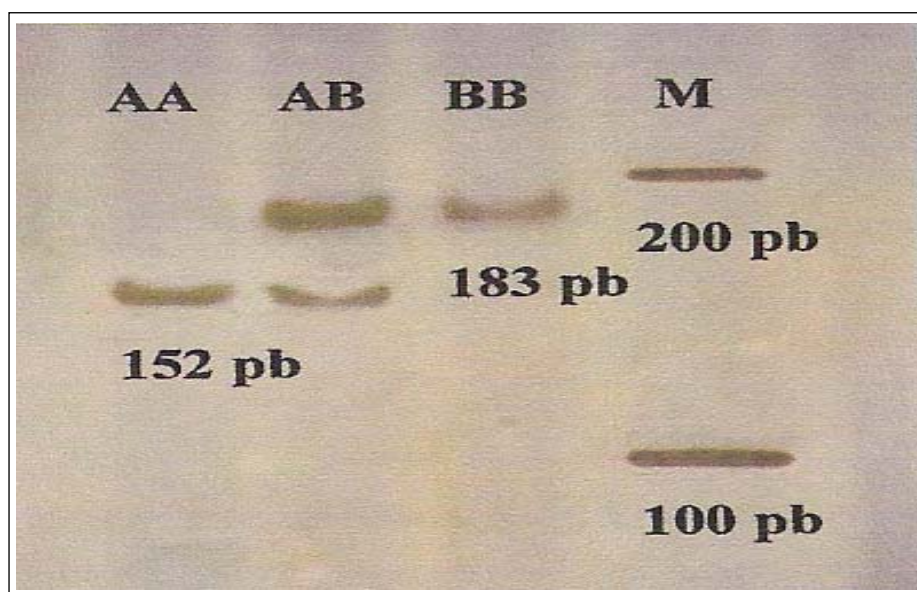
Varian genotipe gen Kappa Kasein

Sampel darah sapi FH betina laktasi yang dikoleksi dari stasiun bibit BPPT SP Cikole (82) dan peternak rakyat di desa Pasar Kemis (92) dan desa Cilumber (98), KPSBU Lembang, dengan jumlah keseluruhan 272 sampel, semuanya berhasil di *genotyping*. Gen κ -kasein genotipe homozigot AA dan BB ditunjukkan pola monomerik (pita tunggal) dengan alel B berukuran 200 pb (pasangan basa) sedangkan A lebih kecil dari 200 pb dan genotipe heterozigot AB ditunjukkan oleh pola dimerik (dua pita) (Gambar 1).

Tabel 1 menunjukkan sapi laktasi dengan genotipe BB di peternak baik dari desa Cilumber (6%) maupun Pasar Kemis (2%) sangat rendah. Demikian pula sapi laktasi di stasiun bibit BPPT-SP Cikole memiliki frekuensi genotipe BB rendah, hampir sama dengan di peternak Cilumber (5% vs 6%). Keterbatasan sapi laktasi tipe BB, menyebabkan rendahnya frekuensi genotipe BB dibandingkan dengan AB dan AA. Frekuensi genotipe BB diperoleh sebesar 4,1%, jauh lebih sedikit dibandingkan dengan frekuensi AB (69,9%) ataupun AA (25,7%). Kondisi tersebut menjadi suatu indikasi awal akan terbatasnya sapi FH betina bergenotipe BB di sejumlah sentra produksi sapi FH di Jawa Barat.

Perolehan hasil penelitian ini sangat berbeda jika dibandingkan dengan hasil penelitian sapi FH laktasi di BPTU Baturraden yang dilakukan pada tahun 2005, yang mendapatkan individu bergenotipe BB sekitar 26% (SUMANTRI *et al.*, 2005). Fenomena rendahnya genotipe BB dari sapi laktasi baik di peternak maupun di stasiun bibit pada hasil penelitian ini kemungkinan disebabkan hampir semua pejantan yang dipakai IB (pejantan aktif IB) memiliki genotipe AA dan AB. Sebaliknya, cukup tinggi genotipe BB di BPTU Baturraden disebabkan sapi FH laktasi dalam studi terdahulu adalah sapi eksimpot dan keturunannya dari Australia dan New Zealand.

Tabel 2 mengilustrasikan bahwa dari semua pejantan yang dipakai aktif IB sebanyak 23 ekor di BBIB Singosari, hanya satu ekor pejantan (4,35%) yang bergenotipe BB. Bahkan di BIB Lembang semua



Gambar 1. Hasil elektroforesis gen κ -kasein produk (PCR-RFLP) Pst 1 pada 1% akrilamida No.1 AA, 2 AB, 3 BB dan N0.4 Marka 100 pb ladder (M)

Tabel 1. Frekuensi genotipe dan alel dari gen κ -kasein sapi laktasi Friesian-Holstein berdasarkan lokasi

Lokasi dan jumlah sampel	Frekuensi genotipe			Frekuensi alel	
	AA	AB	BB	A	B
Peternakan Rakyat Cilumber (98)	0,32 (31)	0,62 (61)	0,06 (6)	0,63	0,37
Peternakan Rakyat Pasar Kemis (92)	0,34 (31)	0,64 (59)	0,02 (2)	0,66	0,34
Sub Total (190)	0,33 (62)	0,63 (120)	0,04 (8)	0,64	0,36
BPPT-SP Cikole (82)	0,10 (8)	0,85 (70)	0,05 (4)	0,52	0,48
Total (272)	0,25 (70)	0,70 (190)	0,04 (12)	0,61	0,39

Keterangan: Angka dalam kurung adalah jumlah sampel

Tabel 2. Frekuensi genotipe dan alel dari gen κ -kasein pada pejantan aktif IB dan calon pejantan IB di BIB Lembang dan BBIB Singosari

Lokasi (jumlah ternak)	Frekuensi genotipe (%)			Frekuensi alel (%)	
	AA	AB	BB	A	B
BIB Lembang					
Pejantan aktif (10)	0,60 (6)	0,40 (4)	0,00 (0)	0,80	0,20
Pejantan <i>progeny test</i> (15)	0,56 (8)	0,33 (5)	0,13 (2)	0,70	0,30
Sub total (25)	0,56 (14)	0,36 (9)	0,08 (2)	0,74	0,26
BBIB Singosari					
Pejantan aktif (23)	0,17 (4)	0,78 (18)	0,04 (1)	0,57	0,43
Pejantan <i>progeny test</i> (9)	0,22 (2)	0,56 (5)	0,22 (2)	0,50	0,50
Sub total (32)	0,19 (6)	0,72 (23)	0,09 (3)	0,55	0,45
Total keseluruhan	0,35 (20)	0,56 (32)	0,09 (5)	0,63	0,37

Keterangan: Angka dalam kurung adalah jumlah sampel

pejantan aktif IB sebanyak 10 ekor, tidak satupun bergenotipe BB (0%). Dengan demikian, total frekuensi alel B dari gen κ -kasein pada pejantan sebetulnya cukup besar baik di BBIB Singosari (0,45) maupun di BIB Lembang (0,26). Meskipun demikian, hampir semuanya dimiliki oleh pejantan kandidat yang belum dipakai dalam kegiatan IB, sehingga belum memberi kontribusi secara signifikan dalam meningkatkan frekuensi genotipe BB dari sapi laktasi yang diamati.

Varian alel gen kappa kasein

Dengan teridentifikasi tiga varian genotipe AA, AB dan BB dari sapi-sapi FH jantan dan betina yang digenotyping gen κ -kasein, maka sapi-sapi tersebut hanya memiliki dua alel, yaitu A dan B (Tabel 1 dan 2). Variasi genetik antara alel A dan B pada gen κ -kasein muncul karena adanya mutasi dua titik pada exon 4 (EIGEL *et al.*, 1984; LIN *et al.*, 1992). Alel A mempunyai asam amino isoleusin (ATC) pada posisi no 136 dan alanin (GCT) pada posisi no 148, sedangkan pada alel B posisi asam amino no 136 menjadi threonin/ACC dan posisi no 148 menjadi aspartin/GAT) (PINDERS *et al.*, 1991). Sementara alel E yang akan muncul bila terjadi mutasi asam amino no 155 dimana serin menjadi glisin (ERHARDT, 1989), tidak ditemukan pada semua sapi FH pengamatan. Hasil penelitian ini bersesuaian dengan laporan sejumlah peneliti yang menyatakan alel A dan B dari κ -kasein sangat umum ditemukan pada rumpun sapi perah *Bos taurus* (NG-KWAI-HANG *et al.*, 1990; SWAISGOOD, 1992; BEATA *et al.*, 2008).

Distribusi frekuensi alel A terhadap B antar lokasi pengamatan cukup bervariasi (Tabel 1 dan 2). Untuk sapi laktasi di peternak KPSBU, secara umum ditemukan frekuensi alel A lebih tinggi terhadap B, baik di desa Cilumber (0,63 vs 0,37) maupun di Pasar Kemis (0,66 vs 0,34). Sebaliknya sapi laktasi di BPPT-SP Cikole memiliki frekuensi alel A dan B hampir berimbang (0,52 vs 0,48). Akan tetapi untuk semua sapi pengamatan diperoleh frekuensi alel A lebih tinggi terhadap alel B (0,64 vs 0,36). Kondisi hampir sama ditemukan untuk sapi jantan FH aktif dan non aktif IB di kedua BIB yang memiliki frekuensi alel A jauh lebih besar dibandingkan alel B, baik di BIB Lembang (0,74 vs 0,26) maupun di BBIB Singosari (0,63 vs 0,37).

Salah satu faktor yang mempengaruhi frekuensi lokus dari gen κ -kasein diantaranya berhubungan dengan penggunaan pejantan. Dalam hal ini dapat dimengerti tingginya frekuensi genotipe AA dari sapi laktasi pengamatan, disebabkan hampir semua pejantan aktif IB bergenotipe AA. Ini terkait dengan pertimbangan impor sapi pejalan dengan nilai *Estimated Transmitting Ability* (ETA) produksi susu tinggi, sehingga diharap mampu meningkatkan produksi susu sapi FH betina di dalam negeri (SUMANTRI *et al.*,

2004). VAN EENENNAAM dan MEDRANO (1991) menyatakan bangsa sapi (*Bos taurus*) bisa berkontribusi terhadap frekuensi alel dari gen kasein terkait dengan eksploitasi keunggulan sifat laktasi yang dimiliki. Dilaporkan sapi dengan tipe kadar lemak tinggi seperti Jersey dan Brown Swiss umum memiliki frekuensi alel A tinggi (0,67-0,86), sebaliknya tipe produksi susu tinggi seperti Holstein, Guernsey dan Milking Shorthorn umum memiliki alel B rendah (0,11-0,27). Dinyatakan pula seleksi keunggulan sifat laktasi seperti produksi susu atau kualitas susu yang dilakukan secara konsisten, akan efektif merubah frekuensi lokus gen κ -kasein dari waktu ke waktu. Seleksi sifat produksi susu sekitar dua dekade (1964-1990) pada sapi Holstein dilaporkan telah menurunkan frekuensi alel B gen dari 0,20 menjadi 0,18, sebaliknya seleksi lemak susu pada sapi Brown mengakibatkan kenaikan frekuensi alel B dari 0,59 menjadi 0,67.

Pengaruh genotipe Kappa Kasein pada protein susu

Pemeriksaan pengaruh varian genotipe dari gen κ -kasein pada protein susu dan sejumlah kualitas susu lainnya dari sapi FH betina laktasi dilakukan pula untuk setiap lokasi. Pemeriksaan terpisah antara lokasi BPPT-SP Cikole dengan KPSBU bertujuan mengeliminasi perbedaan manajemen pemeliharaan (Tabel 3). Nilai rata-rata terkoreksi setiap komponen susu adalah merupakan rata-rata kuadrat terkecil dari analisis statistik menerapkan Model Linier Umum terhadap setiap data komponen susu yang sudah dieliminasi pengaruh signifikan dari bulan laktasi dan periode laktasi. Pada lokasi BPPT-SP Cikole, diamati pula pengaruh varian genotipe terhadap rata-rata nilai pH susu.

Sebagai diuraikan sebelumnya, penelitian menghadapi kendala sapi laktasi genotipe BB, sehingga dalam memeriksa pengaruh varian genotipe, proporsi individu BB belum berimbang terhadap individu AB (74,05%) dan AA (24,08%) (Tabel 3). Pemeriksaan pengaruh varian genotipe gen κ -kasein terhadap rata-rata terkoreksi kadar protein susu menunjukkan tipe BB menghasilkan kadar protein susu lebih tinggi terhadap AA, dengan persentase perbedaan di BPPT-SP Cikole sebesar 3,43%, KPSBU Lembang sebesar 3,80%, sedangkan untuk gabungan kedua lokasi sebesar 3,36%, meskipun pengaruh tersebut secara statistik tidak berbeda ($P > 0,05$). Sapi dengan genotipe AB juga cenderung menghasilkan kadar protein susu lebih banyak dari sapi AA, besarnya persentase perbedaan untuk ketiga lokasi berurutan 1,18, 1,04 dan 0,29%. Hal ini mengindikasikan kontrol dari gen κ -kasein bersifat aditif. Hasil yang diperoleh penelitian ini cukup mendukung pengujian awal pada sapi FH di BPTU Baturraden oleh SUMANTRI *et al.* (2005). Penelitian terdahulu memperoleh pengaruh langsung genotipe κ -kasein pada NP uji harian kadar protein susu.

Tabel 3. Pengaruh varian genotipe κ -Kasein terhadap sifat kualitas susu sapi Friesian-Holstein berdasarkan lokasi

Kualitas susu (%)	Tipe genotipe			Probabilitas
	AA	AB	BB	
BPPT-SP Cikole				
Protein	3,147 ± 0,048 (7)	3,184 ± 0,037 (46)	3,255 ± 0,067 (3)	P=0,299
Lemak	3,276 ± 0,233 (7)	3,279 ± 0,180 (46)	3,211 ± 0,326 (3)	P=0,972
Bahan kering	11,370 ± 0,247 (7)	11,420 ± 0,191 (46)	11,45 ± 0,347 (3)	P=0,965
BKTL	8,308 ± 0,116 (7)	8,351 ± 0,090 (46)	8,453 ± 0,163 (3)	P=0,690
Berat jenis*	1,027 ± 0,000 (6)	1,027 ± 0,000 (45)	1,027 ± 0,000 (3)	P=0,252
pH*	6,31 ± 0,11 (6)	6,29 ± 0,10 (45)	6,23 ± 0,06 (3)	P=0,354
KPSBU Lembang				
Protein	2,864 ± 0,049 (32)	2,895 ± 0,033 (71)	2,974 ± 0,094 (8)	P=0,422
Lemak	3,276 ± 0,233 (7)	3,279 ± 0,180 (46)	3,240 ± 0,326 (3)	P=0,571
Bahan kering	11,460 ± 0,147 (32)	11,730 ± 0,104 (70)	11,700 ± 0,291 (8)	P=0,293
BKTL	8,255 ± 0,068 (33)	8,174 ± 0,047 (73)	8,173 ± 0,137 (8)	P=0,586
Berat jenis*	1,028 ± 0,000 (34)	1,028 ± 0,000 (73)	1,028 ± 0,000 (8)	P=0,152
Kedua Lokasi				
Protein	3,026 ± 0,041 (39)	3,035 ± 0,026 (117)	3,128 ± 0,069 (11)	P=0,365
Lemak	3,213 ± 0,107 (39)	3,342 ± 0,071 (119)	3,262 ± 0,187 (11)	P=0,506
Bahan kering	11,310 ± 0,127 (39)	11,530 ± 0,084 (116)	11,530 ± 0,222 (11)	P=0,240
BKTL	8,281 ± 0,059 (40)	8,225 ± 0,039 (119)	8,253 ± 0,104 (11)	P=0,658
Berat jenis*	1,028 ± 0,000 (40)	1,028 ± 0,000 (118)	1,028 ± 0,000 (11)	P=0,073

Keterangan: Angka dalam kurung menunjukkan jumlah sampel; * angka absolut

Sapi genotipe BB memiliki rataan NP protein susu tertinggi (3,66%), AA terendah (3,30%), sedangkan AB diantaranya (3,42%).

Hasil penelitian ini juga masih bersesuaian dengan studi yang dilakukan pada sapi perah *Bos taurus* oleh sejumlah peneliti lainnya di luar negeri. LIN *et al.* (1986) yang memeriksa pengaruh genotipe κ -kasein terhadap protein susu per laktasi, mencatat pengaruh tidak nyata ($P>0,05$) dari ketiga genotipe AA, AB dan BB. Meskipun demikian didapatkan genotipe BB cenderung memproduksi protein terbanyak (149 kg), sedangkan genotipe AA dan AB memproduksi protein hampir sama (142 dan 143 kg). VAN EENNAAM dan MEDRANO (1991) melaporkan tipe BB menghasilkan persentase protein tertinggi, sedangkan dalam kondisi heterozigot AB diperoleh konsentrasi protein susu hampir dua kali terhadap tipe AA.

Sejumlah penelitian lain juga memperoleh pengaruh menguntungkan genotipe BB pada jumlah protein susu (NG-KWAI-HANG *et al.*, 1986) dan kadar protein susu (NG-KWAI-HANG *et al.*, 1990; BOVENHUIS *et al.*, 1992; ALIPANAH *et al.*, 2005). NG-KWAI-HANG *et al.* (1986) mencatat varian genotipe κ -kasein berhubungan langsung dengan kadar protein susu. Diperoleh kadar protein susu lebih tinggi pada genotipe BB dibandingkan AA (3,44% vs 3,37%), yang dikaitkan dengan perbedaan kadar kasein (2,75% vs 2,65%) dan jumlah kasein (80,06 vs 78,91) susu. Gen κ -kasein berpengaruh sangat signifikan ($P<0,001$) terhadap kadar protein susu, dengan sapi dara BB menghasilkan kadar protein 0,04-0,8% lebih tinggi dibandingkan dengan tipe AA (BOVENHUIS *et al.*, 1992). Perubahan alel A menjadi alel B pada gen κ -kasein meningkatkan kadar protein pada tiga laktasi pertama sebesar 0,04-0,08 % (Ng-KWAI-HANG *et al.*, 1990). Lebih lanjut ALIPANAH *et al.* (2005) melaporkan sapi bergenotipe BB (vs AA dan AB) menghasilkan kadar protein susu lebih tinggi (3,31 vs 3,12) pada sapi perah *Black Pied*, tetapi hampir sama (3,28 vs 3,27) pada sapi *Red Pied*.

Dijelaskan NG-KWAI-HANG *et al.* (1990) perbedaan pengaruh varian genotipe (gen protein) terhadap sejumlah sifat kualitas susu dapat terjadi dikarenakan perbedaan ukuran populasi, bangsa sapi, frekuensi munculnya varian genotipe yang dipertimbangkan, parameter yang diperiksa (seperti uji per hari, per laktasi, sifat kualitas susu), dan tentunya yang juga penting adalah metode statistik yang dipakai dalam mengelimasi berbagai faktor seperti pengaruh umur induk, paritas, musim, tahap laktasi, status kesehatan dan variasi genetik itu sendiri.

Informasi pengaruh positif varian genotipe κ -kasein terhadap uji harian kadar protein susu yang diperoleh hasil penelitian ini berurutan untuk genotipe BB>AB>AA. Hal ini menjadi indikasi bahwa penggunaan satu gen major pengontrol protein susu, yaitu gen κ -kasein dalam hal ini genotipe BB,

diperkirakan akan cukup efektif dalam membantu identifikasi sapi potensial dalam memproduksi (mewariskan) kadar protein susu tinggi. Hal ini disebabkan gen κ -kasein secara tunggal mengontrol sekitar 25% dari fraksi kasein susu sapi perah (LIEN dan ROGNE, 1993). Selanjutnya disebabkan gen κ -kasein (CSN3) merupakan haplotipe dari ketiga major gen lainnya (α_{s1} -kasein, α_{s2} -kasein dan β -kasein), maka kombinasi polimorfisme genotipe BB dengan ketiga genotipe lainnya akan berfungsi sebagai pengontrol dominan kadar kasein susu (80% protein susu) (FERRETTI *et al.*, 1990; THREADGILL dan WOMACK, 1990; RUNKELS *et al.*, 1997).

Pengaruh genotipe Kappa Kasein pada komponen susu lainnya

Pemeriksaan pengaruh varian genotipe dari gen κ -kasein terhadap sejumlah kualitas susu lainnya sudah cukup banyak dilakukan. Ini antara lain berkaitan dengan pertimbangan akan manfaat optimal genotipe BB sebagai marka seleksi sifat protein susu. Seleksi untuk memperbaiki kualitas protein susu oleh karenanya perlu memberi perhatian pula pada sifat bernilai ekonomis lainnya.

Sebagai tercantum pada Tabel 3, sapi laktasi genotipe BB pada dua lokasi cenderung menghasilkan kadar lemak susu lebih rendah dari genotipe AA, meskipun perbedaan tersebut tidak nyata ($P>0,05$). Genotipe AA, dibandingkan BB, memiliki rataan terkoreksi kadar lemak susu lebih tinggi baik di stasiun bibit maupun di peternak, dengan keunggulan AA terhadap BB sebanyak 1,98% di BPPT-SP Cikole dan 1,10% di KPSBU lembang. Lebih lanjut, genotipe AB cenderung menghasilkan kadar lemak susu tertinggi. Hasil yang sama diperoleh untuk sapi FH laktasi di BPTU Baturraden, kadar lemak susu diproduksi lebih tinggi oleh sapi genotipe AA dibandingkan BB (3,44% vs 3,36%), sedangkan kadar lemak tertinggi dihasilkan genotipe AB (3,78%). BEATA *et al.* (2008) yang mengamati sifat laktasi pertama sapi FH, juga mencatat kadar lemak tertinggi dicapai genotipe AB. Kondisi sebaliknya ditemukan untuk gabungan kedua lokasi, induk AA menghasilkan kadar lemak susu lebih rendah terhadap BB (-1,47%), namun perbedaan tersebut tidak nyata ($P>0,05$).

Pengaruh varian genotipe terhadap kadar lemak susu di BPPT-SP Cikole dan KPSBU ini masih bersesuaian dengan sejumlah penelitian lainnya. NG-KWAI-HANG *et al.* (1986) yang melihat pengaruh varian genotipe gen κ -kasein terhadap uji harian susu memperoleh induk AA unggul memproduksi kadar lemak susu dibandingkan dengan induk BB (3,76% vs 3,67%). Namun dalam studi selanjutnya terhadap tiga sifat laktasi pertama dilaporkan NG-KWAI-HANG *et al.* (1990) pengaruh gen κ -kasein kurang konsisten

terhadap kadar lemak susu. Varian genotipe tidak berpengaruh signifikan pada kadar lemak susu laktasi pertama dan kedua. Sebaliknya, pada laktasi ketiga, genotipe AA menghasilkan kadar lemak tertinggi (3,68%), sedangkan BB dengan kadar lemak terendah (3,60%). IKONEN *et al.* (1999) mencatat tipe BB memiliki kadar lemak susu lebih rendah dibandingkan dengan genotipe AA, sedangkan AB memiliki kadar lemak susu diantaranya. Lebih jauh BOVENHUIS *et al.* (1992) melaporkan signifikansi pengaruh genotipe AA pada produksi lemak tetapi tidak terhadap kadar lemak susu sapi dara laktasi.

Dari berbagai uraian tersebut dapat dinyatakan bahwa berdasarkan hasil penelitian ini, diketahui varian genotipe gen κ -kasein berkontribusi cukup besar pada uji harian kadar protein maupun kadar lemak susu, dan terdapat hubungan terbalik diantara keduanya. Dalam hal ini sapi dengan genotipe BB memiliki keunggulan pada kadar protein susu, tetapi menghasilkan kadar lemak lebih rendah terhadap genotipe AA.

Pengamatan lebih lanjut pada komponen kualitas susu lainnya (Tabel 3) menunjukkan sapi genotipe BB di BPPT-SP Cikole cenderung menghasilkan bahan kering dan bahan kering tanpa lemak lebih tinggi dibandingkan AA, meskipun secara statistik perbedaan tidak nyata ($P>0,05$), sedangkan produksi kedua sifat dari sapi AB berada diantaranya. Akan tetapi sapi genotipe BB dan AB pada kondisi peternak KPSBU Lembang menghasilkan hanya kadar bahan kering yang lebih tinggi bila dibandingkan genotipe AA, meskipun perbedaan tersebut juga tidak nyata ($P>0,05$). Sebaliknya kadar bahan kering tanpa lemak genotipe BB dan AB di peternak lebih rendah daripada genotipe AA. Pengamatan untuk kedua lokasi memperlihatkan perubahan kadar kedua sifat (BK dan BKTL) berdasarkan varian genotipe gen κ -Kasein mengikuti pola di KPSBU Lembang, dengan kadar bahan kering lebih tinggi pada genotipe BB dibandingkan dengan AA, tetapi kadar bahan kering tanpa lemak lebih tinggi pada genotipe AA dibandingkan dengan BB.

Konsistensi varian alel κ -Kasein dalam mengontrol kadar bahan kering dan BKTL (dengan urutan $BB>AB>AA$) di stasiun bibit BPTP-SP Cikole kemungkinan dikarenakan dukungan manajemen pemeliharaan dan pakan pada sapi laktasi di lokasi ini cukup baik dan lebih seragam, sehingga pengaruh sejumlah faktor non genetik seperti fluktuasi pemberian pakan dan penanganan kesehatan lebih kecil dibandingkan dengan kondisi di peternak rakyat.

Berdasarkan hasil-hasil tersebut dapat dinyatakan kontrol genotipe BB gen κ -Kasein cukup konsisiten terhadap keunggulan kadar protein susu pada sapi FH laktasi baik yang dipelihara pada manajemen insensif (BPPT-SP Cikole) dan semi intensif di peternak (KPSBU Lembang). Genotipe BB juga cenderung menghasilkan kadar bahan kering lebih tinggi terhadap

genotipe AA. Lebih jauh genotipe AB menampilkan sejumlah kualitas susu berada diantara genotipe BB dan AA. Akan tetapi ketiga genotipe AA, AB dan BB tidak memberikan perbedaan pada berat jenis susu sapi FH laktasi dari kedua lokasi, dengan rata-rata berat jenis di BPPT-SP Cikole, KPSBU Lembang dan Kedua lokasi berurutan 1,027, 1,028 dan 1,028. Dengan demikian varian genotipe gen κ -Kasein tidak memberikan kontribusi langsung terhadap variasi BJ susu sapi pengamatan. Demikian pula derajat pH sapi FH di BPPT-SP Cikole tidak dipengaruhi secara nyata ($P>0,05$) oleh varian genotipe κ -kasein, meskipun diperoleh perbedaan pH susu antara genotipe AA terhadap BB (1,27%) dan AB terhadap BB (0,95%) cukup besar.

KESIMPULAN

Hasil *genotyping* gen κ -kasein dari sapi FH betina laktasi menghasilkan tiga varian genotipe, yaitu AA, AB dan BB dengan dua varian alel, yaitu A dan B. Sapi FH pengamatan sangat sedikit bergenotipe BB (3%) yang disebabkan rendahnya penggunaan pejantan aktif IB bergenotipe BB dari kedua balai inseminasi nasional. Pemeriksaan dengan jumlah sapi FH laktasi genotipe BB secara terbatas pada kondisi pemeliharaan berbeda (intensif dan semi intensif) menunjukkan bahwa genotipe BB cukup konsisten dalam mengontrol kadar protein susu tinggi, sebaliknya genotipe AA dengan kadar protein susu terendah. Untuk kadar lemak, tipe BB cenderung memiliki kadar lemak susu lebih rendah dibandingkan dengan tipe AA. Genotipe BB juga bertendensi positif dengan kadar bahan kering susu, sedangkan BJ dan pH susu tidak dipengaruhi oleh varian genotipe. Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa genotipe BB dari gen κ -kasein untuk pertimbangan praktis dapat dijadikan sebagai kandidat marka penciri genetik untuk seleksi dini keunggulan kadar protein susu bagi sapi perah FH di dalam negeri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan pada Menristek Rusnas Industri Sapi yang sudah berkenan memberi Dana Penelitian TA 2008 untuk terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- ALIPANAH, M., L. KALASHNIKOVA and G. RODIONOV. 2005. Kappa-Kasein genotypic frequencies in Russian breeds Black and Red Pied cattle. *Iranian J. Biotech.* 3: 191-194.
- AZEVEDO, A.L.S., C.S. NASCIMENTO, R.S. STEINBERG, M.R.S. CARVALHO, M.G.C.D. PEIXOTO, R.L. TEODORO, R.S.

- VERNEQUE, S.E.F. GUIMARÃES and M.A. MACHADO. 2008. Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. *Gen. Mol. Res.* 7: 623-630.
- BEATA, S., N. WOJCIECH and W. EWA1. 2008. Relations between kappa-casein polymorphism (CSN3) and milk performance traits in heifer cows. *J. Cen. Eur. Agric.* 9: 641-644.
- BOBE, G., D.C. BEITZ, A.E. FREEMAN and G.L. LINDERBERG. 1999. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *J. Dairy Sci.* 82: 2797-2804.
- BOETTCHER, P.J., A. CAROLI, A. STELLA, S. CHESSA, E. BUDELLI, F. CANAVESI, S. GHIROLDI and G. PAGNACCO. 2004. Effects of casein haplotypes on milk production traits in Italian Holstein and Brown Swiss cattle. *J. Dairy Sci.* 87: 4311-4317.
- BOVENHUIS, H., J.A.M. VAN ARENDONK and S. KERVER. 1992. Associations between milk protein polymorphism and milk production traits. *J. Dairy Sci.* 75: 2549-2559.
- DITJEN PETERNAKAN. 2007. Buku Statistik Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta.
- EIGEL, W.N., J.F. BUTLER, C.A. ERNSTROM, H.M. FARRELL, V.R. HARWALKAR, R. JENNES and R.MC.L. WHITNEY. 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk. *J. Dairy Sci.* 67: 1599-1631.
- ERHARDT, G. 1989. κ -caseins in bovine milk. Evidence of a further allele (κ -Cn E) in different breeds. *J. Anim. Breed. Genet.* 106: 225-231.
- FERRETTI, L., P. LEONE and V. SGARAMELLA. 1990. Long range restriction analysis of the bovine casein genes. *Nuc. Acids Res.* 18: 6829-6833.
- FITZGERALD, R.J. and J.P. HILL. 1997. The relationship between milk protein polymorphism and the manufacture and functionality of dairy product. In: Milk Protein Polymorphism. *Bull. IDF.* IDF, Brussels Belgium: pp. 355-371.
- Fox, P.F. 1992. Advanced Dairy Chemistry Proteins. Vol. 1. Elsevier Science Publisher, London.
- IKONEN, T., M. OJALA and O. RUOTTINEN. 1999. Association between milk protein polymorphism and first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. *J. Dairy Sci.* 82: 1026-1033.
- KÚBARSEPP, I., M. HENNO, H. VIINALASS and D. SABRE. 2005. Effect of κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on the milk rennet coagulation properties. *Agr. Res.* 1: 55-64.
- LIEN, S. and S. ROGNE. 1993. Bovine casein haplotypes: number, frequencies and applicability as genetic markers. *Anim. Gen.* 24: 373-376.
- LIN, C.Y., A. J. MCALLISTER, K.F. NG-KWAI-HANG and J.F. HAYES. 1986. Effects of milk protein loci on first lactation production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 69: 704-712.
- LIN, C.Y., M.P. SABOUR and J. LEE. 1992. Direct typing of milk proteins as an aid for genetic improvement of dairy bulls and cows: a review. *Anim. Breed. Abstr.* 60: 1-7.
- LITWIŃCZUK, Z., J. BARLOWSKA, J. KROL and A. LITWIŃCZUK. 2006. Milk protein polymorphism as markers of production traits in dairy and meat cattle. *Med. Weter.* 62: 6-10.
- MATĚJÍČEK, A., J. MATĚJÍČKOVÁ, E. NĚMCOVÁ, O.M. JANDUROVÁ, M. ŠTÍPKOVÁ, J. BOUŠKA and J. FRELICH. 2007. Joint effects of CSN3 and LGB genotypes and their relation to breeding values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Czech J. Anim. Sci.* 52: 83-87.
- MARTIN, P., M. SZYMANOWSKA, L. ZWIERZCHOWSKI and C. LEROUX. 2002. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminants milks. *Reprod. Nutr. Dev.* 42: 433-459.
- MCLEAN, D.M., E.R. GRAHAM, R.W. PONZONI and H.A. MCKENZIE 1984. Effects of milk protein genetic variants on milk yield and composition. *J. Dairy Res.* 51: 531-546.
- MOLINA, L.H., J. KRAMM, C. BRITO, B. CARRILLO, M. PINTO and A. FERRANDO. 2006. Protein composition of milk from Holstein-Friesian dairy cows and its relationship with the genetic variants A and B of κ -casein and β -lactoglobulin (Part I.). *Int. J. Dairy Technol.* 59: 183-187.
- NEI, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press. New York.
- NG-KWAI-HANG, K.F., J.F. HAYES, J.E. MOXLEY and H.G. MONARDES. 1986. Relationships between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 69: 22-26.
- NG-KWAI-HANG, K.F., H.G. MONARDES and J.F. HAYES. 1990. Association between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations. *J. Dairy Sci.* 73: 3414-3420.
- NG-KWAI-HANG, K.F. 1998. Genetic polymorphism of milk proteins: Relationships with traits, milk composition and technological properties. *Can. J. Anim. Sci.* 78: 131-147.
- OJALA, M., T.R. FAMULA and F. MEDRANO. 1997. Effects of milk protein genotypes on the variation for milk production traits of Holstein and Jersey cows in California. *J. Dairy Sci.* 80: 1776-1785.
- PINDERS, J., B.N. PERRY, J. SKIDMORAEND and D. SAWA. 1991. Analysis of polymorphism in the bovine casein genes by use of the polymerase chain reaction. *Anim. Gen.* 22: 11-20.
- RIJNKELS, M., KOOIMAN, P.M., DEBOER, H.A. and PIEPER, F.R. 1997. Organization of the bovine casein gene locus. *Mammal. Genome.* 8: 148-152.
- SAMBROOK, J., E.F. FRITSCH, and T. MANIATIS. 1989. Molecular Cloning Laboratory Manual 3rd Ed. Cold Spring Harbour Lab. Press. New York.

- SORIA, L.A., G.M. IGLESIAS, M.J. HUGUET and S.L. Mirande. 2003. A PCR-RFLP test to detect allelic variants of the bovine kappa-casein gene. *Anim. Biotechnol.* 14: 1-5.
- SUMANTRI, C., A. ANGGRAENI, R.R.A. MAHESWARI, K. DIWYANTO, A. FARAJALLAH dan B. BRAHMANTYO. 2004. Frekuensi gen kappa kasein (κ -kasein) pada sapi perah FH berdasarkan produksi susu di BPTU Baturraden. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 4-5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan. Bogor. hlm. 175-183.
- SUMANTRI, C., R.R.A. MAHESWARI, A. ANGGRAENI, K. DIWYANTO dan A. FARAJALLAH. 2005. Pengaruh genotype kappa kasein (κ -kasein) terhadap kualitas susu pada sapi perah FH di BPTU Baturraden. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 12-13 September. 2005. Puslitbang Peternakan. Bogor. hlm. 358-365.
- SWAISGOOD, H.E. 1992. Chemistry of Caseins. *In: Advanced Dairy Chemistry-1 Proteins.* P.F. Fox. (Ed). Elsevier Applied Science London and New York. pp: 63-110.
- THREADGILL, D.W. and J.E. WOMACK. 1990. Genomic analysis of the major bovine milk protein genes. *Nuc. Acids Res.* 18: 6935-6942.
- TSIARAS AM, G.G. BARGOULI, G. BANOS and C.M. BOSCO. 2005. Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 88: 327-334.
- VAN EENENNAAM, A.J. and J.F. MEDRANO. 1991. Milk protein polymorphisms in California dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 74: 1730-1740.
- VELMALA, R., J. VILKKI, K. ELO and A. MAKI-TANILA. 1995. Kasein haplotypes and their association with milk production traits in the Finnish Ayrshire cattle. *Anim. Genet.* 26: 419-425.
- VERDIER-METZ I., J.B. COULON and P. PRADEL P. 2001. Relationship between milk fat and protein contents and cheese yield. *Anim. Res.* 50: 365- 371.