

# VARIASI GENETIK POPULASI SAPI LOKAL INDONESIA BERDASARKAN PENCIRI MOLEKULER DNA MIKROSATELIT KROMOSOM Y

Aris Winaya<sup>1</sup>, Muladno,<sup>2</sup> R. Eddie Gurnadi<sup>2</sup> dan Asep Saefuddin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian dan Peternakan,

Universitas Muhammadiyah Malang, Jl. Raya Tlogomas No. 246, Malang 65144

<sup>2</sup>Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Jl. Agathis Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

<sup>3</sup>Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor, Jl. Agathis Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

## ABSTRACT

This study was carried out to know the level polymorphism of seven Y-chromosome microsatellite DNA loci (INRA008, INRA057, INRA062, INRA 124, INRA 126, DYS 199, and INRA 189) which assayed on seven Indonesia native cattle, especially in male cattle. The breeds including Aceh, Pesisir, Madura, Bali (from Bali and Lombok island), Ongole filial (PO) and Fries Holland Fillial (PFH) cattle. In general, the value of microsatellite polymorphism level was low to determine the genetic variation of those cattle populations. The number of microsatellite allele was low (one to two allele), while the average of allele in all breeds were 1.8. The heterozygosity (*h*) level for all population between 0% to 68%, and the highest level of *h* was found in INRA 062 locus (53%) in Pesisir cattle. The *polymorphic information content* (PIC) value was found between 0 to 0.37 in all of population, by average from 0.10 to 0.29. From seven locus are not any locus has PIC value more than 0.50. It means that all locus were not polymorphic in this study. The indication that INRA 062 and INRA 124 were have PIC value higher than others could be consider to re-examined these locus by considering more animal and wider geographical coverage. According to FAO for justification the genetic differentiation or variation between breeds need four alleles minimally which found in a locus, so in this study all of locus were not appropriate to those criteria. But, for next study could be continuing this locus in analysis of Indonesia native cattle by considering sufficiently of samples number and geographical area coverage, so it could be determined the real condition of genetic variation of Indonesian native cattle.

**Keywords:** polymorphism, allele, Y-chromosome microsatellite, Polymorphic Information Content, heterozygosity

## PENDAHULUAN

Dokumen 'World Watch List for Domestic Animal Diversity' report (3rd ed) melaporkan bahwa terdapat kurang lebih 6300 bangsa (*breed*) ternak di dunia dari sekitar 30 spesies hewan domestikasi dan hampir sebagian besar *breed* saat ini merupakan spesies lokal yang berasal dari negara-negara berkembang. Keragaman genetik yang dimiliki *breed* lokal berperan besar dalam keberhasilan program pemuliaan ternak di negara-negara berkembang selama kurun waktu abad 19 hingga 20. Hal ini jelas menggambarkan bahwa spesies lokal merupakan sumber daya genetik yang penting dan unik untukantisipasi kebutuhan produksi ternak saat ini maupun mendatang. Namun, kenyataannya saat ini banyak *breed* lokal yang mulai menurun potensinya, baik kuantitas maupun kualitas. Diperkirakan satu hingga dua *breed* punah setiap minggunya (Schearf, 2003).

Di Indonesia, sapi Bali merupakan sapi lokal yang sangat populer terkait dengan statusnya pada proses berkehidupan masyarakat petani di Indonesia, khususnya sebagai hewan tarik dan penyedia daging. Selain sapi Bali, di Indonesia juga terdapat jenis atau bangsa sapi lokal lain, baik yang karena status silsilahnya masih terdapat hubungan genetik dengan Banteng (seperti sapi Madura) maupun dari bangsa sapi *Bos taurus* dan *Bos indicus*, yang karena faktor ekonomi dan politik pada masa lampau (penjajahan maupun

setelah merdeka) didatangkan ke Indonesia dan akhirnya mampu beradaptasi dengan lingkungan sehingga menjadi bagian dari ternak lokal yang ada. Oleh karenanya, studi genetik sapi lokal yang ada di Indonesia menjadi menarik dikarenakan variasi genetiknya yang cukup besar. Hal ini penting terkait dengan usaha perbaikan sifat maupun menjaga karakter genetiknya sehingga ternak lokal ini tidak semakin menurun kualitas genetiknya bahkan punah.

Banyak cara dan usaha yang telah dilakukan untuk karakterisasi genetik sapi lokal Indonesia, dimana studi awal dimulai tahun 1974 hingga 1977 dan beberapa hasilnya telah dipublikasikan oleh Namikawa *et al.* (1980) tentang karakterisasi sapi lokal di Indonesia berdasarkan golongan darah dan protein, kemudian Namikawa *et al.* (1982a) berdasarkan protein darah dan enzim, serta Namikawa *et al.* (1982b) berdasarkan komposisi asam amino rantai  $\beta$  dari haemoglobin X. Hasilnya antara lain menunjukkan bahwa sapi Bali memiliki spesifikasi, seperti alel Hb<sup>X</sup> pada golongan darahnya dan sapi lokal lain tidak, serta sapi Peranakan Ongole (PO) sangat dominan karakter genetiknya dari sapi zebu India.

Akan tetapi, studi karakterisasi genetik pada tingkat molekuler di Indonesia masih sangat jarang dilakukan. Adanya pertimbangan bahwa perkembangan cepat sejumlah penciri genetik molekuler lebih diskriminatif dan akurat dibandingkan fenotipiknya, maka penggunaan marka ini akan sangat membantu dalam penanganan manajemen sistim seleksi pada ternak sapi potong (Ge *et al.* 2002).

Informasi tentang alel-alel spesifik (*breed specific allele*) dari data molekuler untuk sapi lokal Indonesia masih sangat terbatas. Hasil penelitian Muladno *et al.* (2000) dalam Kantor Menteri Negara Riset dan Teknologi [KMNRT] (2000) telah menunjukkan adanya alel spesifik bangsa (*breed specific allele*) untuk sapi Bali pada lokus mikrosatelit INRA 023. Hasil studi Noor *et al.* (2000) juga menunjukkan bahwa sapi Bali memiliki alel spesifik pada lokus mikrosatelit HEL9 dan INRA 035 dibandingkan sapi *Bos taurus* (Simmental, Limousin, dan Brangus), namun hasil ini masih merupakan gambaran awal tentang adanya fenomena alel spesifik pada ternak asli Indonesia. Hasil studi berdasarkan panel 16 marka mikrosatelit (Winaya, 2000; Winaya *et al.*, 2000), diketahui pula bahwa penciri molekuler DNA mikrosatelit mampu memberikan gambaran awal tentang hubungan genetik antara sapi Bali, Madura, PO dan Brangus. Namun hasil ini belum mampu menggambarkan secara lebih luas lagi tentang variasi genetik sapi-sapi lokal di Indonesia yang diuji dengan penciri DNA mikrosatelit pada kromosom Y.

Saat ini untuk pengukuran variasi genetik pada populasi (misal, *breed-breed* ternak domestikasi) masih memerlukan penciri mikrosatelit kromosom Y lebih banyak lagi. Hal ini berbeda kondisinya pada tikus dan manusia, dimana tersedia banyak data sekuens DNA pada kromosom Y, tetapi informasi untuk kromosom Y pada mamalia lain masih kurang (Hurles dan Jobling, 2001). Namun, akhir-akhir ini telah dilaporkan beberapa survei tentang filogenetik daerah kromosom Y dari spesies ternak domestikasi berdasarkan variasi keterpautan bagian spesifik jantan kromosom Y (*male specific Y chromosome/MSY*). Dilaporkan pula variasi nukleotida yang rendah antar lokus MSY pada kuda (Lindgren *et al.* 2004), sapi (Hellborg dan Ellegren 2004) dan domba (Meadows *et al.* 2004). Meskipun demikian, beberapa studi yang memanfaatkan variasi lokus MSY telah mampu mengangkat aspek-aspek sejarah keberadaan populasi. Bradley *et al.* (1994) telah mengembangkan pelacak (*probe*) spesifik untuk lokus Y yang mampu membedakan subspecies *Bos taurus* (taurine) dan *Bos indicus* (zebu).

Tujuan dari penelitian ini mengetahui derajat polimorfisme alel-alel mikrosatelit pada kromosom Y yang diuji pada tujuh populasi bangsa sapi yang telah adaptif di Indonesia dan kemudian mengetahui variasi genetiknya ketujuh populasi sapi tersebut berdasarkan polimorfisme alel-alel lokus mikrosatelit yang diuji.

## MATERI DAN METODE

### Koleksi Sampel

Sampel darah sebagai sumber DNA genom dikoleksi dari tujuh bangsa sapi adaptif Indonesia, yakni sapi Aceh, Pesisir, Madura, Sapi Bali (dari Bali dan Lombok), Peranakan Ongole (PO) dan Peranakan Fries Holland (PFH), yang diambil secara random pada individu yang tidak berkerabat dan hanya pada individu jantan. Untuk meyakinkan bahwa ternak-ternak tersebut tidak berkerabat maka dipilih berdasarkan wawancara dengan pemilik secara langsung. Sampel darah dikoleksi sebanyak 5 – 10 mL, yang diambil melalui vena jugularis sapi dan ditampung dalam tabung vacutainer dengan antikoagulasi EDTA 10%.

### Teknik Molekuler

DNA genom diekstraksi dari sel darah total menggunakan metode standar fenol-kloroform protokol dari Sambrook *et al.*, (1989). Sebanyak tujuh marka lokus mikrosatelit diaplikasikan untuk memperoleh data polimorfisme mikrosatelit pada panel tujuh populasi sampel. Data berupa alel-alel yang muncul pada tujuh lokus yang diuji pada ketujuh populasi sapi sampel tersebut.

Reaksi PCR dilakukan dengan menggunakan sampel DNA genom hasil isolasi sebagai templat sebanyak 50 – 100 ng yang direaksikan dalam PCR *mix* Faststart dari Roche Applied Science (Germany) dengan volume total reaksi sebanyak 20- $\mu$ l. Mesin PCR digunakan T-Personal, Biometra, Whatman (Germany). Prosedur PCR dengan kondisi denaturasi awal pada suhu 95°C selama 4 menit, 35 siklus dengan kondisi suhu 95°C untuk denaturasi selama 1 menit, *annealing* primer dengan suhu yang sesuai selama 1 menit dan suhu 72°C untuk ekstensi selama 1 menit serta ekstensi akhir pada 72°C selama 4 menit.

Produk PCR diseparasi pada 8% gel polyacrylamide dengan petunjuk ukuran standart berat molekul DNA menggunakan 100-bp *ladder* (Roche Applied Science, Germany). Gel diwarnai dengan pewarnaan perak (*silver staining*) menurut petunjuk Guillemet & Lewis (Tegelström 1986), dan penentuan genotipe alel mikrosatelit dilakukan secara manual (Leung *et al.*, 1993).

### Analisis Statistik

Pita yang muncul pada gel poliakrilamid dengan pewarnaan perak pada masing-masing alel diasumsikan sebagai alel DNA mikrosatelit. Keragaman alel mikrosatelit ditentukan dari perbedaan migrasi alel pada gel dari masing-masing individu sampel. Karena lokus mikrosatelit di kromosom Y, maka alel yang diperoleh merupakan haplotipe. Genotipe ditentukan berdasarkan variasi pita alel yang ada. Frekuensi masing-masing alel setiap lokus mikrosatelit dihitung berdasarkan rumus:

$$f(A) = \frac{A}{2n}$$

dengan :

$f(A)$  = frekuensi alel ke  $i$

$A$  = jumlah alel ke  $i$  dalam lokus

$n$  = jumlah individu yang diamati

Keragaman genetik diukur dengan nilai rata-rata heterosigositas ( $h$ ) pada semua lokus, baik lokus yang polimorfik maupun monomorfik. Lokus polimorfik apabila frekuensi alel yang diperoleh adalah sama atau kurang dari 0.99 (Nei 1987). Adapun formulasi untuk memperoleh nilai heterosigositas ( $h$ ) untuk setiap lokus adalah :

$$h = 2n \frac{(1 - \sum X_i^2)}{(2n - 1)}$$

dengan :

- $h$  = heterosigositas lokus
- $x_i$  = frekuensi alel lokus ke- $i$
- $n$  = jumlah individu sampel

Sedangkan rata-rata heterosigositas ( $H$ ) untuk keseluruhan lokus dalam populasi dihitung dengan formula :

$$H = \frac{\sum_{j=1}^r h_j}{r}$$

dengan :

- $H$  = rata-rata heterosigositas seluruh lokus
- $h_j$  = heterosigositas lokus ke- $j$
- $r$  = jumlah lokus

### PIC (Polymorphic Information Content)

Frekuensi alel digunakan pula untuk menentukan nilai PIC, yakni suatu nilai yang dapat digunakan sebagai penentu derajat informasi tingkat polimorfik dari suatu marker yang digunakan (Botstein *et al.*, 1980). Formulasinya adalah dimana :

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k P_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2P_i^2 P_j^2$$

- PIC = *Polymorphic Information Content*
- $K$  = jumlah alel
- $P_i$  dan  $P_j$  = frekuensi alel ke  $i$  dan ke  $j$

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuh buah lokus mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian ini yaitu INRA008, INRA057, INRA062, INRA 124, INRA 126, DYS 199, dan INRA 189 diuji pada tujuh populasi bangsa sapi lokal Indonesia (Aceh, Pesisir, Madura, Bali-Bali, Bali-Lombok, PO dan PFH) menunjukkan polimorfisme yang rendah (data tidak ditampilkan). Jumlah alel yang ditemukan dalam seluruh populasi sapi adalah satu hingga dua buah dengan rata-rata alel 1.8. Fenomena jumlah alel yang rendah pada mikrosatelit kromosom Y dapat dijelaskan karena lokus mikrosatelit ini terletak pada daerah sex kromosom Y yang cenderung merupakan alel-alel spesifik dan homozigot untuk individu jantan serta tidak dimiliki oleh individu betina. Kondisi akan berbeda apabila lokus mikrosatelit terletak pada daerah autosom dari kromosom, maka akan lebih polimorfik karena alel dapat berasal dari gabungan antara tetua induk dan pejantan. Sebagaimana pendapat Meadows *et al.* (2006) bahwa terdapat beberapa faktor potensial yang menyebabkan hal tersebut, diantaranya faktor seleksi, sistem perkawinan, atau pola migrasi, serta mekanisme lain yang berakibat pada rendahnya jumlah pejantan efektif untuk ukuran populasi. Daerah kromosom Y merupakan daerah non-rekombinan yang efektif, sehingga dapat menyebabkan lokus tunggal (*haplotype*) dan hal ini sangat mudah menerima pengaruh tekanan seleksi akibat aksi suatu sekuens tertentu pada kromosom, dengan pengecualian pada daerah

pseudoautosomal. Kondisi ini sangat berlawanan dengan situasi di autosom dan kromosom X, dimana rekombinasi dapat menghasilkan sekuens dari gabungan beberapa lokus dalam kondisi seleksi.

Jadi, polimorfisme alel yang rendah pada sapi lokal sampel (jumlah rata-rata 1,8) dalam studi ini kemungkinan disebabkan oleh pola penyebaran pejantan yang kurang cukup untuk pejantan sapi betina yang ada, atau sampel yang diduga masih belum maksimal mewakili populasi yang ada serta memiliki diversitas letak geografis yang sangat jauh sehingga memungkinkan terjadinya keragaman genetik akibat proses seleksi. Hal lain adalah budaya masyarakat yang secara ketat menjaga genetik ternaknya tanpa mengontrol penggunaan pejantan. Karena karakter peternak rakyat biasanya cukup protektif terhadap perkawinan silang sehingga sumbangan keragaman genetik dari luar cukup rendah. Juga, tidak diikuti dengan transfer atau perpindahan pejantan dari *breed* yang sama antar peternak yang secara geografis letaknya cukup jauh, sehingga memungkinkan terjadinya pemanfaatan antar pejantan. Kenyataan lain, peternak rakyat lebih senang memelihara induk daripada pejantan dengan tujuan reproduksi, yakni mendapatkan pedet daripada penggemukan pejantan. Namun, dengan pertimbangan bahwa kualitas sapi Madura dan Bali sebagai ikon sapi lokal Indonesia yang saat ini kenyataannya cenderung menurun kualitas genetiknya, maka sebenarnya dengan memanfaatkan beberapa marka mikrosatelit maupun gen yang telah diketahui diharapkan masih dapat dilakukan seleksi lebih lanjut untuk mendapatkan kualitas sapi lebih baik.

Ditemukannya jumlah alel yang rendah (satu hingga dua alel) dalam studi dapat dikategorikan bahwa lokus mikrosatelit yang diuji cukup rendah polimorfismenya. Menurut petunjuk FAO bahwa untuk justifikasi penilaian perbedaan atau variasi genetik antar *breed* minimum harus terdapat empat alel yang berbeda per lokus (Pandey *et al.* 2006), sehingga dalam studi ini tidak terdapat satu lokuspun yang memenuhi kriteria tersebut. Nilai heterosigositas (*h*) tertinggi yang ditemukan pada lokus mikrosatelit INRA 062 (53%) di populasi sapi Pesisir dan nilai PIC tertinggi pada INRA 062 dan INRA 124, menjadi indikasi awal bahwa kedua lokus ini dapat dipertimbangkan untuk diuji kembali dalam analisis variasi genetik antar bangsa sapi Indonesia. Namun, agar hasil uji lebih akurat maka untuk studi mendatang dapat dipertimbangkan jumlah sampel yang memadai dan letak geografis yang lebih luas agar dapat mencerminkan kondisi yang sebenarnya dari variasi genetik populasi sapi lokal Indonesia.

Pada ternak domestikasi yang memiliki indikasi adanya variasi individu dalam populasi berdasarkan penciri molekuler mikrosatelit spesifik pada kromosom Y telah ditunjukkan pula adanya hibridisasi *breed* dan pola migrasinya (MacHugh *et al.*, 1997; Bradley *et al.*, 1998). Adanya polimorfisme pada mikrosatelit spesifik kromosom Y dapat dijadikan titik awal dalam menyediakan informasi tentang studi variasi genetik paternal pada sapi maupun spesies yang terkait. Indikasi ditemukannya pseudogen hormon pertumbuhan (GH) spesifik jantan pada hewan domestikasi, menunjukkan bahwa kromosom sex dapat mempengaruhi proses diferensiasi individu. Peran kromosom sex terpaut sifat jantan pada hewan penting untuk diketahui secara lebih mendalam misal kemampuan dalam reproduksi.

Tabel 1. Nilai heterosigositas (*h*) dan *polimorphic information content* (*PIC*) alel DNA mikrosatelit kromosom Y pada populasi sapi penelitian

LOKUS	ACEH		PESISIR		MADURA		BALI		LOMBOK		PO		PFH	
	<i>h</i>	<i>PIC</i>	<i>h</i>	<i>PIC</i>	<i>h</i>	<i>PIC</i>	<i>h</i>	<i>PIC</i>	<i>h</i>	<i>PIC</i>	<i>h</i>	<i>PIC</i>	<i>h</i>	<i>PIC</i>
INRA 008	0.3	0.24	0.34	0.27	0.43	0.32	0.47	0.34	0.21	0.18	0.43	0.32	0	0
INRA 057	0	0	0.24	0.2	0.43	0.32	0.21	0.18	0.36	0.28	0.3	0.24	0	0
INRA 062	0.47	0.34	0.53	0.37	0.36	0.28	0.3	0.24	0.21	0.18	0.52	0.37	0	0
INRA 124	0.43	0.32	0.34	0.27	0.43	0.32	0.52	0.37	0.47	0.34	0.5	0.36	0.3	0.24
INRA 126	0	0	0.14	0.12	0.3	0.24	0.21	0.18	0.36	0.28	0.36	0.28	0.43	0.32
DYS 199	0.3	0.24	0	0	0.36	0.28	0.3	0.24	0.36	0.28	0.47	0.34	0	0
INRA 189	0.36	0.28	0	0	0.36	0.28	0.21	0.18	0.21	0.18	0	0	0.12	0.11
Rataan	0.27	0.20	0.23	0.18	0.38	0.29	0.32	0.25	0.31	0.25	0.37	0.27	0.12	0.10

Dari nilai *polymorphic information content* (*PIC*), marker DNA mikrosatelit kromosom Y menunjukkan nilai antara 0 hingga 0.37, dengan nilai rata-rata *PIC* antara 0.10 hingga 0.29, sehingga dari ketujuh lokus tidak terdapat satu lokuspun yang memiliki nilai *PIC* lebih dari 0.50. Karena tidak ditemukan nilai *PIC* lebih dari 0.5, maka lokus yang diuji dalam studi ini menjadi kurang informatif untuk analisis genetika populasi (Botstein *et al.* 1980). Untuk lokus INRA 062 dan INRA 124 yang dalam studi ini memiliki kecenderungan nilai heterosigositas dan *PIC* lebih tinggi dibandingkan lokus lain, maka dapat dipertimbangkan untuk diuji kembali pada populasi dengan catatan jumlah sampel diperbanyak dan letak geografis berbeda. Hal ini dengan asumsi bahwa semakin banyak sampel diduga akan semakin banyak muncul alel-alel lain sehingga dapat dijustifikasi sebagai alel polimorfik sebagaimana ketentuan FAO. Demikian pula berdasarkan nilai heterosigositas di atas 50%, berarti keragaman genetik dalam populasi tersebut cukup tinggi, sehingga apabila jumlah individu populasi ditambah maka akan menambah tingkat keragaman dalam populasi yang diamati.

### KESIMPULAN

Penggunaan penciri DNA mikrosatelit spesifik kromosom Y dalam studi ini untuk mempelajari variasi genetik sapi-sapi lokal Indonesia dengan harapan bahwa potensi genetik yang sesungguhnya dari sapi-sapi tersebut dapat diidentifikasi dan kemudian dapat ditetapkan strategi pengembangannya. Pengamatan terhadap sapi jantan dengan dasar bahwa kondisi saat ini di Indonesia strategi budidaya peternakan masih berbasis teknologi Inseminasi Buatan (IB). Sehingga dengan mengevaluasi mutu genetik pejantan secara umum diharapkan dapat memperbaiki mutu genetik secara umum, sebab distribusi genetik dilakukan melalui distribusi sperma dalam kegiatan Inseminasi Buatan.

Adanya kecenderungan bahwa lokus INRA 062 dan INRA 124 memiliki nilai heterosigositas maupun *PIC* lebih tinggi dari lokus lain, maka apabila hendak dilakukan studi sejenis di masa mendatang sebaiknya digunakan jumlah sampel lebih banyak dan

cakupan letak geografis lebih luas. Dari hasil penelitian yang menunjukkan bahwa seluruh lokus mikrosatelit kromosom Y yang diuji memiliki polimorfisme rendah, maka untuk evaluasi genetik lebih lanjut pada sapi-sapi lokal Indonesia yang menggunakan lokus mikrosatelit kromosom Y hendaknya dapat digunakan lokus mikrosatelit lebih banyak lagi, sehingga spesifikasi sapi lokal Indonesia dapat ditentukan dengan lebih tepat.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick, R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32 : 314-331.
- Bradley, D.G. *et al.* 1994. Zebu-taurine variation in Y chromosomal DNA a sensitive assay for genetic introgression in West African trypanotolerant cattle populations. *Anim. Genet.* 25: 7-12.
- Bradley, D.G., R.T. Loftus, P. Cunningham, D.E. MacHugh. 1998. Genetics and Domestic Cattle Origin. *Evolutionary Anthropology*. Willey-Liss, Inc. hlm. 79-86.
- Ge, W., M.E. Davis, H.C. Hines, K.M. Irvin. 2002. Identification of genetic marker for growth and carcass traits in beef cattle. *Research and Review. Beef & Sheep. Bulletin Extension. Special Circular*. Ohio: The Ohio State University. hlm. 170-99.
- Hellborg, L., H. Ellegren. 2004. Low levels of nucleotide diversity in mammalian Y chromosomes. *Mol. Biol. Evol.* 21 : 158-63
- Hurles, M.E., M.A. Jobling. 2001. Haploid chromosomes in molecular ecology: lessons from the human Y. *Mol. Ecol.* 10: 1599-1613.
- [KMNRT] Kantor Menteri Negara Riset dan Teknologi. 2000. Laporan Akhir Riset Unggulan Terpadu VI (1997-1999) dengan judul Pemetaan Genom Sapi Bali: Strategi Awal dan Upaya Memproduksi "Tandemly Repeated Sequence" dan "Intersperse Repetitive Sequence" Sebagai Penciri DNA (DNA Marker) oleh Muladno, R.R. Noor, B. Tappa. Jakarta : KMNRT.
- Leung, H., R.J. Nelson, J.E. Leach. 1993. Population structure of plant pathogenic fungus and bacteria. *Adv. Plant Pathol.* 10: 157 - 205.
- Lindgren, G. *et al.* 2004. Limited number of patrines in horse domestication. *Nature Genetics* 36: 335-6.
- MacHugh, D.E., M.D. Shriver, R.T. Loftus, P. Cunningham, D.G. Bradley. 1997. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics* 146: 1071-1086.
- Meadows, J.R.S., R.J. Hawken, J.W. Kijas. 2004. Nucleotide diversity on the ovine Y chromosome. *Animal Genetics* 35: 379-385.
- Meadows, J.R.S. *et al.* 2006. Globally dispersed Y chromosomal haplotypes in wild and domestic sheep. *Animal Genetics* 37: 444-453.
- Muladno, R.R. Noor, B. Tappa. 2000. Pemetaan Genom Sapi Bali: Strategi Awal dan Upaya Memproduksi "Tandemly Repeated Sequence" dan "Intersperse Repetitive Sequence" Sebagai Penciri DNA (DNA Marker). Laporan Akhir Riset Unggulan Terpadu VI (1997-1999). Dewan Riset Nasional, Kantor Menteri Negara Riset dan Teknologi, Jakarta.

- Namikawa, T., Y. Matsuda, K. Kondo, B. Pangestu, H. Martojo. 1980. Blood Groups and Blood Protein Polymorphisms of Different Types of the Cattle in Indonesia. The Origin of Phylogeny of Indonesian Native Livestock (Report by Grant-in-Aid for Overseas Scientific Survey, No. 404315). Bogor: The Research Group of Overseas Scientific Survey. hlm. 35-45.
- Namikawa, T., T. Amano, B. Pangestu, S. Natasasmita. 1982a. Electrophoretic Variation of Blood Protein & Enzymes in Indonesian Cattle and Bantengs. The Origin of Phylogeny of Indonesian Native Livestock (Report by Grant-in-Aid for Overseas Scientific Survey, No. 57043041). Bogor: The Research Group of Overseas Scientific Survey. hlm. 35-42.
- Namikawa, T., K. Kondo, O. Takenaka, K. Takahashi. 1982b. A Comparison of the Amino Acid Compositions of Tryptic Peptides from the  $\beta$  chain of Haemoglobin X<sup>Bali</sup> of the Bali Cattle ( $\beta^{X^{Bali}}$ ) with Other  $\beta$  Variants of Domestic Cattle. The Origin of Phylogeny of Indonesian Native Livestock (Report by Grant-in-Aid for Overseas Scientific Survey, No. 57043041). Bogor: The Research Group of Overseas Scientific Survey. hlm. 43-48.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. New York : Columbia University Press.
- Noor, R.R., Muladno, B. Benyamin, Z. Hedah, Herliantin. 2000. Uji Kemurnian Sapi Bali Melalui Protein, DNA Mikrosatelit, Struktur Bulu dan Kromosom [laporan penelitian]. Bogor: Fakultas Peternakan IPB dan Pusat Inseminasi Buatan Singosari.
- Pandey, A.K., R. Sharma, Y. Singh, B.B. Prakash, S.P.S. Ahlawat. 2006. Genetic diversity studies of Kherigarh cattle based on microsatellite markers. J. Genetics, 85 (2) : 117-122.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 2nd Edition. Washington: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schearf, B. (ed.). 2003. World Watch List for Domestic Animal Diversity. FAO 2003.
- Tegelström, H. 1986. Mitochondrial DNA in natural population: an improved routine for the screening of genetic variation based on sensitive silver stain. Electrophoresis 7 : 226-229.
- Winaya, A. 2000. Penggunaan penanda molekuler mikrosatelit untuk deteksi polimorfisme dan analisis filogenetik genom sapi [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Winaya, A., Muladno, B. Tappa. 2000. Variasi genetik berdasarkan 16 lokus mikrosatelit pada populasi sapi bali dan madura [makalah]. Di dalam: Kongres dan Seminar Nasional II Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia (PBPI); Yogyakarta, 7-8 November 2000.