

Variasi Genetik Gen Myostatin Ekson 3 pada Sembilan Bangsa Kambing Lokal di Indonesia

(Genetic Variation of Myostatin Gene in Exon 3 of Nine Local Goat Breeds in Indonesia)

Rissa Herawati Ginting¹, Achmad Farajallah^{1*}, Dyah Perwitasari Farajallah¹, Aron Batubara²

(Diterima Juni 2016/Disetujui Mei 2017)

ABSTRAK

Gen myostatin berperan dalam membantu mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan jaringan otot. Identifikasi keragaman genetik pada sembilan bangsa kambing lokal Indonesia telah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi keragaman gen myostatin ekson 3 pada kambing lokal di Indonesia. Sebanyak 10 sampel dipilih dari 80 sampel darah kambing yang dikoleksi terdiri masing-masing sampel dari populasi kambing, yaitu bangsa kambing Samosir, Muara, Kacang, Kosta, Peranakan Etawah, Burawa, Gembrong, Boer, dan Boerka. Keragaman gen dan perubahan basa nukleotida diidentifikasi dengan menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) dan teknik sekuensing. Hasil analisis menunjukkan bahwa ada delapan variasi yang diidentifikasi sesuai dengan yang ditemukan dalam hasil sekuensing. Variasi delesi ditemukan pada kambing Kosta dan Samosir pada posisi basa T552- dan G560-. Variasi substitusi nukleotida ditemukan pada kambing Gembrong (A7C & A11T), Peranakan Etawah (T10A & A11T), Burawa (T10A & A11T), Muara (A11T), Samosir (A11T), dan Boerka (A182T, T437A, T439A, & A445G). Variasi pada puncak kromatogram yang saling tumpang tindih terdapat pada posisi basa ke-13. Analisis varian menunjukkan bahwa terdapat mutasi khusus pada ekson 3 yang memengaruhi asam aminonya, yaitu tyrosin menjadi lisin. Varian yang ditemukan pada sembilan bangsa kambing berkaitan dengan hubungan kekerabatan dan jarak genetik yang dimiliki setiap kambing, di mana kambing Boerka memiliki tingkat keragaman tertinggi, hal ini menunjukkan bahwa kambing Boerka merupakan hasil persilangan.

Kata kunci: kambing, myostatin, PCR, tipe mutasi gen

ABSTRACT

Myostatin gene plays a role in helping to control the growth and development of muscle tissue. Identification of genetic diversity in nine local goat breeds in Indonesia has done. The aim of this study was to obtain information myostatin gene diversity of exon 3 in local goats in Indonesia. The total of 10 samples was selected from 80 samples of goat's blood collected comprising each sample of the population of goats breeds, i.e., Samosir, Muara, Kacang, Costa, Peranakan Etawah, Boerawa, Gembrong, Boer, and Boerka goats. The gene diversity and nucleotide base changes were identified by using *polymerase chain reaction* (PCR) and sequencing techniques. The analysis showed that there is eight variant identified in appropriate with those found in sequencing results. Deletion variations were found in Costa and Samosir goats in T552- and G560-. Substitution variations were found in Gembrong (A7C & A11T), Peranakan Etawah (T10A & A11T), Burawa (T10A & A11T), Muara (A11T), Samosir (A11T), and Boerka (A182T, T437A, T439A, & A445G). Variations on the chromatogram peak overlapping contained in the base position to 13. Analysis of variance showed that there was a special mutation in exon 3 that affects the amino acid tyrosine into lysine. Variants were found in nine goat breeds associated with phylogenetic and genetic distance of goats, Boerka goat has the highest level of genetic variation, it indicated that Boerka goat was crossbreed.

Keywords: goats, myostatin, PCR, types of mutation genes

PENDAHULUAN

Ternak kambing merupakan salah satu ternak yang memiliki potensi pengembangan yang baik dalam menyuplai kebutuhan. Pengembangan usaha ternak kambing didukung dengan sumber daya ternak

kambing lokal yang berkualitas dan adaptif terhadap kondisi lingkungan (Rusdiana *et al.* 2014). Faktor lingkungan adalah salah satu penyebab perbedaan kambing di Indonesia, sehingga ada fenotipe antara keturunan asli yang berbeda (Sulabda *et al.* 2012).

Pelestarian dan pengelompokan ternak menurut bangsa kambing dapat dimulai dengan sebutan khusus menurut wilayah, misalnya kambing Samosir di Sumatera Utara, Marica di Sulawesi Selatan, Benggala di Nusa Tenggara Barat, Muara di Sumatera Utara, Jawarandu di Jawa Tengah, Gembrong di Bali, dan jenis lainnya di daerah Indonesia. Pemanfaatan dan tujuan peruntukan kambing mengakibatkan performa

¹ Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

² Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian, Indonesia.

* Penulis Korespondensi:

E-mail: achamadfarajallah@gmail.com

pada kambing berbeda. Hal ini memengaruhi variasi gen yang terlibat pada pertumbuhan otot. Perkembangan dan kebutuhan yang tinggi akan karkas ternak maka diperlukan gen yang mengatur pertumbuhan massa otot untuk menghasilkan karkas atau daging yang banyak untuk mendukung kesinambungan hasil pertanian (Alakilli *et al.* 2012).

Salah satu gen yang penting untuk mengatur pertumbuhan massa otot adalah gen myostatin (Gan *et al.* 2008). Myostatin disandikan oleh gen myostatin yang tersusun atas satu promotor, tiga ekson, dan dua intron. Gen myostatin telah digunakan secara luas sebagai penanda fenomena *double muscling* pada ternak. Mutasi pada gen myostatin dapat menginaktivasi ekspresi dan menghasilkan protein non-fungsional yang memengaruhi pertumbuhan otot (Zhang *et al.* 2013). Identifikasi keragaman gen myostatin berperan penting dalam memengaruhi karakter pertumbuhan pada kambing. Dilihat pada fenomena empat populasi kambing memiliki berat badan lebih unggul pada genotipe AA daripada genotipe AC pada kambing Boer (An *et al.* 2011). Delesi pada promotor gen myostatin memberikan efek yang signifikan pada berat dan bentuk tubuh pada kambing (Li *et al.* 2008). Mutasi pada daerah intron 2 bersifat polimorfik, di mana mutasi lebih besar ditemukan diantara spesies kambing dan domba daripada sesama spesies (Li *et al.* 2006b). Mutasi pada daerah *coding* gen myostatin pada domba diketahui menyebabkan peningkatan massa otot sehingga membentuk fenotipe yang berbeda (Boman *et al.* 2009).

Penelitian tentang karakteristik daerah *coding* pada kambing lokal di Indonesia perlu dilakukan untuk meningkatkan kualitas kambing dalam hal pemuliaan hewan. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi keragaman gen myostatin exon 3 pada sembilan kambing lokal di Indonesia serta hubungan genetik antara sembilan bangsa kambing.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2015–Januari 2016 di Laboratorium Molekuler Bagian Fungsi Hayati dan Perilaku Hewan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Koleksi Sampel DNA Kambing

Sampel DNA yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel darah sembilan bangsa kambing yang terdiri dari 80 sampel, yaitu kambing Samosir (2), Muara (4), Kacang (10), Kosta (8), Peranakan Etawah (15), Burawa (13), Gembrong (4), Boer (14), dan Boerka (10). Semua sampel dikoleksi di Laboratorium Molekuler Bagian Fungsi dan Perilaku Hewan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan metode fenol kloroform diikuti oleh presipitasi etanol dengan sedikit modifikasi berdasarkan Sambrook *et al.* (1989). Sampel darah diawetkan dengan etanol, kemudian dihilangkan dengan melakukan pencucian dengan buffer TE 2–3 kali.

Amplifikasi DNA

Amplifikasi gen myostatin ekson 3 dilakukan dengan menggunakan sepasang primer Luci 5 (*forward*) 5'ATGTGACATAAGCAAAATGATTAG-3' dan Luci 6 (*reverse*) 5'CTTGTGCTTAAGTGACTGTAG-3' berdasarkan nomor urut aksesori EF591039, ukuran amplicon adalah sebesar 650 pb. Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR ESCO 2. Reaksi PCR dalam volume 25 µl, menggunakan PCR kit, *Gotaq green master mix*. Kondisi PCR yang digunakan pada tahap pre-denaturasi pada suhu 95 °C selama dua menit, denaturasi pada suhu 95 °C selama 45 detik, penempelan primer pada suhu 57 °C selama satu menit, dan pemanjangan DNA pada suhu 72 °C selama satu menit diulang dengan 30 siklus. Kualitas amplicon dideteksi dengan menggunakan PAGE 6% (*acrilamide: bisacrilamide rasio* 29:1) dan pewarnaan perak (Byun *et al.* 2009).

Analisis Data Sekuen

Reaksi sekuensing DNA menggunakan primer yang sama. Proses sekuensing dilakukan oleh perusahaan komersial. Bentuk kromatogram kemudian secara manual di edit menggunakan Bioedit versi 7.0.8.0 (Hall 2004) dan disejajarkan dengan urutan nukleotida gen myostatin pada *Capra hircus* (EF591039) dengan menggunakan perangkat lunak statistik MEGA 6 (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis*) (Tamura *et al.* 2013). Rekonstruksi pohon filogeni dengan menggunakan metode *neighbor-joining* (Tamura *et al.* 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi PCR pada Gen Myostatin Ekson 3

Gen myostatin ekson 3 telah berhasil mengamplifikasi seluruh ekson 3 beserta intron 2 dan 3 yang mengapitnya dengan menggunakan sepasang primer pada kambing. Berdasarkan hasil yang diperoleh panjang fragmen gen myostatin intron 2, ekson 3, dan intron 3 adalah 136, 377, dan 137 pb (Gambar 1). Hasil ini sesuai dengan panjang produk pada sekuens gen myostatin (*GenBank* dengan kode akses EF591039).

Identifikasi Variasi Nukleotida Gen Myostatin pada Hasil Sekuensing

Variasi gen myostatin pada sembilan bangsa kambing lokal ditemukan pada bagian awal, tengah, dan akhir gen myostatin. Bentuk variasi yang ditemukan pada gen myostatin, yaitu delesi, substitusi, dan variasi pada puncak kromatogram yang saling

tumpang tindih. Variasi substitusi intron 2 ditemukan pada kambing Gembrong (A7C & A11T), Peranakan Etawah (T10A & A11T), Burawa (T10A & A11T), Muara (A11T), dan Samosir (A11T), ekson 3 terdapat pada kambing Boerka (A182T, T437A, T439A, & A445G). Variasi pada puncak kromatogram yang saling tumpang tindih pada intron 2 terdapat pada posisi basa ke-13. Variasi delesi intron 3 ditemukan pada kambing Kosta dan Samosir pada posisi basa T552- dan G560- (Tabel 1). Hasil perunutan DNA intron 2 dan 3 tidak ditemukan variasi, tetapi pada ekson 3 ditemukan mutasi khusus, dapat dilihat pada perubahan asam amino ke-437, yaitu tyrosin menjadi lisin (Gambar 2).

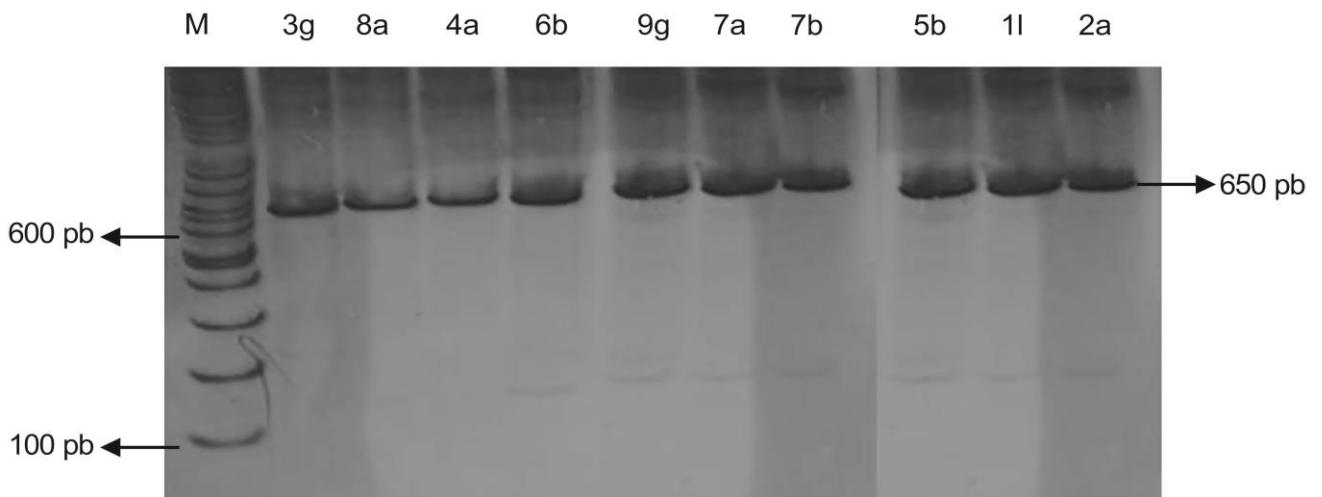
Variasi substitusi intron 2, ekson 3, dan delesi intron 3 pada gen myostatin kemungkinan disebabkan oleh persilangan antara kambing yang tidak terkontrol. Hal ini mengakibatkan berubahnya performan pada kambing. Mutasi di daerah *coding* dapat menyebabkan peningkatan massa otot fenotipe *Increased Muscle Mass* (IMM), dan mengganggu penerjemahan asam amino dalam proses sintesis protein pada kambing (Boman *et al.* 2009).

Pada kelompok populasi kambing lokal ditemukan perbedaan antara satu kelompok populasi kambing lokal dengan kelompok yang lain, sehingga urutan nukleotida yang berbeda dapat digunakan sebagai

penciri dari setiap populasi kambing lokal. Perubahan susunan nukleotida dalam bentuk substitusi dan delesi pada sembilan bangsa kambing diduga karena merupakan hasil persilangan antara pejantan kambing dari luar dengan induk kambing yang telah beradaptasi dengan kondisi kambing setempat. Batubara (2011) menyatakan bahwa perubahan susunan basa nukleotida dan mutasi substitusi yang terdapat pada kambing lokal disebabkan karena adanya proses adaptasi sebagai kambing asli dengan kondisi lokasi yang berbeda dengan kondisi di Sumatera, Jawa, dan Bali serta adanya seleksi yang berhubungan dengan tujuan produksi yang diinginkan oleh peternak.

Hasil perunutan DNA sebagian besar sampel dari sembilan bangsa kambing ditemukan mutasi dan yang merubah asam aminonya. Keragaman genetik yang terjadi pada populasi bangsa kambing menunjukkan bahwa diantara kambing merupakan hasil dari persilangan. Populasi dengan keragaman genetik tinggi akan memiliki peluang hidup yang semakin tinggi untuk beradaptasi dengan perubahan lingkungan (Ferguson 1980). Keragaman genetik yang tinggi memungkinkan adanya perbaikan kualitas genetik populasi dengan seleksi gen yang menguntungkan.

Keragaman sekuen nukleotida gen myostatin diperoleh dengan perunutan sekuen yang di *alignment*



Gambar 1 Hasil amplifikasi dari gen myostatin ekson 3 dengan menggunakan PCR pada kambing Kacang (3g); Muara (8a); Gembrong (4a); Peranakan Etawah (6b); Kosta (9g); Samosir (7a & 7b); Burawa (5b); Boer (1l); Boerka (2a); dan M (Marker 100 pb).

Tabel 1 Variasi nukleotida gen myostatin ekson 3 pada kambing terhadap nukleotida gen myostatin *Capra hircus* (EF591039)

Bangsa kambing	Posisi basa									
	Intron 2				Ekson 3				Intron 3	
	7	10	11	13	182	437	439	445	552	560
Kacang_3g	A	T	A	G	A	T	T	A	T	G
Muara_8a	A	T	T	G	A	T	T	A	T	G
Gembrong_4a	C	T	T	G	A	T	T	A	T	G
PE_6b	A	A	T	G	A	T	T	A	T	G
Kosta_9g	A	T	A	G	A	T	T	A	-	G
Samosir_7a	A	T	T	G	A	T	T	A	T	-
Samosir_7b	A	T	T	G	A	T	T	A	T	G
Burawa_5b	A	A	T	G	A	T	T	A	T	G
Boer_1l	A	T	A	G/A	A	T	T	A	T	A
Boerka_2a	A	T	A	G	T	A	A	G	T	G

ATGTGACATA	AGCAAAATGA	TTAGTTTCTT	TCTTTAATAA	TGACTCCCTG
CGGTAGGAGA	GTGTTTGGGG	ATCTATTACT	AACTCTTCTT	TCCTTTCCAT
ACAGAATCCT	TTTTTAGAAG	TCAAGGTAAC	AGACACACCA	AAAAGATCTA
GGAGAGATTT	GCTTTTGGAT	TGTGATGAGC	ACTCCACAGA	ATCTCGATGC
TGTCGTTACC	CTCTAACTGT	GGATTTTGAA	GCTTTTGGAT	GGGATTGGAT
TATTGCACCC	AAAAGATATA	AGGCCAATTA	CTGCTCCGGA	GAATGTGAAT
TTTTATTTT	GCAAAGTAT	CCTCATACCC	ATCTTGTGCA	CCAAGCAAAC
CCCAAAGGTT	CAGCCGGCCC	TTGCTGTACT	CCTACAAAGA	TGTCTCCAAT
TAATATGCTA	TATTTTAATG	GCAAAGAACA	AATAATATAT	GGGAAGATTC
CAGGCATGGT	AGTAGATCGC	TGTGGGTGCT	CATGAGATTT	ATATTTGGTT
CATAGCTTCC	TAAAACACAG	AAGGTCTTCC	CCTCAACAAT	TTTGAAACTG
TGAAATTAGG	TACCACGGGC	TATAAGGCCT	AGAGTAT	

Keterangan: Posisi nukleotida dihitung dari basa pertama urutan Luci 5. Simbol panah menunjukkan batas posisi ekson 3. Kodon penyandi asam amino ditulis dengan tiga huruf.

Gambar 2 Urutan nukleotida gen myostatin intron 2, ekson 3, dan intron 3 beserta urutan asam aminonya berdasarkan urutan nukleotida *Capra hircus* (EF432557).

dan mendeteksi kromatogram dari urutan nukleotida. Evolusi gen myostatin dan efek mutan masih belum diketahui dengan jelas. Sistematis dari sebagian besar individu dari keturunan yang berbeda untuk mengevaluasi asal dan evolusi, struktur genetik, keragaman populasi, dan hubungan keragaman dengan ciri pada pertumbuhan (Li *et al.* 2006a).

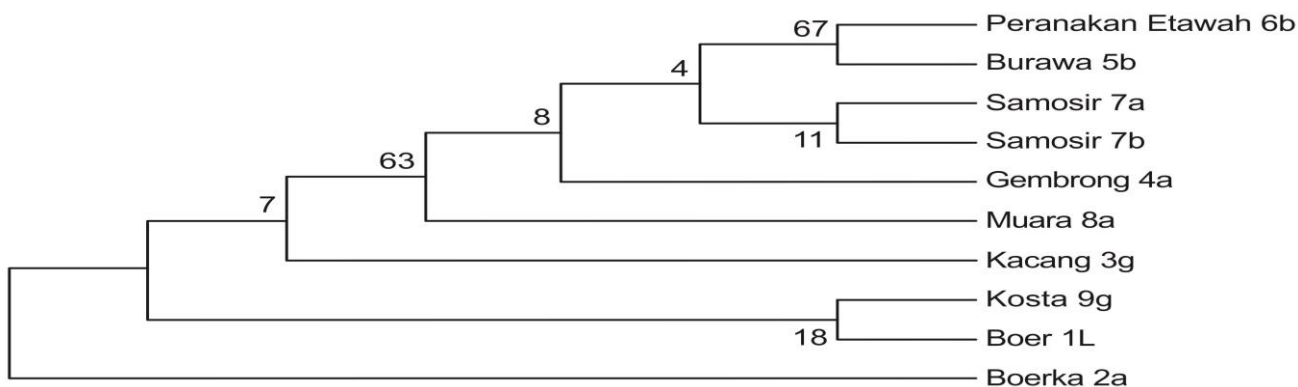
Hubungan Keragaman Genetik dengan Jarak Genetik Antar Populasi Bangsa Kambing

Hasil sekuensing gen myostatin ekson 3 pada kambing Boer, Boerka, Kacang, Gembrong, Burawa, Peranakan Etawah, Samosir, Muara, dan Kosta digunakan untuk konstruksi pohon filogenetik. Konstruksi pohon filogenetik digunakan untuk melihat hubungan kekerabatan antara sembilan bangsa kambing (Gambar 3) dan matrik jarak genetik pada sembilan bangsa kambing yang berasal dari satu lokasi (Sei Putih) (Tabel 2). Analisis filogenetik dengan menggunakan *Neighbor-joining tree* menunjukkan bahwa kambing Burawa memiliki hubungan genetik yang dekat (jarak genetik 0,000) dengan kambing Peranakan Etawah, sedangkan kambing Boer dan Kosta berada dalam satu kelompok, hal ini menunjukkan keturunan gen dalam kelompok memiliki hubungan genetik yang dekat dengan jarak genetik 0,000. Kambing Samosir, Muara, dan Gembrong terdapat dalam satu kelompok, hal ini menunjukkan bahwa kambing Samosir, Muara, Kacang, dan Gembrong tidak memiliki hubungan genetik yang dekat (jarak genetik 0,002). Kambing Boerka terpisah dengan kelompok kambing lainnya, hal ini menunjukkan bahwa kambing Boerka tidak memiliki hubungan genetik yang dekat (jarak genetik 0,003) dengan kambing Kacang, Kosta, dan Boer, sedangkan kambing Muara, Gembrong, Peranakan Etawah, Kosta, Samosir, dan Burawa memiliki jarak genetik sebesar 0,004 dengan kambing Boerka.

Pada nilai hasil uji *bootstrap* dengan pengulangan 1.000 kali pada analisis *Neighbor-Joining* dengan metode dua parameter Kimura menunjukkan bahwa kambing Peranakan Etawah dan Burawa memiliki nilai *bootstrap* tertinggi, yaitu 67% kemudian disusul oleh kambing Muara (63%). Nilai *bootstrap* terendah terdapat pada kambing Kacang (7%), Gembrong (8%), Samosir (11%), serta Kosta dan Boer (18%), sedangkan kambing Boerka membentuk kelompok terpisah satu sama lain. Berdasarkan hasil analisis pada kesembilan populasi kambing dapat dikelompokkan berdasarkan keragaman genetik menjadi tujuh kelompok, yaitu kambing Peranakan Etawah dengan Burawa, Samosir, Gembrong, Muara, Kacang, Kosta dan Boer, serta Boerka.

Hal ini kemungkinan disebabkan karena kambing Peranakan Etawah dan Burawa, Kosta dan Boer merupakan satu persilangan. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa persilangan antara kambing Boer dengan kambing Kacang dan Kacang dengan Etawah menunjukkan hasil seleksi yang positif (Kostaman & Sutarna 2005). Persilangan merupakan salah satu cara yang mampu untuk meningkatkan produktivitas ternak, seperti kambing Boerka merupakan hasil persilangan kambing Boer dengan Kacang di mana dari segi performans atau reproduksi menghasilkan persilangan yang unggul dalam memperoleh bobot tubuh yang besar (Mahmilia & Tarigan 2006). Keragaman tipe gen yang lebih tinggi pada kambing Boerka mungkin disebabkan oleh persilangan yang tidak terkontrol antara kambing Kacang yang berasal dari Indonesia dengan kambing Boer yang berasal dari Afrika Selatan sehingga kambing Boerka memiliki variasi yang paling tinggi dibandingkan kambing yang lainnya (Sodiq *et al.* 2003).

Variasi gen yang timbul dipengaruhi oleh seleksi, mutasi gen, pencampuran dua populasi yang frekuensi gen berbeda, silang dalam (*inbreeding*), silang luar



Gambar 3 Pohon filogeni gen myostatin ekson 3 pada sembilan bangsa kambing.

Tabel 2 Matrik keragaman nukleotida gen myostatin ekson 3 pada sembilan bangsa kambing

Bangsa kambing	Jarak genetik									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kacang_3g		0,002	0,002	0,002	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000	0,003
Muara_8a	0,002		0,002	0,002	0,002	0,000	0,000	0,002	0,002	0,004
Gembrong_4a	0,003	0,002		0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,004
PE_6b	0,003	0,002	0,003		0,002	0,002	0,002	0,000	0,002	0,004
Kosta_9g	0,000	0,002	0,003	0,003		0,002	0,002	0,002	0,000	0,003
Samosir_7a	0,002	0,000	0,002	0,002	0,002		0,000	0,002	0,002	0,004
Samosir_7b	0,002	0,000	0,002	0,002	0,002	0,000		0,002	0,002	0,004
Burawa_5b	0,003	0,002	0,003	0,000	0,003	0,002	0,002		0,002	0,004
Boer_1l	0,000	0,002	0,003	0,003	0,000	0,002	0,002	0,003		0,003
Boerka_2a	0,007	0,009	0,010	0,010	0,007	0,009	0,009	0,010	0,007	

(*outbreeding*), dan *genetic drift*. Ekspresi gen dapat memengaruhi sifat yang muncul. Fenotipik yang muncul dapat dipengaruhi oleh variasi gen pada arah dan besar respons terhadap perubahan lingkungan (Noor 2008). Fenotipik yang bersifat ekonomis merupakan sifat kuantitatif yang dikontrol oleh banyak gen dan masing-masing gen memberikan sedikit kontribusi pada sifat tersebut (Noor 2008).

Dengan demikian, pelestarian terhadap sumber daya genetik ternak lokal sebagai bagian dari komponen keanekaragaman hayati adalah penting untuk memenuhi kebutuhan pangan, pertanian, dan perkembangan sosial masyarakat di masa yang akan datang.

KESIMPULAN

Gen myostatin ekson 3 pada sembilan bangsa kambing memiliki keragaman genetik yang tinggi dibuktikan dengan sekuensing. Analisis sekuen ditemukan 10 variasi gen myostatin, dengan demikian keragaman genetik kambing tinggi. Variasi substitusi dan delesi pada intron 2 dan 3 disebabkan oleh persilangan antara kambing, sedangkan variasi yang ditemukan pada ekson 3 terjadi mutasi khusus yang memengaruhi asam aminonya. Kesembilan populasi kambing dapat dikelompokkan berdasarkan keragaman genetik menjadi tujuh kelompok, yaitu kambing Peranakan Etawah dengan Burawa, Samosir, Gembrong, Muara, Kacang, Kosta dan Boer, serta Boerka.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh Dr. Aron Batubara yang telah membantu memberikan sampel darah.

DAFTAR PUSTAKA

- Alakilli SYM, Mahrous KF, Salem LM, Ahmed ES. 2012. Genetic polymorphisms of five genes associated with growth traits in goat. *African Journal of Biotechnology*. 11(82): 14738–14748.
- An XP, Wang JG, Hou JX, Zhao HB, Bai L, Li G, Wang LX, Liu XQ, Xiao WP, Song YX, Cao BY. 2011. Polymorphism identification in the goat MSTN gene and association analysis with growth traits. *Czech Journal of Animal Science*. 56(12): 529–535.
- Batubara A. 2011. Studi Keragaman Fenotipik dan Genetik Beberapa Sub Populasi Kambing Lokal Indonesia dan Strategi Pemanfaatannya Secara Berkelanjutan. [Disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Boman IA, Klemetsdal G, Blichfeldt T, Nafstad O, Vage DI. 2009. A frameshift mutation in the coding region of the myostatin gene (MSTN) affects carcass conformation and fatness in norwegian white sheep (*Ovis aries*). *Animal Genetics*. 40(4): 418–422. <http://doi.org/fm4pjt>

- Byun SO, Fang Q, Zhou H, Hickford JGH. 2009. An effective method for silver - staining DNA in large numbers of polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. 385(1): 174–175. <http://doi.org/fpbz6z>
- Ferguson A. 1980. *Biochemical Systematics and Evolution Lecturer in Zoology*. [Undergraduate Thesis]. London (GB): The Queens University of Belfast.
- Gan SQ, Du Z, Liu SR, Yang YL, Shen M, Wang XH, Yin JL, Hu XX, Fei J, Fan JJ, Wang JH, He QH, Zhang YS, Li N. 2008. Association of SNP haplotypes at the myostatin gene with muscular hypertrophy in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 21(7): 928–935. <http://doi.org/b898>
- Hall T. 2004. *BioEdit version 7.0.0*. Isis Pharmaceuticals, Inc.
- Kostaman T, Sutama IK. 2005. Laju pertumbuhan kambing anak hasil persilangan antara kambing boer dengan peranakan etawah pada periode pra-sapih. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 10(2): 106–112.
- Li XL, Wu ZhL, Gong YF, Liu YQ, Liu ZZ, Wang XJ, Xin TR, Ji Q. 2006a. Single nucleotide polymorphism identification in the caprine myostatin gene. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 123: 141–144. <http://doi.org/cdg58w>
- Li XL, Wu ZL, Liu ZZ, Gong YF, Zhou RY, Zheng GR. 2006b. SNP identification and analysis in part of intron 2 of goat MSTN gene and variation within and among species. *Journal of Heredity*. 97(3): 285–289. <http://doi.org/dqbzc9>
- Li XL, Liu ZZ, Zhou RY, Zheng GR, Gong YF, Li LH. 2008. Deletion of TTTTA in 5'UTR of goat MSTN gene and its distribution in different population groups and genetic effect on bodyweight at different ages. *Frontiers of Agriculture in China*. 2(1): 103–109. <http://doi.org/bvh5xn>
- Mahmilia F, Tarigan A. 2006. Karakteristik morfologi dan performans kambing kacang, kambing boer dan hasil persilangannya. *Lokakarya Nasional Kambing Potong*. 1(2): 209–2012.
- Noor RR. 2008. *Genetika Ternak*. Jakarta (ID): Penebar Swadaya.
- Rusdiana S, Prahararli L, Adiati U. 2014. Prospek dan strategi perdagangan ternak kambing dalam merebut peluang pasar dunia. *Agriekonomika*. 3(2): 204–223.
- Sambrook JEF, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Pr.
- Sodiq A, Adjisoedarmo S, Tawfik ES. 2003. Reproduction rate of kacang and peranakan etawah goats under village production system in Indonesia. *Internasional Research on Food Security, Natural Resource Management and Rural Development*. 8(10): 1–7.
- Sulabda IN, Susari NW, Heryani LGS, Puja K. 2012. Genetic diversity of gembrong goat based on DNA microsatellite markers. *Global Veterinaria*. 9(1): 113–116.
- Tamura K, Nei M, Kumar S. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 101(30): 11030–11035. <http://doi.org/fth7tb>
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, Kumar S. 2013. MEGA 6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*. 30(12): 2725–2729. <http://doi.org/5v5>
- Zhang ZJ, Ling YH, Wang LJ, Hang YF, Guo XF, Zhang YH, Ding JP, Zhang XR. 2013. Polymorphisms of the myostatin gene (MSTN) and its relationship with growth traits in goat breeds. *Genetics and Molecular Research*. 12(2): 965–971. <http://doi.org/f4t3vs>