

PENGUJIAN KEMURNIAN SAPI BALI DENGAN MENGGUNAKAN METODE ISOELEKTRIC FOCUSING

Karmita, M¹, R. R. Noor¹, & A. Farajallah²

¹ Laboratorium Pemuliaan dan Genetika Ternak, Fakultas Peternakan IPB

² Laboratorium Zoology FMIPA-IPB

(Diterima 09-08-2001; disetujui 30-10-2001)

ABSTRACT

The experiment was conducted in order to detect the purity of Bali cattle by examining the hemoglobin tape patterns obtained from Isoelectric focusing methods. The blood samples were taken from five Bali cattle from Bali, three Bali cattle from West Nusa Tenggara, two Brangus cattle from Tapos, three Limousin and three Simmental cattle from Australia reared at Balai Inseminasi Buatan Singosari, Malang. Tetrameric hemoglobin and globin subunit sample preparation were used. The results indicate that out of eight Bali cattle reared at Balai Inseminasi Buatan Singosari, four of them are not pure. Sample No. 3 which is Bali cattle from NTB had β^A ($\beta^{A1}\beta^{A2}$) tape instead of β^X Bali, Samples No. 4 and 7 which are Bali cattle from Bali has β^B instead of $\beta^{X\text{hali}}$, and sample No. 9 which is Bali cattle from NTB has no β^X Bali, but has β^A . Based on these results, it can be concluded that the bulls have contaminated the purity of Bali cattle in the basic population, including at Bali island. The use of tetrameric hemoglobin method for testing the purity of Bali cattle using isoelectric focusing methods show a better result and more efficient when compared to subunit globin method.

Key words: Bali cattle, Isoelectric focusing, tetrameric hemoglobin, subunit globin.

PENDAHULUAN

Indonesia termasuk sebagai salah satu negara yang yang memiliki keanekaragaman hayati yang cukup tinggi. Salah satu dari keanekaragaman hayati yang dimiliki adalah sapi Bali. Sapi Bali merupakan keturunan dari Banteng yang telah didomestikasi sejak beberapa abad yang lalu (Payne & Rollinson, 1973).

Sebagai salah satu ternak asli Indonesia, sapi Bali memiliki potensi ekonomi yang tinggi karena memiliki berbagai kelebihan dibandingkan sapi lain. Keunggulan sapi Bali telah dituangkan dalam sebuah hasil rumusan seminar nasional sapi Bali pada tahun 1990. Keunggulan tersebut antara lain :

1. Sebagai perintis untuk orang-orang yang belum mengenal budidaya pemeliharaan atau lingkungan hidup yang baru di mana belum ada sapi Bali,
2. Mempunyai angka fertilitas yang tinggi (80-82%),
3. Mempunyai daya cerna yang tinggi,
4. Mempunyai daya adaptasi terhadap lingkungan terutama toleransi panas yang tinggi,
5. Mempunyai persentasi karkas yang tinggi (60-65%).

Oleh karena itu, dengan berbagai kelebihan di atas, sapi Bali perlu dipertahankan kelestarian dan kemurniannya serta pada masa yang akan datang diharapkan menjadi primadona utama sebagai sumber sapi potong unggulan di Indonesia.

Dalam rangka melestarikan sumber bibit ternak asli sebagai plasma nutfah pemerintah telah menetapkan wilayah sumber bibit sapi Bali yaitu Provinsi Bali, Nusa Tenggara Barat (NTB), Nusa Tenggara Timur (NTT), dan Sulawesi Selatan. Dalam upaya pemurnian, telah dilakukan dengan pola Proyek Pembibitan dan Pengembangan sapi Bali (P3 Bali) yang dimulai tahun 1976. Pola ini dengan prinsip pengembangan pusat pembibitan dan populasi dasar, di mana di pusat pembibitan ditampung bibit-bibit bermutu baik dari populasi dasar untuk selanjutnya dikembangkan sebagai bibit-bibit untuk memperbaiki ternak di populasi dasar (Direktorat Bina Perbibitan, 2000). Kegiatan pengembangan pembibitan yang telah dan sedang dilakukan salah satunya adalah *progeny testing* yang dilaksanakan melalui P3 Bali, dimulai di pulau Bali dan telah diperluas ke Sumbawa NTB, telah berhasil meningkatkan mutu pejantan 16-20% dibandingkan pejantan rakyat. Mengingat keberhasilan ini maka pada tahun 1991 kegiatan serupa diperluas ke Provinsi Sulawesi Selatan dan Lampung. Pejantan yang dihasilkan melalui proyek ini dikirim ke Balai Inseminasi Buatan (BIB) Singosari untuk produksi semen beku untuk keperluan pelaksanaan inseminasi buatan (IB) di daerah-daerah (Soehadji, 1991).

Permasalahannya adalah tercemarnya beberapa daerah sumber bibit sapi Bali dengan *breed* asal Taurus maupun Zebu (Pane, 1991). BIB Singosari sendiri menginformasikan bahwa dewasa ini banyak peternak sapi yang lebih senang memilih sapi Bali jantan kemudian disilangkan dengan sapi betina lain

jenis seperti sapi dari Eropa (Simmental, Limosin dan Brangus). Akibat adanya persilangan ini menghasilkan keturunan sapi Bali yang tidak murni lagi (Fatchiyan *et al.*, 2000).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji kemurnian pejantan-pejantan sapi Bali di BIB Singosari yang selama ini dijadikan bibit dan sebagai sumber pemasok semen beku untuk berbagai daerah di Indonesia termasuk ke Provinsi Bali, dengan uji hemoglobin menggunakan metode *isoelectric focusing* (IEF).

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Balai Inseminasi Buatan Singosari dan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan IPA, Institut Pertanian Bogor, selama 4 (empat) bulan, Februari sampai Mei 2000.

Bahan dan Alat

Sampel darah utuh diambil dari 16 sapi yang ada di Balai Inseminasi Buatan Singosari, Malang. Sampel tersebut terdiri dari 2 sapi Brangus (no. 1 dan 2), 5 sapi Bali asal Bali (no. 4, 6, 7, 8, dan 10), 3 sapi Bali asal NTB (no. 3, 5, dan 9), 3 sapi Limosin asal Australia (no.11-13) dan 3 sapi Simmental asal Australia (no.14-16). Sampel darah utuh diambil dari *vena femoralis* dan diberi *heparin* sebagai anti koagulan. Sampel tersebut disimpan dalam lemari pendingin sampai pemeriksaan dilakukan.

Bahan kimia yang digunakan antara lain: *bind silane*, *acrylamide*, *N,N'-methylene-bisacrylamide*, *pharmalyte pH 5-8*, *pharmalyte pH 3-10*, *glycerol*, *urea*, *amonium persulfat*, *asam asetat*, *asam aspartat (L-aspartic acid)*, *asam glutamat (L-glutamic acid)*, *NaOH*, *KCN*, *HCL*, *acetone*, *2-mecaptoethanol*, *trichloroacetic acid*, *coomassie birilliant blue R-250 (CBBR-250)*, *ethanol*, *methanol*, *alkohol* dan *air bebas ion*.

Peralatan yang digunakan adalah: kaca cetakan, power suplai, alat running sampel, alat setrifus, lemari

pendingin, *vacum liner*, *timbangan*, *pinset*, *pisau*, *gunting*, *sendok kecil*, *erlen mayer*, *gelas ukur*, *tabung sentrifus (falkon)*, *sumur mikrotiter*, *pipet*, *mikropipet*, *kertas saring Whatman*, *selotip*, *tissue*, *strip spon* dan beberapa perlengkapan lainnya.

Metode Penelitian

Hemoglobin dalam sampel darah utuh dianalisis dengan metode *isoelectric focusing (IEF)* dengan tahapan berikut (Karmita, 2000):

1. Pelapisan Kaca,
2. Penyiapan Gel,
3. Prefocusing,
4. Penyiapan Sampel Tetramerik Hb,
5. Penyiapan Sampel Subunit Globin α dan β ,
6. Pemuatan Sampel dan Elektroforesis,
7. Fiksasi dan Pewarnaan.

Prosedur lengkap masing-masing tahapan dapat dilihat pada Karmita (2000)

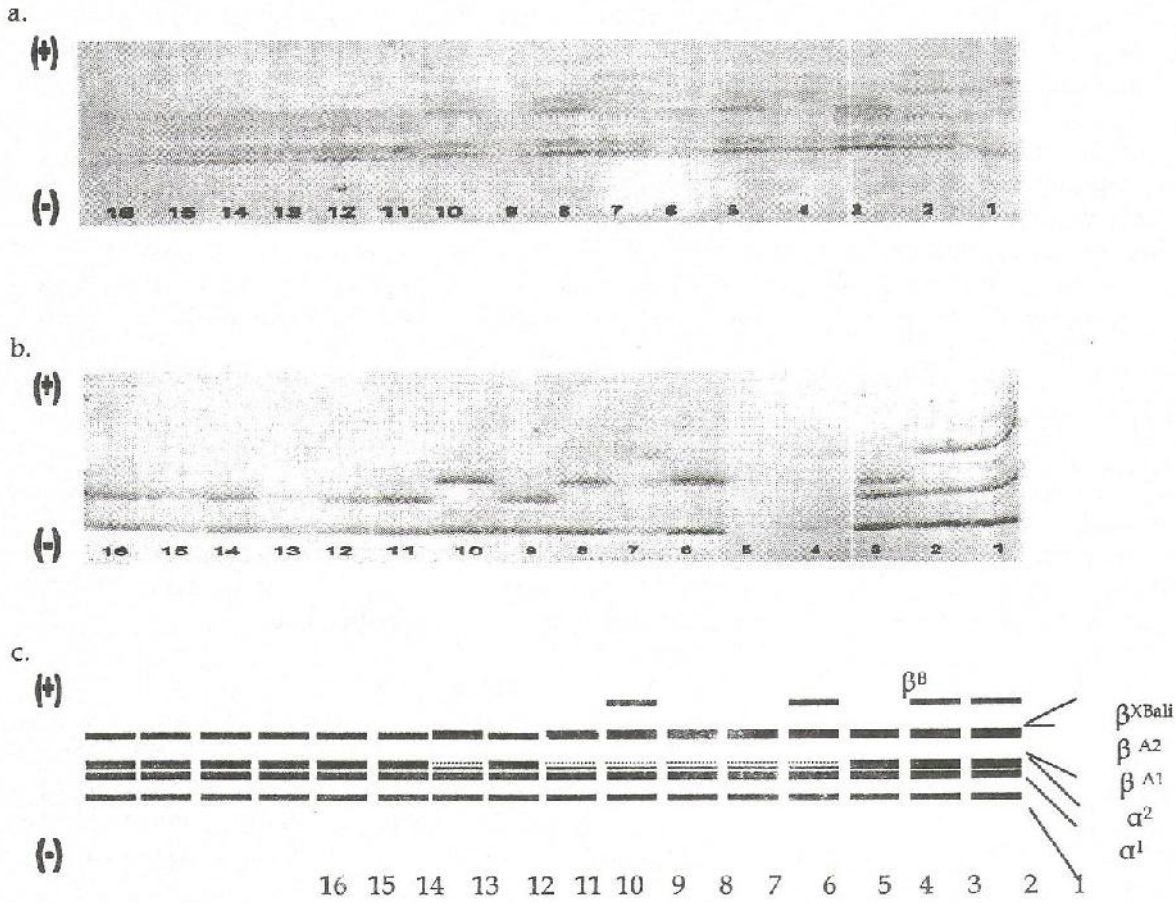
Parameter yang diamati

Parameter yang diamati adalah pola pita hemoglobin sapi Bali dengan cara membandingkannya dengan pola pita hemoglobin sapi Brangus, Limosin dan Simmental, sekaligus membandingkan pola pita hemoglobin di antara sampel sapi Bali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini ditunjukkan dengan pola pita pada Gambar 1 untuk hasil sampel sub unit globin dan Gambar 2 untuk hasil sampel tetramerik Hb.

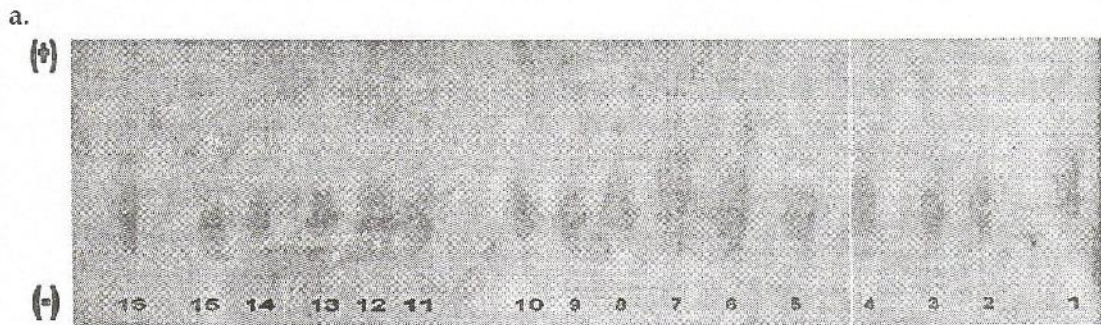
Gambar 1, menunjukkan pola pita sampel subunit globin. Dua pita paling bawah dan satu bayangan pita di atasnya diidentifikasi sebagai pita-pita famili α (α^1 dan α^2), semua individu dalam sampel memiliki pita ini dengan level titik isoelektrik yang sama. Selanjutnya pita-pita di atas famili α diidentifikasi sebagai pita-pita famili β (β^{A1} , β^{A2} , β^x Bali, dan β^B).

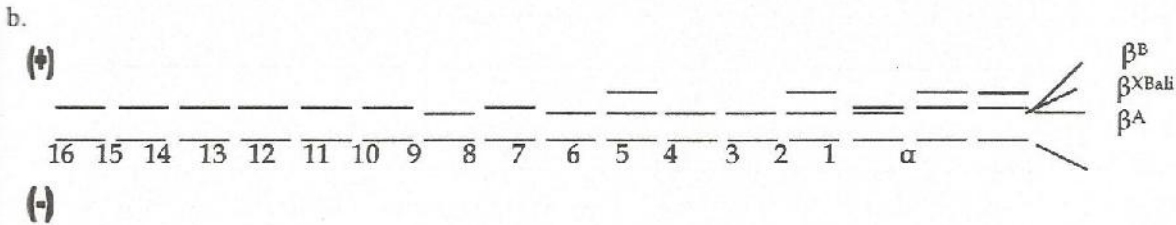


Gambar 1. Pola pita sampel subunit globin. Sapi Brangus (Tapos) no. 1 dan 2, sapi Bali (Bali) no. 4, 6, 7, 8 dan 10, sapi Bali (NTB) no. 3, 5 dan 9, sapi Limmousin (Australia) no. 11-13, sapi Simmental (Australia) no. 14-16. c) hasil gambar yang diperjelas dari pola pita asli sampel subunit globin.

Gambar 2, menunjukkan pola pita sampel tetramerik Hb yang lebih sederhana dari pola pita sampel subunit globin. Pita-pita tersebut diidentifikasi

dari level titik isoelektrik terendah sampai tertinggi berturut-turut adalah α , β^A , β^{XBali} , dan β^B .





Gambar 2. Pola Pita Sampel Tetramerik Hb. Sapi Brangus (Tapos) no. 1 dan 2, Sapi Bali (Bali) no. 4, 6, 7, 8 dan 10, Sapi Bali (NTB) no. 3, 5 dan 9, Sapi Limmousin (Australia) no. 11-13, Sapi Simmental (Australia) no. 14-16. b) Hasil Gambar yang Diperjelas dari Pola Pita Asli Sampel Tetramerik Hb

Protein merupakan produk primer ekspresi gen yang dapat digunakan untuk menduga keragaman organisme. Salah satu dari sekian banyak protein adalah hemoglobin (Hb). Hemoglobin merupakan molekul protein sebagai pembawa oksigen dalam darah, yang tersusun dari 4 heme dan 4 rantai globin, 2 α dan 2 β yang kemudian disebut tetramerik Hb. Tetramerik Hb merupakan kombinasi 2 rantai famili α (α atau ζ) dan 2 rantai famili β (β , γ , δ , atau ϵ) (Dickerson & Geis, 1983). Masing-masing rantai tersusun dari asam-asam amino yang macamnya ada 20 buah. Dari 20 jenis asam amino, masing-masing mempunyai rantai samping yang unik yang dicirikan oleh bentuk, ukuran dan rantai samping yang spesifik. Asam amino yang mempunyai rantai samping bermuatan ada 5 jenis, asam amino yang bersifat basa (bermuatan positif) adalah *lysin*, *arginin* dan *histidin*, sedangkan yang bersifat asam (bermuatan negatif) adalah asam aspartat dan asam glutamat (Dickerson & Geis, 1983, Suryobroto *et al.*, 1995). Pada pH lingkungan tertentu, muatan netto suatu protein akan netral, nilai pH itu disebut titik isoelektrik (*Isoelectric Point* = PI) (Suryobroto *et al.*, 1995). Jika sampel Hb yang berisi bermacam-macam protein dielektroforesis melalui matriks gel yang mempunyai gradien pH dari arah anoda ke katoda maka setiap spesies protein akan bermigrasi sampai ke posisi gradien pH yang sesuai dengan titik isoelektriknya. Dengan begitu, setiap spesies protein akan difokuskan pada satu pita yang sempit di daerah titik isoelektrik.

Pola Pita Sampel Subunit Globin

Tetramerik Hb yang tersusun dari 2 rantai famili α (α atau ζ) dan 2 rantai famili β (β , γ , δ , atau ϵ) dipecah menjadi fraksi-fraksi sederhana subunit globin yaitu α^1 dan α^2 atau ζ^1 dan ζ^2 , β^1 dan β^2 atau γ^1 dan γ^2 dan seterusnya. Gambar 1 menunjukkan bahwa pola pita dari sampel subunit globin. Dari 16

sampel, yang terdiri dari 2 sapi Brangus asal Tapos, 3 sapi Bali asal NTB, 5 sapi Bali asal Bali, 3 sapi Limosin dan 3 sapi Simmental asal Australia, memiliki pita-pita subunit globin dari famili α (α^1 dan α^2) dengan titik isoelektrik yang sama. Sedangkan pita-pita subunit globin β yang memiliki titik isoelektrik lebih tinggi dari pita-pita subunit globin α menunjukkan keunikan untuk setiap bangsa. Sapi Brangus yang diwakili sampel no.1 dan no. 2 memperlihatkan polymorfisme yang tinggi, mempunyai 4 pita subunit globin famili β yaitu subunit globin β^{A1} , β^{A2} , β^B , dan subunit globin yang mempunyai titik isoelektrik yang sama dengan $\beta^{\times \text{Bali}}$. Sapi Limosin dan Simmental yang diwakili masing masing sampel no. 11-13 dan no.14-16, memiliki pita-pita subunit globin β yang sama yaitu memiliki β^{A1} dan β^{A2} .

Pola pita yang menarik ditunjukkan sampel sapi Bali yang diwakili 8 sampel, 3 sapi bali asal NTB (no. 3, 5, 9) dan 5 sapi Bali asal Bali (no. 4, 6, 7, 8, 10), yaitu menunjukkan adanya ciri khas dan perbedaan/keragaman. Ciri khas yang dimiliki sapi Bali adalah adanya pita subunit globin β yang memiliki titik isoelektrik sedikit lebih tinggi dari pita subunit globin β^A yang ada pada Sapi Limosin Simmental dan Brangus. Garis pita khas sapi Bali ini disebut subunit globin $\beta^{\times \text{Bali}}$ (Namikawa *et al.*, 1980, 1982). Keunikan subunit globin $\beta^{\times \text{Bali}}$ ini disebabkan sekurangnya kurangnya satu perbedaan yang dibuktikan antara rangkaian β^A dan $\beta^{\times \text{Bali}}$. Sisa *lysin* dalam β^A (18) disubstitusikan dengan *histidin* dalam $\beta^{\times \text{Bali}}$, informasi mengenai hal ini disajikan pada Tabel 1. Pergantian ini memerlukan dua substitusi dasar pada kodon dan sangat jarang terjadi dalam spesies yang mempunyai hubungan tertutup (Namikawa *at al.*, 1982). Adanya perbedaan asam amino penyusun rantai subunit globin ini jelas akan berpengaruh terhadap titik isoelektriknya.

Tabel 1. Perbandingan sisa asam amino keragaman rantai hemoglobin β bovine

	Sisa no.					
	15	18	20	43	119	131
β^A	Gly	Lys	Asp	Ser	Lys	Lys
β^B	<u>Ser</u>	<u>His</u>	Asp	Ser	<u>Asn</u>	Lys
$\beta^{X \text{ Bali}}$	Gly	<u>His</u>	Asp	Ser	Lys	Lys
β^C Rhodesia	Gly	Lys	Asp	Ser	Lys	<u>Gln</u>
β^D Zambia	Gly	Lys	<u>Gly</u>	<u>Thr</u>	Lys	Lys

Selain ciri khas yang dimiliki, dari 8 sampel sapi Bali tersebut, 4 sampel di antaranya (no. 3, 4, 7 dan 9) memperlihatkan adanya perbedaan pola pita yang umum pada sampel sapi Bali lainnya. Sampel no.9 sapi Bali asal NTB. Sampel no.9 ini tidak memiliki pita sub unit globin $\beta^{X \text{ Bali}}$ yang umum dimiliki sapi Bali, tetapi memiliki pita subunit globin β^{A1} dan β^{A2} yang ada pada sapi Limosin, Simental dan Brangus. Pada sampel no.3 sapi Bali asal NTB juga memiliki pita-pita subunit globin β^{A1} dan β^{A2} , tetapi masih memiliki pita subunit globin $\beta^{X \text{ Bali}}$. Sampel no. 4 dan 7 keduanya sapi Bali asal Bali yang memperlihatkan pita subunit globin β^{A2} , $\beta^{X \text{ Bali}}$ dan pita subunit globin dengan titik isoelektrik tertinggi yang ada pada sapi Brangus yaitu β^B .

Pola Pita Sampel Tetramerik Hb

Sampel ini dibuat dengan memecah dua komponen/famili utama pada globin menjadi dua bagian yaitu unit globin α dan β . Pada Gambar 2, menunjukkan pola pita dari sampel tetramerik Hb yang lebih sederhana dibandingkan pola pita sampel subunit globin. Pecahan pita subunit globin α^1 dan α^2 gabung menjadi satu pita unit α , pecahan pita subunit globin β^{A1} dan β^{A2} gabung menjadi β^A , pita lainnya diidentifikasi $\beta^{X \text{ Bali}}$ dan β^B . Namun secara umum pola pita pada sampel tetramerik Hb sama dengan pola pita sampel subunit globin, dengan keunikan setiap bangsa sapi dalam sampel semakin jelas terlihat dan mudah dibedakan.

Pita unit globin α untuk setiap bangsa dalam sampel memiliki kesamaan, dengan titik isoelektrik yang paling rendah, sedangkan pita unit globin β setiap bangsa sapi dalam sampel berbeda-beda. Sapi Brangus sampel no.1 dan 2, memiliki 2 pita unit globin β dengan titik isoelektrik terendah dan tertinggi yaitu β^A dan β^B . Sapi Limosin dan Simental

masing-masing sampel no. 11-13 dan sampel no. 14-16 memperlihatkan kesamaan, yaitu hanya memiliki pita unit globin β^A .

Perbedaan semakin nampak jelas dari 8 sampel sapi Bali. Sampel no. 3 sapi Bali asal NTB, mempunyai pita unit globin $\beta^{X \text{ Bali}}$ dan β^A . Sampel no. 4 dan 7 sapi Bali asal Bali selain memiliki $\beta^{X \text{ Bali}}$ juga memiliki β^B yang ada pada sapi Brangus. Paling ekstrim adalah sampel no. 9, sapi Bali asal NTB, yaitu tidak memiliki $\beta^{X \text{ Bali}}$ tetapi memiliki β^A yang ada pada sapi Limosin, Simental dan Brangus. Empat sampel sapi Bali lainnya yaitu nomor 5, 6, 8, dan 10 hanya memiliki pita unit globin β khas sapi Bali ($\beta^{X \text{ Bali}}$), semuanya sampel sapi Bali asal Bali kecuali nomor 5 sapi Bali asal NTB.

Kemurnian Sapi Bali

Pola pita dari delapan sampel sapi Bali, baik dalam sampel subunit globin maupun sampel tetramerik Hb memperlihatkan adanya keragaman. Sedangkan dari hasil penelitiannya Namikawa *et al.* (1982) menyimpulkan bahwa alel yang paling umum dalam sapi Bali adalah Hb $\beta^{X \text{ Bali}}$ dan tidak ada perbedaan yang nyata pada lokus Hb $\beta^{X \text{ Bali}}$ diantara tiga populasi sapi Bali (Bali, Sulawesi Utara dan IPB). Dengan demikian keragaman pola pita Hb β dalam 8 sampel sapi Bali tersebut mengindikasikan adanya ketidakmurnian beberapa sampel sapi Bali. Ketidakmurnian tersebut ditunjukkan oleh empat sampel sapi Bali yaitu sampel no.3 sapi Bali asal NTB yang memiliki β^A , sampel no.4 dan 7 sapi Bali asal Bali yang memiliki β^B dan sampel no.9 sapi Bali asal NTB yang tidak memiliki $\beta^{X \text{ Bali}}$ tapi memiliki β^A .

Ketidakmurnian ini dapat disebabkan oleh hasil persilangan sapi Bali dengan sapi jenis lain di peternakan rakyat yang merupakan sumber bibit bagi proyek pemerintah untuk pembibitan dan pengembangan sapi Bali (P3 Bali). Apalagi dengan

aplikasi inseminasi buatan, perkawinan campuran dengan spesies lain dapat cepat tersebar luas di masyarakat, sehingga sulit dibedakan antara sapi Bali murni dengan sapi keturunan hasil persilangan sapi Bali dengan sapi jenis lain.

Permasalahannya saat ini adalah bahwa sapi-sapi Bali yang diindikasikan tidak murni tersebut merupakan pejantan-pejantan sapi Bali dari BIB Singosari, yang selama ini diambil semennya dan

dijadikan pemasok semen beku untuk memenuhi permintaan masyarakat dan memperbaiki ternak-ternak rakyat di daerah-daerah termasuk untuk memperbaiki fenotipe ternak-ternak sapi Bali yang ada di Provinsi Bali. Data distribusi semen beku dari BIB Singosari Malang ke propinsi Bali tahun 1996/1997 sampai dengan tahun 2000 disajikan pada Tabel 2 (Direktorat Bina Perbibitan, 2000).

Tabel 2. Data distribusi semen beku dari BIB Singosari ke Provinsi Bali

	1996/1997	1997/1998	1998/1999	1999/2000	2000
Jumlah semen beku (straw)	43.450*	35.378	37.000	10000	40.000
			+	+	+
			1.419**	13.750***	5000

Keterangan : * Subsidi, **Swadaya, ***KSO

Sampel Subunit Globin dan Tetramerik Hb

Tahapan kerja IEF dalam penelitian yang dilakukan untuk menguji kemurnian sapi Bali ini diawali dengan analisis sampel subunit globin, kemudian dilanjutkan dengan analisis sampel tetramerik Hb. Dari hasil yang diperoleh baik sampel subunit globin maupun sampel tetramerik Hb, keduanya dapat menunjukkan perbedaan pola pita sapi Bali dengan sapi Brangus, Simental dan Limosin. Keduanya dapat mendeteksi pita khas sapi Bali yaitu $\beta^{\times \text{Bali}}$, dan pita-pita lainnya sebagai pembanding, sehingga dapat digunakan untuk menguji kemurnian sapi Bali. Sapi Bali yang tidak murni memperlihatkan adanya pita β^A dan β^B yang dimiliki sapi lain. Namun demikian dalam tahap penyiapan sampel, subunit globin lebih banyak tahapan dan bahan kimia yang digunakan dibandingkan tetramerik Hb. Sedangkan untuk tahapan yang lain keduanya memiliki kesamaan. Selain itu pola pita yang dihasilkan tetramerik Hb lebih sederhana dan mudah dianalisa. Dengan demikian dari segi efisiensi waktu, tenaga dan penggunaan bahan, serta hasil yang diperoleh, penggunaan sampel tetramerik Hb dalam uji kemurnian sapi Bali lebih efisien dan lebih baik dari penggunaan sampel subunit globin.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dengan uji hemoglobin menggunakan metode *Isoelectric Focusing* dapat diketahui bahwa dari 8 pejantan sapi Bali Balai Inseminasi Buatan Singosari yang selama ini dijadikan sumber pemasok semen beku untuk memperbaiki ternak-ternak di daerah-daerah termasuk ke propinsi Bali, 4 pejantan di antaranya diindikasikan tidak murni. Berdasarkan nomor urut sampel pejantan yang tidak murni tersebut adalah no. 3 sapi Bali asal NTB yang memiliki Pita (alel) β^A selain $\beta^{\times \text{Bali}}$, sampel no. 4 dan 7 sapi Bali asal Bali yang memiliki alel β^B selain $\beta^{\times \text{Bali}}$, dan sampel no. 9 sapi Bali asal NTB yang tidak memiliki alel $\beta^{\times \text{Bali}}$ tetapi memiliki β^A .

Penggunaan sampel tetramerik Hb dalam uji kemurnian sapi Bali hasilnya lebih baik dan lebih efisien dari segi waktu tenaga dan penggunaan bahan dibandingkan penggunaan sampel subunit globin.

Saran

Untuk mendapatkan akurasi pengujian yang tinggi, metode yang digunakan perlu dikombinasikan dengan uji DNA dengan menggunakan primer yang spesifik hanya terdapat pada sapi Bali dengan teknik Polymerase Chain Reaction (PCR)

DAFTAR PUSTAKA

- Dickerson, R. E. & I. Geis. 1983. *Hemoglobin Structure, Function, Evolution, and Pathology*. The Benjamin/Lummings Publishing Company. Inc. Menco Park, California.
- Direktorat Bina Perbibitan. 2000. Kebijakan Perbibitan dalam Swasembada Daging 2005. *Panduan Seminar Nasional*. Departemen pertanian, Direktorat Jendral Peternakan.
- Fatchiyan, Herliantin, S. Rahayu, G. Ciptadi, E. Herwiyantin, J. Pujiyanto, D.J. Hedah & S.B. Sumitro. 2000. Kontribusi Genetik Sapi Bali pada Keturunan Cross Breeding dengan Sapi Eropa. *Panduan Seminar Nasional*. Departemen pertanian, Direktorat Jendral Peternakan.
- Karmita, M. 2000. Kemurnian Sapi Bali di Balai Inseminasi Buatan Singosari Dilihat dari Pola Pita Hemoglobin dengan Metode Isoelectric Focusing. *Skripsi*. Fakultas Peternakan IPB.
- Namikawa, T., Y. Matsuda, K. Kondo, B. Pangestu & H. Martojo. 1980. Blood Group and Blood Protein Polymorphisms of Different Types of the Cattle in Indonesia. *Report*. The Research Group of Overseas Scientific Survey.
- Namikawa, T., K. Kondo, O. Takenaka & K. Takahashi. 1982. A Comparison of Amino Acid Composition of Tryptic Peptides from the β chain of Hemoglobin X^{Bali} of the Bali Cattle (β^X ^{Bali}) with Other β Variants of Domestic Cattle. *Report*. The Research Group of Overseas Scientific Survey.
- Pane, I. 1991. Produktivitas dan Breeding Sapi Bali. *Proc Seminar Nasional Sapi Bali*. Fakultas Peternakan, Universitas Hasanudin. Ujungpandang, 2-3 September.
- Payne, W. J. A. & D. H. L. Rollinson. 1973. Bali Cattle. *World Animal Review*. 7 : 13-21. FAO. Rome.
- Soehadji. 1991. Kebijakan Pengembangan Ternak Potong di Indonesia. *Proc Seminar Nasional Sapi Bali*. Fakultas Peternakan, Universitas Hasanudin. Ujungpandang, 2-3 September.
- Suryobroto, B., T.S. Praswati, A. Farajallah, R.R.D. Perwitasari, T. Atmowidi & R. Raffiudin. 1995. Studi Primata di Jawa Barat: Struktur Genetik dan Diferensiasi mtDNA Populasi Moyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*). *Laporan Penelitian*. Jurusan Biologi FMIPA-IPB. Bogor.