

Asosiasi Variasi Genotipe PIT1/*HinfI* pada Tampilan Produksi Susu Sapi Perah Friesian Holstein Indonesia

*Association of PIT1/*HinfI* Genotype Variation on Milk Production of Indonesian Friesian Holstein Dairy Cattle*

Sigit Prastowo^{1*}, Shavya Sarah Saviera², Rebecca Vanessa³, Galih Pambuko¹, Ari Susilowati³, Sutarno²

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan, Jebres, Kota Surakarta, Jawa Tengah 57126

²Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan, Jebres, Kota Surakarta, Jawa Tengah 57126

³Program Studi Magister Biosain, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan, Jebres, Kota Surakarta, Jawa Tengah 57126

* Email korespondensi: Sigit Prastowo (prastowo@staff.uns.ac.id)

(Diterima 12-04-2021; disetujui 10-12-2021)

ABSTRAK

Gen *Pituitary Specific Transcription Factor 1* (PIT1) adalah gen yang mengatur kelenjar pituitari dan merupakan *regulatory factor* hormon pertumbuhan serta hormon lain yang terkait dengan produksi susu. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengasosiasikan variasi genotipe PIT1 dengan produksi susu sapi Friesian Holstein (FH) di Indonesia. Sebanyak 42 ekor sapi dipilih sebagai sumber DNA. Variasi genotipe ditentukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) menggunakan enzim restriksi *HinfI*. Data produksi susu diambil pada laktasi 1 dan 2 yang distandardisasi ke catatan produksi 305 hari. Sebanyak 3 variasi genotipe terdeteksi yaitu AA, AB, dan BB dengan frekuensi masing-masing 0,21; 0,26; dan 0,52. Pada penelitian ini diperoleh frekuensi alel A sebesar 0,35 dan B sebesar 0,65, dan populasi berada pada kondisi setimbang ($p < 0,05$). Genotipe BB pada penelitian ini memproduksi susu lebih tinggi ($p > 0,05$) dibanding AA dan AB pada laktasi 1, namun pada laktasi 2 antar genotipe tidak berbeda nyata. Berdasarkan hasil penelitian maka disimpulkan bahwa variasi genotipe gen PIT1 memiliki potensi untuk digunakan sebagai penanda genetik kemampuan produksi susu sapi FH di Indonesia.

Kata Kunci: asosiasi, produksi susu, sapi FH Indonesia, variasi genotip gen PIT1.

ABSTRACT

Pituitary Specific Transcription Factor 1 or known as PIT1, is a gene which function to control the pituitary gland and act as regulatory factor for growth hormone and other hormones related to milk production. The current study was aimed to associate the variant of PIT1 genotype on milk production in Indonesian Friesian Holstein. In total, 42 dairy cows were sampled for DNA source. Phenotypic data of milk yielded from first and second lactation were recorded then standardized to 305 days. To scan PIT1 genotype variation, PCR-RFLP was employed using *HinfI* restriction enzyme. Three types of PIT1 genotype were found, namely AA, AB, and BB; its frequencies were 0.21; 0.26; and 0.52, respectively. The allele frequencies of allele A and B were 0.35 and 0.65, and the population is in equilibrium condition ($p < 0.05$). Significant associations ($p < 0.05$) were found between genotypes in lactation 1. In this study, BB genotype yielded highest milk compared to other genotypes in lactation 1, but no differences among genotypes were observed in lactation 2. In a conclusion, the variation of PIT1 genotype in Indonesian Friesian Holstein shows potential use for genetic marker to improve milk production in this study.

Keywords: association, milk yield, Indonesian Friesian Holstein, PIT1 genotype variation



PENDAHULUAN

Gen *Pituitary Specific Transcription Factor 1* (PIT1) adalah gen yang bertanggung jawab untuk mengatur kelenjar hipofisis dalam mengekspresikan hormon pada hewan mamalia (Cohen *et al.*, 1997). Gen ini berperan dalam diferensiasi dan proliferasi sel hipofisis, dan merupakan *regulatory factor* terhadap hormon-hormon pertumbuhan (GH), prolaktin (PRL), dan *β -subunit thyrotropin* (Stančėková *et al.*, 1999). Sesuai dengan *database* NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/282315>), gen ini terletak pada kromosom 1 BTA (*Bos taurus* *autosome*) dan memiliki nomor ID gen: 282315. Secara struktur, gen PIT1 memiliki panjang basa nukleotida sebanyak 18093 basa, yang terdiri dari 6 ekson dan 5 intron (Dybus *et al.*, 2004). Gen PIT1 dilaporkan sebagai salah satu kandidat penanda genetik untuk produksi susu, karena memiliki fungsi untuk meregulasi hormon PRL dan GH yang penting untuk perkembangan kelenjar *mammary* dan produksi susu (Edriss *et al.*, 2009).

Polimorfisme gen PIT1/*HinfI* ditunjukkan dengan adanya substitusi basa G \rightarrow A (Zakizadeh *et al.*, 2007) pada ekson ke-6 (Hoseinzadeh *et al.*, 2015), dengan dua tipe alel yaitu A dan B (Doosti *et al.*, 2011) yang berperan pada sifat kualitas dan kemampuan produksi susu sapi perah FH. Alel A dilaporkan membawa sifat kemampuan produksi susu lebih tinggi dengan kualitas yang lebih baik dibanding alel B (Renaville *et al.*, 1997), meskipun demikian frekuensi alel B disebutkan teramat lebih banyak dibanding alel A (Doosti *et al.*, 2011). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa variasi genotipe PIT1 memiliki hubungan dengan jumlah produksi (Ahmadi *et al.*, 2015; Hoseinzadeh *et al.*, 2015), ukuran ambung (Abiertos *et al.*, 2010), dan kualitas susu (Mohammad Ali Edriss *et al.*, 2009; Hoseinzadeh *et al.*, 2015) pada sapi perah. Penelitian lain juga melaporkan tidak ditemukannya hubungan antara PIT1 dengan produksi susu pada sapi perah di Polandia (Dybus *et al.*, 2004). Hal yang sama juga dilaporkan pada sapi Holstein di Iran (Zakizadeh *et al.*, 2007), sapi perah Brown swiss di Turki (Aytekin and Boztepe, 2013), dan sapi Hosten di Slovakia (Trakovická *et al.*, 2014). Hasil penelitian-penelitian tersebut kemudian menjadi dasar pertimbangan penggunaan gen PIT1 sebagai penanda genetik terkait kepentingan seleksi ternak dalam rangka peningkatan produksi susu. Seperti diketahui bahwa perbedaan populasi, bangsa sapi, tata laksana dan tempat pemeliharaan memberikan pengaruh

terhadap tampilan produksi susu, meskipun secara genetik memiliki kesamaan variasi alel gen PIT1.

Pentingnya seleksi ternak yang terkait dengan tujuan peningkatan produksi susu, maka pemilihan ternak berdasarkan variasi alel dan genotipe PIT1 memiliki kemungkinan untuk dilakukan. Variasi genotipe PIT1 dapat menjadi salah satu pertimbangan untuk menentukan pola pemuliaan, pengembangan, dan pemeliharaan ternak yang lebih terarah untuk meningkatkan produksi susu. Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan antara variasi genotipe PIT1 terhadap tampilan produksi susu laktasi 1 dan 2 pada populasi sapi FH di Indonesia.

MATERI DAN METODE

Sample Darah

Penelitian ini menggunakan sampel DNA yang bersumber dari sampel darah 42 ekor sapi FH yang dipelihara di Balai Besar Pembibitan Ternak Unggul dan Hijauan Pakan Ternak (BBPTU-HPT) Baturraden, Purwokerto Jawa Tengah. Sapi FH yang digunakan sebagai sampel memiliki umur yang sama dan catatan produksi susu pada laktasi 1 dan 2 yang lengkap. Sebanyak 5 ml sampel darah diambil melalui vena *coccygeal* menggunakan 21GA \times 1" BD Vacutainer[®] Flashback Blood Collection Needle (Becton, Dickinson USA) yang mengandung EDTA. Selanjutnya, sampel darah dikirim ke laboratorium pada suhu 5°C untuk dilakukan ekstraksi DNA.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan di Laboratorium Produksi Ternak, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Bahan untuk ekstraksi DNA adalah Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit (Promega, USA), dan seluruh urutan proses ekstraksi mengikuti petunjuk yang disediakan tanpa adanya penyesuaian. Hasil ekstraksi DNA selanjutnya disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan pada reaksi PCR.

PCR-RFLP PIT1 | *HinfI*

Penentuan genotipe PIT1 menggunakan metode PCR-RFLP dengan enzim restriksi *HinfI* (ThermoFisher Scientific, USA). Fragmen gen PIT1 diamplifikasi menggunakan pasangan primer *forward* 5'-AAACCATCATCTCCCTTCTT-3' dan *reverse* 5'-AATGTACAATGTGCCTTCTGAG-3', yang menghasilkan produk PCR sebesar 451 bp (Woollard *et al.*, 1994). Reaksi PCR pada penelitian ini dilakukan pada suhu *annealing* (Tm) 56°C dengan 35 kali siklus amplifikasi. Setiap

reaksi PCR yang dilakukan dalam penelitian ini selalu disertai Kontrol Negatif (K-), yaitu reaksi PCR yang menggunakan ddH₂O sebagai pengganti sampel DNA yang bertujuan untuk memastikan tidak terjadi kontaminasi.

Produk PCR yang dihasilkan selanjutnya didigesti menggunakan enzim *HinfI* dengan situs pemotongan 5'...G | ANTC...3' (Zakizadeh et al., 2007). Reaksi digesti dilakukan selama 60 menit pada suhu 37°C. Hasil digesti selanjutnya divisualisasikan pada gel agarose 4% melalui reaksi elektroforesis pada tegangan 100 volt selama 45 menit. Variasi alel gen PIT1 ditentukan dengan melihat ukuran pita DNA yang terbentuk. Ukuran pita DNA pada genotipe AA adalah 451 bp, genotipe BB adalah 207 dan 244 bp, sedangkan pada genotipe AB berukuran 451, 244, dan 207 bp.

Catatan Produksi Susu

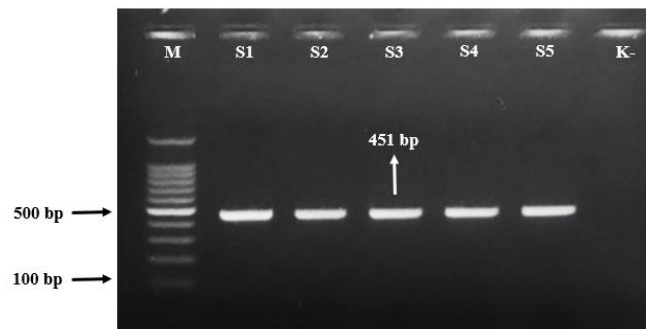
Tampilan produksi susu pada penelitian ini diukur menggunakan satuan kg/laktasi. Produksi susu diukur menggunakan metode *test day* dengan tatalaksana pemerahan sebanyak 2 kali sehari (pagi dan sore) selama masa laktasi (Prastowo et al., 2019). Catatan produksi susu diukur pada laktasi 1 dan 2, kemudian distandardisasi ke catatan produksi susu 305 hari (Hardjosubroto, 1994).

Analisis data

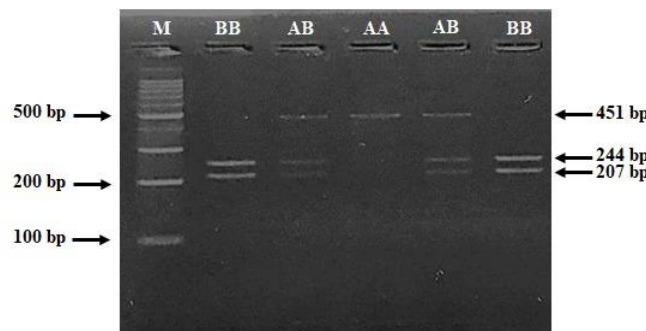
Frekuensi genotipe dan alel gen PIT1 dihitung menggunakan rumus yang dikemukakan oleh Nei dan Kumar (2000), dilanjutkan dengan perhitungan kesetimbangan populasi menggunakan persamaan Hardy-Weinberg. Asosiasi variasi genotipe terhadap produksi susu dianalisis dengan *Analysis of Variance* pada $\alpha = 0,05$. Keseluruhan analisis dilakukan dengan bantuan software R (R Core Team, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi gen PIT1 pada penelitian ini menghasilkan produk PCR dengan ukuran sebesar 451 bp (Gambar 1). Selanjutnya untuk menentukan tipe alel, dilakukan digesti produk PCR menggunakan enzim restriksi *HinfI* untuk memotong urutan basa nukleotida pada posisi mutasi G → A. Pemotongan ini menghasilkan alel A dan B yang kemudian digunakan sebagai dasar penentuan genotipe PIT1. Alel A ditandai dengan tidak terpotongnya produk PCR sehingga tetap berukuran 451 bp, sedangkan alel B ditandai dengan terpotongnya produk PCR menjadi dua fragmen berukuran 244 dan 207 bp (Gambar 2). Pada penelitian ini, variasi genotipe pada setiap individu sapi selanjutnya ditentukan dari tipe alel yang teramati.



Gambar 1. Amplifikasi fragmen gen PIT1. M = Marker 100 bp; S1 – S5 = Sampel; K- = Kontrol Negatif



Gambar 2. Variasi genotipe PIT1/*HinfI*. M = marker 100 bp; BB, AB, dan AA = Genotipe

Hasil perhitungan frekuensi genotipe dan alel gen PIT1 diperoleh frekuensi genotipe BB adalah yang tertinggi, diikuti oleh AB, dan AA (Tabel 1), dimana Alel B memiliki frekuensi lebih tinggi dibanding alel A. Berdasarkan perhitungan kesetimbangan populasi menggunakan persamaan Hardy-Weinberg, diketahui bahwa alel dan genotipe sampel yang digunakan berada pada kondisi setimbang ($p > 0,05$; Tabel 2). Hasil perhitungan frekuensi genotipe PIT1 pada penelitian ini serupa dengan penelitian sebelumnya (Misrianti *et al.*, 2010) yang menggunakan sampel DNA sapi FH yang diambil dari beberapa wilayah di Indonesia. Dilaporkan pada penelitian tersebut bahwa, genotipe yang ditemukan adalah AA, AB dan BB, dengan frekuensi tertinggi BB. Frekuensi tertinggi pada genotipe BB untuk gen PIT1 juga dilaporkan pada penelitian sebelumnya yang menggunakan sampel sapi FH di beberapa wilayah yang berbeda yaitu di Colombia (Abiertos *et al.*, 2010), Iran (Ahmadi *et al.*, 2015; Hoseinzadeh *et al.*, 2015), dan Slovakia (Trakovická *et al.*, 2014).

Kelompok sapi dengan genotipe BB pada penelitian ini, secara nyata ($P < 0,05$) memproduksi lebih banyak susu dibanding genotipe AA dan AB pada laktasi 1. Akan tetapi pada laktasi 2, variasi genotipe tidak berpengaruh pada produksi susu (Tabel 3). Perbandingan sebaran data dan pola

produksi susu antara laktasi 1 dan 2, memperlihatkan tidak adanya pola produksi susu yang konsisten lebih tinggi atau lebih rendah antar kelompok genotipe (Gambar 3). Hal ini menunjukkan bahwa pada penelitian ini, perbedaan produksi susu antar kelompok laktasi tidak dapat dijelaskan sebagai akibat perbedaan variasi genotipe PIT1 dalam populasi sapi FH. Namun demikian, berdasarkan angka, rata-rata produksi susu sapi yang digunakan pada penelitian ini menunjukkan peningkatan produksi dari laktasi 1 ke laktasi 2 yaitu sebesar $3599,39 \pm 1346,77$ menjadi $4199,094 \pm 1200,15$ kg/laktasi.

Peningkatan produksi susu dari laktasi 1 ke laktasi 2 dapat dijelaskan sebagai hasil dari perkembangan ukuran dan volume ambing yang meningkat seiring dengan jumlah laktasi atau paritas (Kuczaj, 2003). Peningkatan ukuran ambing menjadi salah satu faktor yang meningkatkan volume produksi susu (Boutinaud *et al.*, 2004) dan proses ini dikontrol secara hormonal oleh hormon somatotropin atau disebut juga bST (Mellado *et al.*, 2011). Selain itu, perkembangan ambing juga dikontrol oleh interaksi antara gen PIT1 dengan hormon *bovine prolactin* atau bPRL dan *growth hormone* atau GH (M. A. Edriss *et al.*, 2009).

Tabel 1. Frekuensi genotipe dan alel gen PIT1

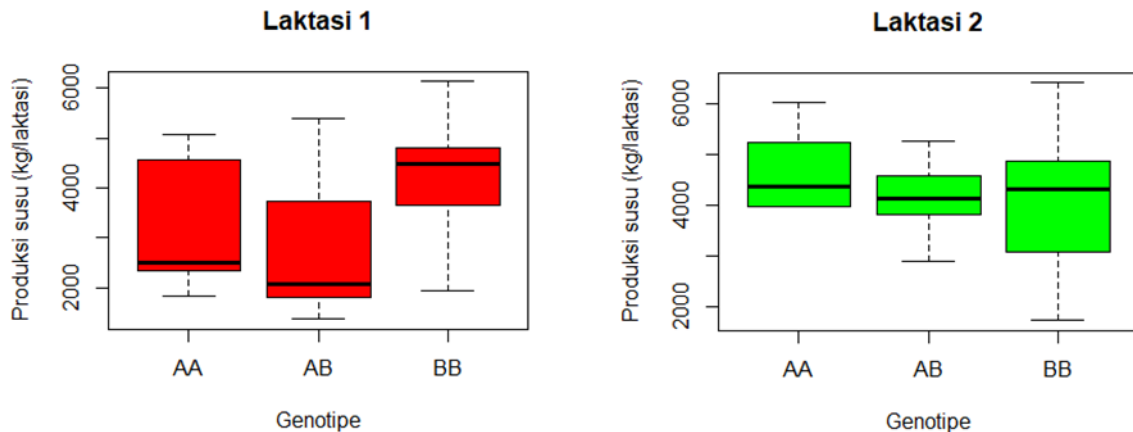
Genotipe	Jumlah	Frekuensi	Alel	Frekuensi
AA	9	0,21	A	0,35
AB	11	0,26		
BB	22	0,52		
Total	42	1	B	0,65
				1

Tabel 2. Analisis Kesetimbangan Hardy-Weinberg.

Genotipe	AA (p^2)	AB ($2pq$)	BB (q^2)
Teramati	0,21	0,26	0,52
Harapan	0,12	0,45	0,43
<i>Chi-Square</i>	0,173		
Nilai P	0,6777		

Tabel 3. Produksi susu sapi pada kelompok laktasi dan genotipe gen PIT1

Genotipe	Produksi susu (Kg/laktasi)	
	Laktasi 1	Laktasi 2
AA	$3286,56 \pm 1265,55^{ab}$	$4235,22 \pm 1535,37$
AB	$2808,28 \pm 1299,78^b$	$4242,22 \pm 906,54$
BB	$4122,94 \pm 1212,29^a$	$4162,75 \pm 1231,81$
Nilai P	0,018	0,98



Gambar 3. Sebaran data dan pola produksi susu sapi FH antar kelompok genotipe gen PIT1 pada laktasi 1 dan laktasi 2

Hubungan atau asosiasi antara variasi genotipe PIT1 dengan produksi dan kualitas susu pada sapi FH sejauh ini telah dilaporkan pada beberapa penelitian sebelumnya. Dilaporkan bahwa genotipe AA (Ziyad and Fawzi, 2014), genotipe BB (Ahmadi *et al.*, 2015) dan genotipe AB (Heidari *et al.*, 2012) berasosiasi positif terhadap produksi susu. Pada penelitian lainnya, dilaporkan pula bahwa genotipe AB memiliki pengaruh terhadap produksi lemak susu yang tinggi pada sapi FH (Hoseinzadeh *et al.*, 2015), namun terdapat penemuan lain yang menyatakan bahwa variasi genotipe PIT1 tidak berasosiasi dengan produksi susu (Dybus *et al.*, 2004; Zakizadeh *et al.*, 2007). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, dapat terlihat bahwa, variasi genotipe PIT1 dapat berasosiasi maupun tidak terhadap produksi susu. Hal demikian dapat dijelaskan karena adanya perbedaan lingkungan atau bangsa sapi yang digunakan, sehingga merupakan cerminan interaksi antara faktor genetik dan lingkungan.

Lingkungan dalam arti tata laksana pemeliharaan, perkandangan, pakan, iklim dan hal terkait lainnya, memiliki pengaruh yang besar terhadap produksi susu. Potensi genetik yang dibawa oleh seekor ternak hanya dapat diekspresikan secara optimal pada lingkungan yang mendukung. Lebih lanjut dijelaskan bahwa faktor pembatas utama dari ekspresi potensi genetik setiap individu adalah faktor lingkungan, yang mengakibatkan tampilan fenotipe atau produksi yang berbeda (Rauw and Gomez-Raya, 2015). Hal ini menjadi salah satu pertimbangan dalam mekanisme seleksi ternak dengan memperhatikan tempat dan lingkungan tempat ternak dikembang biakan. Interaksi antara faktor genetik dan lingkungan ini menjadi salah satu

kunci untuk mendapatkan produktivitas ternak yang optimal (Fikse *et al.*, 2003; Nauta *et al.*, 2006; Haile-Mariam *et al.*, 2008; Bohlouli & Alijani, 2012).

Komala *et al.* (2015) dalam penelitiannya menyatakan bahwa sapi perah di BBPTU-HPT Baturraden berada dalam kondisi stres panas, karena berada diluar zona termonetral. Ukuran zona termonetral ditentukan menggunakan ukuran *temperature humidity index* (THI), apabila THI > 72 maka sapi rentan terkena stres panas (Polsky and von Keyserlingk, 2017). Hasil penelitian yang dilakukan (Sudrajad and Adiarto, 2011) mendapatkan nilai THI di wilayah pemeliharaan sapi perah adalah 73–82, dengan demikian sapi di BBPTU-HPT Baturraden dapat dikategorikan mengalami stres panas meskipun pada kategori ringan. Hal ini menunjukkan bahwa lingkungan di BBPTU-HPT Baturraden dapat dikategorikan belum ideal untuk pemeliharaan sapi perah, terlebih untuk sapi perah impor. Seperti disebutkan sebelumnya, faktor lingkungan memiliki peran dominan dalam menentukan produktivitas sapi perah terutama produksi susu. Salah satu upaya untuk mengurangi stres panas adalah dengan menurunkan angka THI, melalui manipulasi lingkungan mikro dengan meningkatkan aliran udara. Upaya ini telah dilaporkan mampu menurunkan angka THI sebesar 7,14-11,63% (Sugiono *et al.*, 2016).

Berdasarkan asal usulnya, sapi FH yang dipelihara di BBPTU-HPT Baturraden adalah sapi impor yang didatangkan langsung dari Australia dalam kondisi bunting. Sapi-sapi tersebut kemudian melahirkan dan mengalami laktasi 1 di Indonesia. Selanjutnya untuk laktasi 2, sapi-sapi tersebut sudah mengalami kebuntingan dan melahirkan di Indonesia, sehingga pada laktasi 2

telah terjadi proses adaptasi terhadap lingkungan, yang dimungkinkan mengubah pola produksi susu mengikuti lingkungan yang ada. Perubahan pola produksi susu tersebut dapat disebabkan oleh interaksi gen-gen yang berpengaruh terhadap produksi susu dengan kondisi lingkungan (Widyas *et al.*, 2019). Hal ini terlihat dari perubahan genotipe yang membawa sifat produksi susu tertinggi pada laktasi 1 (BB) ke genotipe AA pada laktasi 2 (Tabel 2).

Perbedaan secara nyata ($p < 0,05$) produksi susu antar kelompok genotipe pada laktasi 1 disinyalir sebagai akibat pengaruh lingkungan asal yang masih dibawa oleh sapi-sapi impor tersebut. Selanjutnya, pada laktasi 2, pengaruh tersebut mulai atau bahkan menghilang karena sapi mulai melakukan adaptasi pada lingkungan pemeliharaan setempat (Widyas *et al.*, 2019), sehingga potensi genotipe PIT1 tidak terekspresikan menjadi tampilan produksi susu yang berbeda. Hal ini dapat disebabkan oleh faktor adaptasi terhadap lingkungan tropis atau bahkan stres panas. Pada penelitian ini, pola sebaran data produksi susu sapi FH (Gambar 3) yang memperlihatkan variasi produksi antar individu yang cukup lebar meskipun didalam kelompok genotipe (AA, AB, dan BB) yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa masing-masing individu melakukan proses adaptasi dan menghasilkan respon produksi susu yang berbeda-beda. Variasi inilah yang kemudian menjelaskan penyebab perbedaan genotipe PIT1 tidak berasosiasi dengan produksi susu.

Pengaruh stres panas pada status fisiologis dapat diukur pada peningkatan frekuensi respirasi, frekuensi denyut jantung dan suhu tubuh, yang kemudian berimbas pada produktivitas sapi perah dalam menghasilkan susu. Pemasalahan stres panas ini merupakan masalah global yang memberikan respon negatif pada fungsi biologis yang dapat menurunkan konsumsi pakan, produksi susu, pertumbuhan, dan performa reproduksi (Archana *et al.*, 2017; Polsky and von Keyserlingk, 2017; Liu *et al.*, 2019; Becker *et al.*, 2020; Mishra, 2020; Osei-Amponsah *et al.*, 2020a; Osei-Amponsah *et al.*, 2020b). Secara molekuler, kondisi stres panas pada ternak dapat dilihat dari ekspresi gen yang berkaitan dengan *heat shock protein*, seperti HSP70, HSP90 dan HSP27 (Archana *et al.*, 2017). Gen-gen tersebut selanjutnya dapat digunakan sebagai penanda molekuler yang mengindikasikan ternak sedang mengalami stres panas (Kumar *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa variasi genotipe PIT1 memiliki potensi sebagai penanda genetik tampilan produksi susu sapi FH. Namun, untuk memaksimalkan potensi genetik yang dibawa oleh sapi FH tersebut, tata laksana pemeliharaan dan lingkungan harus mendukung. Potensi gen PIT1 dapat berubah pada lingkungan yang berbeda, sehingga diperlukan evaluasi yang berkesinambungan untuk mendapatkan variasi genotipe yang cocok serta manajemen pemeliharaan yang sesuai untuk sapi perah di Indonesia.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak adanya konflik kepentingan dalam penelitian ini baik dari segi keuangan, pribadi, orang atau organisasi yang terkait dengan materi dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini menggunakan materi DNA dan catatan produksi sapi FH dari penelitian yang berjudul Analisis Variasi Gen *Bovine Folicle Stimulating Hormone Receptor* (FSHR) dan Asosiasinya Terhadap Sifat Reproduksi Sapi Friesian Holstein Indonesia, yang diketuai oleh Dr. agr. Ir. Sigit Prastowo, S.Pt., M.Si. Pendanaan penelitian tersebut berasal dari skema PNPB UNS tahun 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Abiertos, Y.D., D.E.V. Holstein, & E.N. El. 2010. Study of Hinfi Polymorphisms of the Pit-1 Gene and Their Associations. *Actual. Biológicas* 32(93):139-145.
- Ahmadi, M.M., A. Mirzaei, H. Sharifiyazdi, A. Hajibemani, & A. G. Rowshan. 2015. Pituitary-specific transcription factor 1 (Pit-1) polymorphism and its association on milk production and some reproductive performance in Holstein dairy cows. *Rev Med Vet* 166(5):127-131.
- Archana, P.R., J. Aleena, P. Pragna, M.K. Vidya, P.A. Abdul Niyas, M. Bagath, G. Krishnan, A. Manimaran, V. Beena, E.K. Kurien, V. Sejian, & R. Bhatta. 2017. Role of Heat Shock Proteins in Livestock Adaptation to Heat Stress. *J. Dairy, Vet. Anim. Res.* 5(1):13-19. DOI: 10.15406/jdvar.2017.05.00127.

- Aytekin, I., & S. Boztepe. 2013. Associations of Pit-1 gene polymorphism with milk yield and composition traits in Brown Swiss cattle. *J Anim Plant Sci* 23(5):1281-1289.
- Becker, C.A., R.J. Collier, & A.E. Stone. 2020. Invited review: Physiological and behavioral effects of heat stress in dairy cows. *J Dairy Sci* 103(8):6751-6770. DOI: 10.3168/jds.2019-17929.
- Bohlouli, M., & S. Alijani. 2012. Genotype by environment interaction for milk production traits in Iranian Holstein dairy cattle using random regression model. *Livest Res Rural Dev* 24(7).
- Boutinaud, M., J. Guinard-Flament, & H. Jammes. 2004. The number and activity of mammary epithelial cells, determining factors for milk production. *Reprod Nutr Dev* 44(5):499-508. DOI: 10.1051/rnd:2004054.
- Doosti, A., A. Arshi, & B. Momeni. 2011. Molecular study of PIT1 gene polymorphism in Holstein and Iranian native cattle. *Afr J Agr Res* 6(19):4467-4470.
- Dybus, A., I. Szatkowska, E. Czerniawska-Piatkowska, W. Grzesiak, J. Wójcik, E. Rzewucka, & S. Zych. 2004. PIT1-HinfI gene polymorphism and its associations with milk production traits in polish Black-and-White cattle. *Arch Anim Breed* 47:557-563. DOI: 10.5194/aab-47-557-2004.
- Hoseinzadeh, Z.E., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh, & A. Khezri. 2015. Association of PIT1 gene and milk protein percentage in Holstein cattle. *J Livst Sci Tech* 3(1):41-49.
- Edriss, M. A., V. Edriss, & H.R. Rahmani. 2009. Association of PIT-1 gene polymorphism with birth weight, milk and reproduction traits in Isfahan Holstein cows (Brief Report). *Arch. Anim. Breed.* 52(4):445-447. DOI:10.5194/aab-52-445-2009.
- Fikse, W.F., R. Rekaya, & K.A. Weigel. 2003. Genotype x environment interaction for milk production in guernsey cattle. *J Dairy Sci* 86(5):1821-1827. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73768-0.
- Haile-Mariam, M., M.J. Carrick, & M.E. Goddard. 2008. Genotype by environment interaction for fertility, survival, and milk production traits in Australian dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 91(12):4840-4853. DOI: 10.3168/jds.2008-1084.
- Hardjosubroto, W. 1994. Aplikasi Pemuliaan Ternak di Lapangan. Gramedia Widiasarana Indonesia. Jakarta.
- Heidari, M., M.A. Azari, S. Hasani, A. Khanahmadi, & S. Zerehdaran. 2012. Effect of polymorphic variants of GH, Pit-1, and β -LG genes on milk production of Holstein cows. *Genetika.* 48(4):417-421. DOI: 10.1134/S1022795412040060.
- Hoseinzadeh, Z.E., M.R. Mohammadabadi, A. Esmailizadeh, A. Khezri, & A.N. Noori. 2015. Association of PIT1 Gene with Milk Fat Percentage in Holstein Cattle. *Iran. J Appl Sci* 5(3):575-582.
- Komala, I., I. Arifiantini, & L.I.T.A Tumbelaka. 2015. Hubungan Produksi Susu Berdasarkan Grade MPPA dengan Performa Reproduksi. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan.* 3(1):33-39. DOI: 10.29244/3.1.33-39.
- Kuczaj, M. 2003. Analysis of Changes in Udder Size of High-Yielding Cows in Subsequent Lactations With Regard To Mastitis. *Electron. J Polish Agric Univ* 6(1):1-8.
- Kumar, A., S. Ashraf, T.S. Goud, A. Grewal, S.V. Singh, B.R. Yadav, & R.C. Upadhyay. 2015. Expression profiling of major heat shock protein genes during different seasons in cattle (*Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) under tropical climatic condition. *J Therm Biol* 51:55-64. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2015.03.006.
- Liu, J., L. Li, X. Chen, Y. Lu, & D. Wang. 2019. Effects of heat stress on body temperature, milk production, and reproduction in dairy cows: A novel idea for monitoring and evaluation of heat stress - A review. *Asian-Australasian J Anim Sci* 32(9):1332-1339. DOI:10.5713/ajas.18.0743.
- Mellado, M., E. Antonio-Chirino, C. Meza-Herrera, F.G. Veliz, J.R. Arevalo, J. Mellado, & A. de Santiago. 2011. Effect of lactation number, year, and season of initiation of lactation on milk yield of cows hormonally induced into lactation and treated with recombinant bovine somatotropin. *J Dairy Sci* 94(9):4524-4530. DOI: 10.3168/JDS.2011-4152.

- Mishra, S.R. 2020. Significance of molecular chaperones and micro RNAs in acquisition of thermo-tolerance in dairy cattle. *Anim Biotechnol* 29:1-11. DOI: 10.1080/10495398.2020.1830788.
- Misrianti, R., C. Sumantri, & A. Farajallah. 2010. Polymorphism identification of pit1 gene in Indonesian buffaloes (*Bubalus Bubalis*) and Holstein-Friesian cows. *Media Peternakan* 33(3):131-136. DOI: 10.5398/medpet.2010.33.3.131.
- Nauta, W.J., R.F. Veerkamp, E.W. Brascamp, & H. Bovenhuis. 2006. Genotype by environment interaction for milk production traits between organic and conventional dairy cattle production in The Netherlands. *J Dairy Sci* 89(7):2729-2737. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72349-9.
- Nei, M., & S. Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press. New York.
- Osei-Amponsah, R., F.R. Dunshea, B.J. Leury, L. Cheng, B. Cullen, A. Joy, A. Abhijith, M. H. Zhang, & S.S. Chauhan. 2020a. Heat stress impacts on lactating cows grazing Australian summer pastures on an automatic robotic dairy. *Animals* 10(5):869. DOI: 10.3390/ani10050869.
- Osei-Amponsah, R., F.R. Dunshea, B.J. Leury, L. Cheng, B. Cullen, A. Joy, A. Payyanakkal, M. H. Zhang, & S.S. Chauhan. 2020b. Impacts of Heat Stress on the Physiological and Production Responses of Lactating Dairy Cows Grazing Pastures over Hot Summer Months. *Proceedings*. 36(1):62. DOI: 10.3390/proceedings2019036062.
- Polsky, L., & M.A.G. von Keyserlingk. 2017. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *J Dairy Sci* 100(11): 8645-8657. DOI: 10.3168/jds.2017-12651.
- Prastowo, S., R. Setiaji, A. Ratriyanto, & N. Widayas. 2019. Milk components biosynthesis of Indonesian Friesian Holstein dairy cattle at a different milking interval. *AIP Conf Proc* 2202:1-5. DOI: 10.1063/1.5141687.
- R Core Team. 2019. *R: A language and environment for statistical computing*. R Found. Stat. Comput.
- Rauw, W.M., & L. Gomez-Raya. 2015. Genotype by environment interaction and breeding for robustness in livestock. *Front Genet* 6:310. DOI: 10.3389/fgene.2015.00310.
- Renaville, R., N. Gengler, E. Vrech, A. Prandi, S. Massart, C. Corradini, C. Bertozzi, F. Mortiaux, A. Burny, & D. Portetelle. 1997. Pit-1 Gene Polymorphism, Milk Yield, and Conformation Traits for Italian Holstein-Friesian Bulls. *J Dairy Sci* 80(12):3431-3438. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76319-7.
- Stančková, K., D. Vašíček, D. Peškovičová, J. Bulla, & A. Kúbek. 1999. Effect of genetic variability of the porcine pituitary-specific transcription factor (PIT-1) on carcass traits in pigs. *Anim Genet* 30(4):313-315. DOI:10.1046/j.1365-2052.1999.00484.x.
- Sudrajad, P., & Adiarto. 2011. Pengaruh stres panas terhadap performa produksi susu sapi Frisian Holstein di Balai Besar Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah Baturraden. *Semin. Nas. Teknol. Peternak. dan Vet. Bogor*, 7-8 Juni 2011. Bogor Puslitbang Peternakan, 2012. Hlm: 341-346.
- Sugiono, S., H. Dewi, & S. Rudy. 2016. Measuring Thermal Stress of Dairy Cattle Based on Temperature Humidity Index (THI) in Tropical Climate. *MATEC Web Conf* 68. DOI: 10.1051/mateconf/20166806004.
- Trakovická, A., N. Morav, M. Gábor, & M. Miluchová. 2014. Genetic polymorphism of Pit-1 gene associated with milk production traits in Holstein cattle. *Acta Agrar. Kaposváriensis* 18:146-151.
- Widayas, N., N. Mahfudhoh, Subiakti, & S. Prastowo. 2019. Genetic parameters of milk yield from three consecutive lactation periods of imported Holstein cows. *AIP Conf Proc* 2202:1-5. DOI: 10.1063/1.5141689.
- Woollard, J., C.B. Schmitz, A.E. Freeman, & C.K. Tuggle. 1994. Rapid Communication: *HinfI* Polymorphism at the Bovine PIT1 Locus. *Anim Sci* 72(12):3267.
- Zakizadeh, S., M. Reissmann, G. Rahimi, A. Nejati Javaremi, P. Reinecke, S.R. Mirae-Ashtiani, & M. Moradi Shahrabak. 2007.

Polymorphism of the bovine POU1F1 gene: Allele frequencies and effects on milk production in three Iranian native breeds and holstein cattle of Iran. *Pakistan J Biol Sci* 10(15):2575-2578. DOI: 10.3923/pjbs.2007.2575.2578.

Zyiad, A.K., & A.R. Fawzi. 2014. Analysis of selected milk traits in Palestinian Holstein-Friesian cattle in relation to genetic polymorphism. *J Cell Anim Biol* 8(5):74-85. DOI: 10.5897/jcab2014.0409.