

**POLIMORFISME LOKUS MIKROSATELIT DRB3 SAPI BALI
DI NUSA PENIDA**

MUAZIN¹⁾, PUTU SUASTIKA²⁾, I NENGAH WANDIA¹⁾

Lab. Anatomi veteriner¹⁾, Lab Histologi veteriner²⁾

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana

Jl. P.B Sudirman. Denpasar

E-mail: Muazin2@gmail.com

ABSTRAK

Genetik populasi menggambarkan besarnya variasi genetik dalam populasi dan mekanisme untuk mempertahankan variasi tersebut. Tingkat keragaman genetik suatu populasi dapat memberikan petunjuk mengenai keadaan populasi di masa mendatang. Keragaman genetik rendah akan membahayakan kelestarian suatu populasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui polimorfisme alel lokus mikrosatelit DRB3, yang meliputi jenis dan jumlah alel, frekuensi alel dan heterozigositas pada sapi bali di Nusa Penida. Sejumlah 21 sampel darah sapi bali dari Nusa Penida diambil sebagai sumber DNA. Darah diekstraksi menggunakan QIAamp DNA *Blood Mini Kit* dari *QIAGEN*, Amplifikasi lokus mikrosatelit DRB3 menggunakan dengan teknik PCR dengan suhu annealing 58⁰C. Produk PCR yang merupakan suatu alel dipisahkan melalui elektroforesis pada gel acrilamid 7% dan dimuculkan dengan pewarnaan perak. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sejumlah tujuh alel terdeteksi pada lokus DRB3 di populasi Nusa Penida, dengan panjang alel berkisar 140-229 pasang basa. Frekuensi alel berurutan dengan frekuensi tertinggi (0,29) untuk alel 194, disusul oleh alel 178 (0,24), alel 211 (0,21), alel 170(0,19) dan alel 140, 155, serta alel 224 masing-masing dengan frekuensi 0,02. Nilai heterozigositas sapi bali Nusa Penida menggunakan lokus mikrosatelit DRB3 sebesar 0,80. Data disimpulkan bahwa lokus mikrosatelit DRB3 bersifat polimorfik populasi sapi bali di Nusa Penida.

Kata kunci : Polimorfisme Lokus Mikrosatelit DRB3 dan Genotip sapi bali.

ABSTRACT

Genetic population describe the amount of genetic variation within populations and mechanisms to sustain such variations. The level of genetic diversity of a population may provide clues about the state of population in the future. Low genetic diversity would endanger the sustainability of the population. This study aims to determine the microsatellite locus DRB3 allele polymorphism, which includes the type and number of alleles, allele frequencies and heterozygosity at Nusa Penida Bali cattle.

A number of 21 blood samples of Nusa Penida Bali cattle is taken as a source of DNA. Blood was extracted using QIAamp DNA Blood Mini Kit from QIAGEN, DRB3 microsatellite loci amplification using PCR techniques with annealing temperature of 580C. A PCR products were separated by electrophoresis on allele acrilamid 7% gel and stained with silver dimuculkan. The results of this study indicate that the number of alleles detected in seven DRB3 locus in a population Nusa Penida, with lengths ranging from 140-229 base pairs of alleles. The frequency of allele sequence with the highest frequency (0.29) for allele 194, followed by allele 178 (0.24), allele 211 (0.21), allele 170 (0.19) and allele 140, 155, and 224 respectively alleles each with a frequency of 0.02. Heterozygosity values Nusa Penida Bali cattle using microsatellite locus DRB3 at 0.80. The data concluded that microsatellite loci are polymorphic DRB3 Bali cattle population on Nusa Penida.

Keyword : Microsatellite loci are polymorphic DRB3 end Cattle Bali.

PENDAHULUAN

Sapi bali merupakan sapi keturunan *Bos sondaicus* (*Bos banteng*) yang berhasil dijinakkan dan mengalami perkembangan pesat di pulau Bali (MacHugh *et al.*, 1997). Sapi bali mempunyai bentuk dan karakteristik sama dengan banteng. Sapi bali termasuk sapi dwiguna (kerja dan potong). Populasinya di Bali saat ini ditaksir sekitar 526.031 ekor (Ditjen Bina Reproduksi Peternakan, 2002). Kekhawatiran akan terus menurunnya populasi sapi bali dipicu oleh kenyataan bahwa selama krisis ekonomi, tingkat permintaan sapi lokal meningkat seiring mahalnya harga daging sapi impor.

Sapi bali memperlihatkan kemampuannya untuk berkembang biak dengan baik yang disebabkan beberapa keunggulan yang dimiliki sapi bali. Keunggulan sapi bali dibandingkan sapi lain yaitu memiliki daya adaptasi sangat tinggi terhadap lingkungan yang kurang baik (Darmadja, 1990), dapat memanfaatkan pakan dengan kualitas rendah (Sastradipradja, 1990), mempunyai fertilitas yang sangat baik (Darmadja, 1990), persentase karkas yang tinggi yaitu 52-57,7% (Payne dan Rollinson, 1973), memiliki daging berkualitas baik dengan kadar lemak rendah (kurang lebih 4%), dan tahan terhadap parasit internal dan eksternal (Payne dan Hodges, 1997). Dengan berbagai keunggulan yang dimiliki tersebut dan mengingat Indonesia merupakan pusat sapi bali di dunia maka sapi bali merupakan aset nasional yang perlu dilestarikan.

Sapi bali menyebar diseluruh kepulauan di Indonesia, salah satunya adalah Nusa Penida. Keberadaan sapi bali di Nusa Penida perlu mendapat perhatian karena kawasan Nusa Penida dijadikan pusat pengembangan sekaligus pusat pembibitan sapi bali (Pemda Klungkung, 2005). Terkait dengan hal tersebut, data morfometri (variasi morfologi) dan variasi genetik sapi bali di Nusa Penida sangat penting sebagai bahan pertimbangan untuk seleksi, pemuliabiakan dan konservasi sapi bali ke depan.

Sapi bali memiliki kemampuan adaptasi yang baik. Namun demikian, sapi bali ternyata memiliki kerentanan yang sangat tinggi terhadap beberapa jenis penyakit. Sapi bali sangat peka terhadap penyakit jembrana dan *Malignant Catarrhal Fever* (MCF) (Ressang, 1984).

Salah satu faktor yang menentukan ketahanan individu terhadap penyakit adalah *Major Histocompatibility Complex* (MHC) yang pada sapi dikenal dengan sebutan *Bovine Leukocyte Antigen* (BoLA) (Untalan *et al.*, 2006). MHC menciri dengan banyaknya alel dalam setiap lokus serta keragaman asam amino pada setiap alelnya (Bastos-Silveira *et al.*, 2007).

Gen BoLA berperan penting pada reaksi imum tubuh sapi terhadap berbagai penyakit, namun pengungkapan polimorfisme gen BoLA sapi bali sehubungan dengan kerentanannya terhadap penyakit jembrana belum banyak dilakukan. Kulberg *et al.* (2007) menyatakan bahwa terdapat hubungan antara kepekaan terhadap penyakit dengan keragaman gen BoLA-DRB3. Sifat polimorfisme yang tinggi menimbulkan variasi ekspresi yang berbeda pada setiap individu. Sampai saat ini belum dilakukan penelitian tentang polimorfisme mikrosatelit DRB3 pada sapi di Indonesia. Oleh karena itu, peneliti melakukan penelitian mengungkap polimorfisme lokus mikrosatelit DRB3 pada sapi bali di Nusa Penida.

METODE PENELITIAN

Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah darah sapi bali yang di-*sampling* dari Nusa Penida sebagai sumber DNA.

Bahan – bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: *QIAam DNA Blood Mini Kits*, Alkohol, Aquades, Rnase, etanol 100%, seperangkat bahan PCR (MgCl, dNTP, Buffer PCR, Aquades bebas ion, enzim DNA polimerase), seperangkat bahan elektroforesis (larutan akrilamit 30%, APS , buffer TBE 5 X), seperangkat bahan pewarnaan perak (CTAB, aquades, amoniak, perak nitrat, As. Asetat 1%, sodium karbonat dan formalin), dan primer mikrosatelit DRB3.

Primer Mikrosatelit

DRB 3 F + R

F G-A-G-A-G-T-T-T-C-A-C-T-G-T-G-C-A-A

R C-G-C-G-A-A-T-T-C-C-C-A-G-A-G-T-G-A-G-T-G-A-A-G-T-A-T-C-T

Peralatan yang digunakan

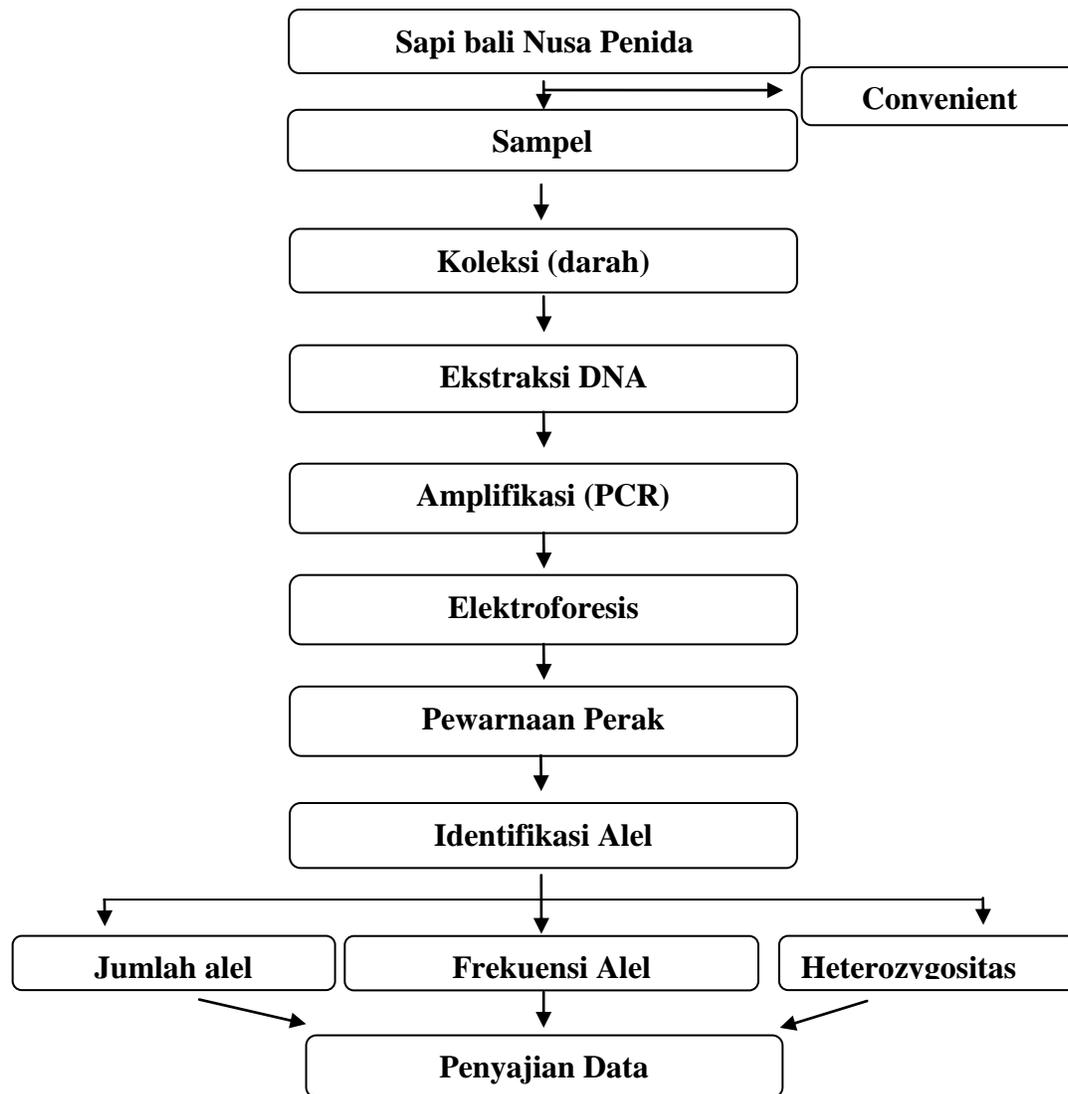
Peralatan yang digunakan selama penelitian ini antara lain *tube* berisi anti koagulan, vortex, kotak es, *centrifuge*, mikropipet, tip, tabung mikro, rak tabung mikro, seperangkat alat visualisasi, seperangkat alat PCR, seperangkat alat elektroforesis, seperangkat alat pewarnaan perak, dan timbangan elektrik.

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan penelitian observasional deskriptif *cross-sectional*.

Kerangka Penelitian

Kerangka penelitian digambarkan sebagai berikut .



Gambar 2. Kerangka Penelitian

Variabel Penelitian

Variabel yang akan diamati dalam penelitian ini adalah

Jumlah Alel

Jumlah alel yaitu banyaknya alel yang dapat ditemukan pada lokus mikrosatelit DRB3 dalam populasi sapi bali di Nusa Penida.

Frekuensi Alel

Frekuensi alel merupakan jumlah alel relatif masing-masing alel pada lokus DRB3 dalam populasi sapi bali di Nusa Penida dalam persen (%) atau desimal.

Heterozygositas

Heterozygositas ialah keragaman genetik populasi yang diduga dengan mengamati hasil frekuensi alel.

Cara pengumpulan data (*Sampling*)

Sampling dilakukan dengan menggunakan metode *convenient Sampling* pada 21 ekor sapi bali di Nusa Penida.

Prosedur Penelitian

Cara Pengambilan Sampel Darah

Sampel adalah berupa darah sapi sebanyak 10 cc yang diambil dari *vena jugularis* dengan menggunakan *venojek* yang telah berisi anti koagulan berupa heparin. Sampel kemudian disimpan dalam termos es dan selanjutnya disimpan pada *freezer* sampai dilakukan ekstraksi DNA.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA menggunakan *kits (blood mini kits)* dari QIAGEN dengan tahapan pengerjaan sebagai berikut: Tahap pertama, enzim protease 20 µl, sampel darah sapi bali 200 µl, dan buffer AL 200 µl dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 µl kemudian dicampur dengan menggunakan vorteks selama 15 detik. Campuran ini diinkubasi pada suhu 56⁰C selama 10 menit, selanjutnya dipusing beberapa saat untuk menurunkan embun yang menempel pada tutup tabung eppendorf. Tahap kedua, ethanol (96-100%) 200 µl ditambahkan pada sampel kemudian dicampur menggunakan vorteks selama 15 detik dan dipusing beberapa saat untuk menurunkan embun yang menempel pada tutup tabung eppendorf. Tahap ketiga, campuran ini dimasukkan ke dalam tabung minispindan dipusing pada 6000x g selama 1 menit, selanjutnya memindahkan isi tabung minispin ini ke dalam tabung minispin yang baru (ambil bagian atas, bagian bawah yang mengandung filtrat dibuang). Tahap keempat yaitu memasukkan buffer AW1 500 µl ke dalam tabung minispin kemudian dipusing selama 1 menit pada 6000x g, selanjutnya memindahkan isi tabung minispin ini ke dalam tabung minispin yang baru (ambil bagian atas, bagian bawah yang mengandung filtrat dibuang). Tahap kelima masukkan buffer AW2 500 µl ke dalam tabung minispin dan dipusing selama 3 menit pada 20000x g. Tahap keenam memindahkan isi tabung

minispin ke tabung eppendrof 1,5 ml, kemudian ditambahkan buffer AE 200 μ l, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang (15-25⁰C) selama 1 menit. DNA yang diperoleh disimpan pada suhu -20⁰C untuk proses selanjutnya.

Hasil ekstraksi dilihat dengan cara elektroforesis pada gel agrosa 0,5% volume 80 ml dalam larutan 1 x TAE (Tris Acetat EDTA) pH 0,8 dengan menggunakan marka DNA λ HindIII untuk mengetahui adanya fragmen DNA dengan berat molekul tinggi (*high molecular weight* DNA). Fragmen dimunculkan dengan pewarna etidium bromide setelah dimigrasi selama 35 menit dengan voltase 50 V.

Amplifikasi Lokus Mikrosatelit DRB3

Amplifikasi lokus mikrosatelit DRB3 menggunakan teknik PCR dengan volume akhir 12,5 μ l. Satu unit reaksi PCR terdiri atas : 10 x Buffer Taq 1,25 μ l, 25 mMol, MgCl₂ 1 μ l, 10 mMol dNTP 0,2 μ l, 10 μ m, primer F 0,5 μ l, 10 mMol, primer R 0,5 μ l 10 mMol, DW (air) 7,95 μ l, 5 μ l, DNA polimerase 0,1 μ l, template 1 μ l.

Reaksi PCR dilakukan 3 tahapan yaitu Pre PCR, dan Post PCR. Pre PCR dilakukan selama satu siklus dengan tahapan denaturasi (94 ⁰C) selama 5 menit. PCR dilakukan selama tiga puluh siklus dengan tahapan denaturasi (94 ⁰C) selama 40 detik , annealing (58 ⁰C) selama 40 detik dan elongasi (37⁰C) selama 40 detik. Post PCR yaitu PCR dilakukan selama satu siklus dengan waktu elongasi (72⁰C) selama 5 menit.

Elektroforesis

Pembuatan Gel Acrilamid 7%.

Langkah-langkah dalam pembuatan Gel Poliakrilamid 7% dengan volume 25 ml yaitu memasukkan air (DW) 15 ml ke dalam gelas beker dihomogenisasi (sampai larutan jernih). Selanjutnya menambahkan akrilamid 30% sebanyak 5 ml, APS sebanyak 150 μ l, temed sebanyak 15 μ l (larutan dihomogenisasi). Larutan dituang ke dalam cetakan gel vertikal yang telah disiapkan terlebih dahulu. Letakkan sisir di atas cetakan gel untuk membentuk sumur-sumur pemuat dan dibiarkan sampai campuran memadat menjadi gel.

A. Elektroforesis pada Gel Poliakrilamid Vertikal

Elektroforesis dilakukan dengan mencampurkan 1 μ l produk PCR dengan 0,2 μ l 5x loading dye kemudian masukan ke dalam sumur pada gel akrilamid yang sebelumnya telah

disiapkan. Kemudian menghidupkan alat elektroforesis tegangan 125 volt selama 90 menit. Setelah selesai gel disiapkan untuk pewarnaan Perak.

Pewarnaan Perak

Tahapan pewarnaan perak adalah sebagai berikut gel dilepas dari cetakan dan ditempatkan pada wadah gel. Tuangkan larutan ke-1 (terdiri atas CTAB 0,2 gram dalam air deionase dengan volume akhir 200 ml) ke dalam wadah gel dan gel dibiarkan terendam selama 5 menit sambil digoyang. Larutan 1 dibuang, kemudian gel dicuci dengan 200 ml air deionase selama 5 menit. Air dibuang, lalu tuangkan larutan ke-2 (2,4 ml NH_4OH dalam air deionase dengan volume akhir 200 ml) sambil digoyang selama 5 menit. Larutan ke-2 dibuang, selanjutnya masukkan larutan ke-3 (0,23 g AgNO_3 , 0,08 NaOH 10 N, 0,8 ml NH_4OH dalam air deionase dengan volume akhir larutan 200 ml) dan digoyang selama 7 menit. Kemudian buang larutan ke-3 dan dicuci dengan larutan deionase selama 5 menit. Air bekas pencucian dibuang lalu ditambahkan larutan ke-4 (4 g Na_2CO_3 , 100 μl formaldehida dalam air deionase sehingga volume akhir 200 ml) sambil digoyang sampai muncul pita. Larutan ke-4 segera dibuang setelah pita muncul, dan masukkan larutan ke-5 (asam asetat glasial 1% dengan volume 200 ml) untuk menghentikan reaksi perak. Selanjutnya gel dapat dipres dan direndam dulu dengan gliserol 20% sebelum dipres untuk tujuan penyimpanan yang lama.

Identifikasi Alel

Identifikasi alel dilakukan dengan cara mengukur jarak migrasi alel yang dibandingkan dengan marker molekuler 100 bp ladder. Alel dinyatakan dengan panjang basa.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari variabel akan diamati dalam penelitian ini adalah

Jumlah Alel

Menghitung jumlah alel setelah dilakukan pelurusan pita-pita alel yang muncul pada gel akrilamid 7%.

Frekuensi Alel

Frekuensi alel dihitung dengan rumus 7.1 (Nei 1987)

$$X_i = \frac{(2N_{ii} + N_{ij})}{2N}$$

Ket : X_i adalah frekuensi alel 1

N_{ii} adalah jumlah individu yang bergenotip homozigot alel i.

N_{ij} adalah jumlah individu yang bergenotip heterozigot alel i.

N adalah jumlah total individu.

Heterozigositas

Heterozigositas dihitung dengan menggunakan rumus penduga tidak bias 8.4 (Nei, 1987).

$$\hat{h} = \frac{2N(1 - \sum x_i^2)}{2N - 1}$$

ket : \hat{h} adalah heterozigositas.

N adalah jumlah individu

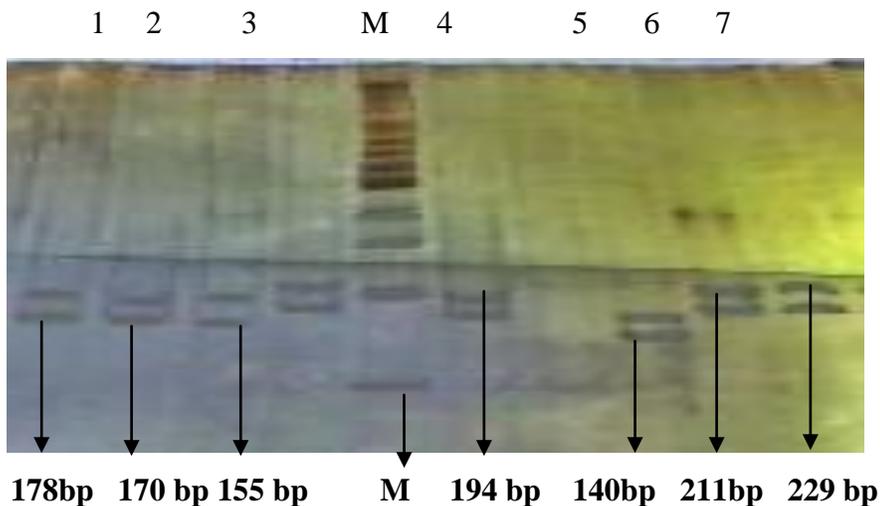
x_i adalah frekuensi alel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Identifikasi Alel

Identifikasi alel lokus mikrosatelit DRB3 melalui elektroforesis dalam gel akrilamid 7% memperlihatkan tujuh buah alel. Alel dinyatakan dengan panjang basa dan identifikasinya didasarkan atas perbedaan jarak migrasi pada gel. Alel yang berbeda bergerak dengan kecepatan yang berbeda sehingga terjadi pemisahan jarak migrasi (Gambar 3).



Gambar 3. Alel DRB3 yang Terobservasi pada Populasi Sapi Bali di Nusa Penida (Elektroforesis pada Gel Acrilamid 7%). Nomor 1–7 = Nomor sampel. M = Penanda (100 bp ladder) 1 = **178/194**; 2 = **170/194**; 3 = **155/194**; 4 = **170/194**; 5 = **140/170**; 6 = **194/211**; 7 = **211/229**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 2 ekor sapi bergenotip homozigot 178/178, 194/194 dan yang lain bergenotip heterozigot. Genotip sapi bali ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Genotip Sapi Bali Nusa Penida dengan Lokus Mikrosatelit DRB3

No	Genotip	Jumlah sapi (ekor)
1	140 / 170	1
2	155 / 194	1
3	170 / 194	6
4	170 / 211	1
5	178 / 178	1
6	178 / 194	2
7	178 / 211	6
8	194 / 194	1
9	194 / 211	1
10	211 / 229	1

Frekuensi Alel

Alel yang terdeteksi berkisar antara 140 pasang basa sampai dengan 229 pasang basa. Alel 194 memperlihatkan frekuensi tertinggi (0,29). Sedangkan alel 140, 155, dan 229 menyebar dengan frekuensi yang sama (0,02) (Tabel 2).

Frekuensi Alel Mikrosatelit DRB3 Sapi Bali di Nusa Penida

No	Jenis alel	Frekuensi alel
----	------------	----------------

1	140	0,02
2	155	0,02
3	170	0,19
4	178	0,24
5	194	0,29
6	211	0,21
7	229	0,02

Heterozigositas Alel

Heterozigositas sapi bali di Nusa Penida dengan menggunakan lokus mikrosatelit DRB3 sebesar 0,80. Heterozigositas dihitung dengan menggunakan rumus penduga tidak bias 8.4 (Nei, 1987).

Pembahasan

Keragaman genetik dari suatu populasi dapat dideteksi pada berbagai jenjang, seperti keragaman alel pada protein (lokus struktural) (Kawamoto dan Ischak, 1981), polimerfisme suatu spemotongan DNA oleh enzim (Hoelzer dan Dover, 1992), dan polimorfisme mikrosatelit (Cooper *et al.*, 1997).

Penggunaan mikrosatelit sebagai penanda molekuler semakin meningkat akhir-akhir ini. Variasi alel mikrosatelit dapat dihitung melalui pemisahan produk PCR secara elektroforesis. Dengan mengidentifikasi pita yang timbul setelah elektroforesis (satu pita untuk homozigot dan dua pita untuk heterozigot pada organisme diploid) maka genotip satu individu dapat ditentukan dan frekuensi alelnya dalam populasi dapat dihitung (Lessa dan Aplebaum, 1993).

Hasil penelitian menggunakan lokus mikrosatelit DRB3 pada 21 ekor sapi bali di Nusa Penida teridentifikasi 7 jenis alel. Jumlah ini lebih sedikit dari jenis alel dengan menggunakan marker mikrosatelit yang sama pada *Bos Taurus* dan *Bos Indicus* di *United States of America* (Untalan *et al.*, 2006). Untalan dan kawan-kawan menemukan 9 jenis alel dari 25 ekor sapi yang diteliti.

Frekuensi sejumlah alel yang sangat rendah perlu mendapat perhatian seperti pada alel 140 (0.02), alel 155 (0.02), dan alel 229 (0.02). Rendahnya frekuensi sejumlah alel kemungkinan besar sebagai akibat dari *random genetic drift*. Kemungkinan lain bahwa alel tersebut produk mutasi terkini sehingga belum tersebar keseluruh anggota populasi (Wandia, 2001). Terlepas dari penyebab, alel tersebut yang merupakan suatu varian keanekaragaman genetik suatu populasi harus dipertahankan keberadaannya. Manajemen konservasi semestinya diarahkan untuk melestarikan varian genetik yang ada (Wandia, 2001).

Parameter yang dapat digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam populasi adalah nilai heterozigositas (Rachman, 2008). Laju peningkatan heterozigositas adalah akibat dari adanya silang luar (*outbreeding*) yang bergantung pada perbedaan genetik. *Outbreeding* berpengaruh dalam meningkatkan genotip heterozigot dan genotip homozigot (Rachman, 2008).

Hasil penelitian menunjukkan heterozigositas sapi bali di Nusa Penida dengan lokus mikrosatelit DRB3 sebesar 0,80. Abdullah *et al.* (2008) melakukan peneliti genetik sapi bali menggunakan 16 lokus mikrosatelit mendapatkan rata-rata heterozigositas sebesar 0,491. Nilai heterozigositas yang dilakukan Abdullah (2008) lebih kecil dibandingkan dengan penelitian ini. Perbedaan ini mungkin berkaitan dengan beberapa hal, diantaranya 1) Pada penelitian Abdullah *et al.* (2008) sampel berasal dari P3 Bali (areal terbatas), sedangkan pada penelitian ini sampel diambil pada populasi sapi bali di Nusa Penida (areal yang lebih luas), 2) rata-rata heterozigositas yang didapatkan pada penelitian Abdullah (2008) berasal dari rata-rata lokus polimorfik dan monomorfik, 3) perbedaan marker molekuler yang digunakan. Penelitian ini menggunakan lokus mikrosatelit DRB3 yang posisinya didalam kompleks MHC dan menunjukkan keragaman genetik yang tinggi (polimorfik). Kenyataan ini sesuai dengan konsep MHC yang dicirikan oleh banyaknya alel dalam setiap populasi (Bastos-Silveira *et al.*, 2007). Untuk memastikan struktur genetik suatu populasi terutama populasi sapi Nusa Penida perlu dilakukan eksplorasi genetik lebih lanjut dengan menggunakan beberapa marker molekuler mikrosatelit.

SIMPULAN

Lokus mikrosatelit DRB3 bersifat polimorfik dalam populasi sapi bali di Nusa Penida. Sejumlah 7 alel terdeteksi dalam lokus mikrosatelit DRB3 sapi bali di Nusa Penida. Penggunaan lokus mikrosatelit DRB3 untuk mengukur keragaman genetik sapi bali di Nusa Penida menunjukkan nilai heterozigositas sebesar 0,80.

SARAN

Untuk lebih mengetahui struktur genetik dan kisah pemisahan populasi sapi bali yang ada di Bali, perlu dilakukan penelitian yang sama dengan menggunakan Sampel yang lebih banyak dan atau menggunakan penanda molekuler seperti DNA mitokondria dan kromosom Y.

Penelitian genetika populasi mesti dilakukan secara regular sehingga perkembangan suatu varian keanekaragaman genetik dapat diikuti dan penyusunan manajemen pemuliaan lebih diarahkan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Staf Ahli dan bagian administrasi Laboratorium Pusat Penelitian Satwa Primata, Lembaga penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Udayana. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada dosen pembimbing serta civitas akademika Kedokteran Hewan Universitas Udayana.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah M, Noor A N, Solihin R.R D D. 2008. *Karakterisasi Genetik Sapi Aceh Dengan Menggunakan DNA Mikrosatelit*. J Indon. Trop. Agric. 33: 165-175.
- Bastos-Silveira C, Luís C , Ginja C, Gama LT Oom MM. 2007. *Genetic variation in BoLA microsatellite loci in Portuguese cattle breeds*. Anial Genetic 40: 101-105.
- Cooper S J B.1997. *Characterization of microsatellite loci from socially monogamous lizard *Tilapia rugosa* using a PCR-based isolation technique*. Moleculer ecology. 6: 793-795

- Darmadja D.1990. Setengah Abad Peternakan Sapi Tradisional dalam Ekosistem Pertanian di Bali. Disertasi Universitas Padjajaran Bandung.
- Ditjen Bina Reproduksi Peternakan. 2002. Seminar Nasional Sapi Bali Denpasar.
- Hoelzer AR, Dover G.A. 1992. *Moleculer Genetoc Eccology*. Oxford University Ptes. New York.: 45- 56.
- Kulberg S, Heringstad B, Guttersrud OA, Olsaker I. 2007. *Study on the association of BoLA-DRB3. 2 alleles with clinical mastitis in Norwegian Red cows*. Journal of Animal Breeding and Genetics 124, 201–7.
- Lessa E P, Applbaum G. 1993. *Screening techniques for detecting allelic variation in DNA sequens*. Moleculer Ecology, 2 : 119-129
- MacHugh D E, Shriver MD, Loftus RT, Cunningham P, Bradley D G.1997. *Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (Bos taurus and Bos indicus)*, Genetics 146 : 1071 _ 86.
- Nei M.1987. *Moleculer evolutioary genetic* Colombia Universiti Press New York :149-178.
- Payne W J A, Hodges J. 1997. *Tropical cattle: origin, breeds and breeding policies*. Blackwell Science.
- Payne W J A, Rollingson D H L.1973. Bali cattle. World Anim. Rev. 7, 13-21
- Pemerintah Daerah Kabupaten Klungkung. 2005. “Profil Kabupaten Klungkung ; Keadaan geografi Kecamatan Nusa Penida” (Online). <http://www.klungkungkab.go.id> . Diakses 1 April 2011.
- Ressang.1984. Buku Ajar Patologi khusus veteriner. Team Leder IFAD project : Bali cettle disease investigation unit. Denpasar Bali.
- Rachman RH. 2008. Genetik Ternak. Penerbit PT Penebar Swadaya, Bogor.
- Sastradripraja D. 1990. “*Bali cattle internal potency as one of germplasm for supporting national beef cattle development*” makalah yang disajikan dalam acara Seminar Nasional Sapi Bali yang diselenggarakan Universitas Udayana, Denpasar tanggal 20-22 September 1990.
- Untalan, Pia M, John H, Pruett, Steelman D C. 2006. *Association of the bovine leukocyte antigen major histocompatibility complex class II DRB3 4401 allele with host resistance to the lone star tick amblyomma americanum*. United States of America.

Wandia I.N., 2001. *Variasi Genetik Monyet Ekor Panjang (Macaca fascicularis) di Beberapa Lokasi Pariwisata di Bali*. Tesis. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.