

**PENGARUH GENOTIPE κ -KASEIN DAN PARITAS PADA KADAR LEMAK
DAN PROTEIN SUSU SAPI FRIESIAN HOLSTEIN DI BALAI
PEMBIBITAN TERNAK UNGGUL SAPI PERAH
BATURRADEN, PURWOKERTO**

Hasanaton Hasinah¹, Maria Astuti² dan Wayan T. Artama³

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi genotipe κ -kasein pada sapi perah di "Balai Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah Baturraden" Purwokerto dan pengaruhnya pada kadar lemak dan protein susu. Penelitian menggunakan 35 ekor sapi perah Friesian Holstein pada paritas ke 3, 4, 5 dan 6. Sampel darah 5 ml dan sampel susu 250 ml diambil dari masing-masing sapi dan dicatat hari laktasinya. Variabel yang diamati meliputi genotipe κ -kasein, kadar lemak dan kadar protein susu. Sampel susu dianalisis kadar lemaknya dengan metode Babcock dan kadar protein dengan metode Kjeldahl. Sampel DNA diisolasi dari sampel darah. Sampel DNA diamplifikasi dengan metode PCR dengan mempergunakan sepasang primer yaitu *sense primer* 5' CGCTGTGAGAAAGATGAAAGATTC 3' dan *anti sense primer* 5' AGATTC AAGGAGTATACCAATTGTTG 3'. Program PCR pada penelitian ini adalah *denaturasi* pada suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* 55°C selama 1 menit dan *extension* 72°C selama 1 menit dan amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus. Setelah amplifikasi, produk PCR didigesti dengan enzim restriksi endonuklease *Hind* III dan *Pst* I, kemudian dilakukan elektroforesis dengan gel agarose dan divisualisasi di bawah sinar UV. Data hasil penelitian dianalisis variansi berdasarkan Rancangan Acak Lengkap pola faktorial dengan 2 faktor yaitu paritas dan genotipe κ -kasein dengan jumlah hari laktasi sebagai kovariat. Hasil penelitian menunjukkan dapat diidentifikasi 3 genotipe κ -kasein yaitu AA, AB dan BB. Genotipe ke 35 ekor ternak tersebut adalah 14 AA (40%), 19 AB (54%) dan 2 BB (6%). Pada penelitian ini, pengaruh ketiga macam genotipe κ -kasein terhadap kadar lemak, kadar protein dan paritas belum dapat menunjukkan adanya perbedaan, akan tetapi genotipe BB menunjukkan secara kuantitatif kadar lemak dan protein lebih tinggi dibandingkan AA dan AB. Hal ini mengindikasikan bahwa identifikasi genotipe κ -kasein dapat dipergunakan sebagai bantuan dalam seleksi kadar lemak dan kadar protein.

(Kata kunci : Genotipe κ -kasein, *Polymerase Chain Reaction*, Friesian Holstein).

Buletin Peternakan 27 (1) : 8 - 15, 2003

¹ Pusat Penelitian Peternakan, Bogor.

² Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

³ Pusat Studi Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

THE EFFECT OF κ -CASEIN GENOTYPE AND PARITY ON THE PERCENT OF MILK FAT AND MILK PROTEIN OF HOLSTEIN FRIESIAN CATTLE AT "BALAI PEMBIBITAN TERNAK UNGGUL SAPI PERAH BATURRADEN" PURWOKERTO

ABSTRACT

The purpose of this study was to identify the κ -casein genotype and their effect on the levels of milk fat and milk protein at "Balai Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah Baturraden" Purwokerto. Twenty five Friesian Holstein cows of parity 3, 4, 5 and 6 were used in this study. Five ml of blood sample and 250 ml of milk sample were taken from each cow. The variables observed were the κ -casein genotypes, the percent of milk fat and milk protein. The milk samples were analyzed using the Babcock Test for percentage of milk fat, and Kjeldahl Method for milk protein. DNA samples were extracted from the blood. The DNA was amplified by PCR method using 2 primers, sense primer 5' CGCTGTGAGAAAGATGAAAGATTC 3' and anti sense primer 5' AGATTCAAGGAGTATACCAATTGTTG 3'. The PCR reaction was performed for 35 cycles: denaturation at 94°C for 1 min, annealing at 55°C for 1 min, extension at 72°C for 1 min. The result was, 780 bp of PCR product and further was digested with *Hind* III and *Pst* I, and was analyzed by agarose gel electrophoresis and then visualized under UV transilluminator. The data collected was analyzed by analysis of variance for factorial design with two factors of parity and genotype of κ -casein and days in milk as covariate. The results showed three genotype of κ -casein (AA, AB and BB) were identified. The genotyping of 35 cows indicated that 14 cows (40%) were AA genotype, 19 cows (54%) were AB genotype, 2 cows (6%) were BB genotype. The results in these study couldn't show the difference in percentages of milk fat and milk protein, and parity between genotype. But the quantitative results showed that cows with κ -casein BB genotype produced higher percent of milk fat and milk protein than those of other κ -casein genotype. These finding suggest that identification of κ -casein genotype could be used as an aid to select desired milk fat and protein percentage.

(Key words : κ -casein genotype, Polymerase Chain Reaction, Friesian Holstein).

Pendahuluan

Produksi dan komposisi susu sapi perah merupakan sifat kuantitatif yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan variasi alel pada banyak lokus. Salah satu upaya untuk meningkatkan produksi dan komposisi susu adalah dengan peningkatan mutu genetik. Peningkatan mutu genetik merupakan upaya dalam program pemuliaan untuk meningkatkan frekuensi gen yang menguntungkan terutama pada sifat-sifat kuantitatif sapi perah.

Penerapan teknologi pemuliaan untuk menghasilkan bibit-bibit sapi perah unggul perlu ditunjang oleh pengetahuan mengenai faktor-faktor genetik yang

berpengaruh pada penampilan produksi sapi perah. Hal tersebut diperlukan karena penilaian ternak didasarkan pada kemampuan genetiknya sedangkan yang dapat diukur adalah penampilan produksinya. Penampilan produksi tersebut pada prinsipnya merupakan pengaruh dari faktor genetik dan bukan genetik.

Pada sapi perah dikenal gen mayor protein susu yang dikenal dengan sebutan MiPPo (*Milk Protein Polymorphisms*) antara lain gen mayor κ -kasein, β -laktoglobulin, β -kasein dan α -laktalbumin (Mao *et al.*, 1992).

Polimorfisme genetik κ -kasein telah dapat diidentifikasi pada level protein. Dengan adanya kemajuan di bidang biologi molekuler

dan teknologi DNA, usaha mengidentifikasi sifat polimorfisme ini dapat dilakukan pada DNA genom. DNA genom dapat diisolasi dari sampel darah, jaringan, akar rambut dan semen. Sampel DNA yang dihasilkan, kemudian diamplifikasi dengan metoda *Polymerase Chain Reaction* dan didigesti dengan enzim restriksi, selanjutnya dielektroforesis sehingga didapat pita-pita DNA alel κ -kasein yang dapat divisualisasi di atas sinar UV (Astuti, 2002).

Alel κ -kasein yang telah diidentifikasi pada sapi, umumnya terdiri dari dua alel yaitu A dan B dengan menggunakan enzim restriksi *Hind* III dan *Taq* I (Leveziel *et al.*, 1988 yang disitasi oleh Cronin dan Cockett, 1993), serta menunjukkan pengaruh pada produksi dan komposisi susu serta produk dari susu misalnya keju (McLean *et al.*, 1984 yang disitasi oleh Robitaille, 1995).

Hasil penelitian Schaar *et al.* (1985) menunjukkan susu sapi yang bergenotipe κ -kasein BB mempengaruhi proses pembuatan keju, karena waktu koagulasi rennet lebih pendek, bentuk *curd* lebih padat dan produk keju yang dihasilkan lebih bagus bila dibandingkan dengan penggunaan susu yang berasal dari sapi yang bergenotipe κ -kasein AA. Tujuan penelitian ini adalah untuk dapat mengidentifikasi gen polimorfik κ -kasein pada sapi perah di Balai Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah Baturraden. Apabila hasil penelitian menunjukkan adanya hubungan genotipe κ -kasein dengan kadar lemak dan kadar protein susu maka dapat dimanfaatkan sebagai bantuan dalam seleksi kadar lemak dan kadar protein pada sapi perah.

Materi dan Metode

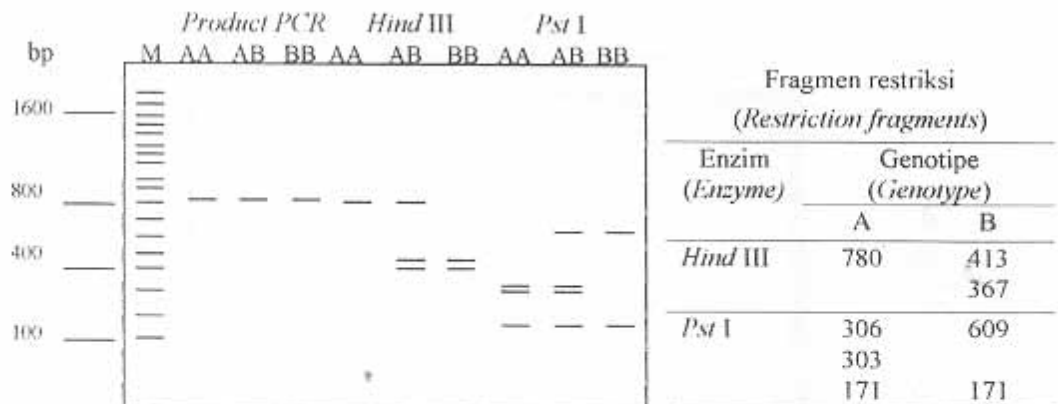
Pelaksanaan penelitian ini diawali dengan pengambilan sampel darah dan sampel susu, masing-masing sapi yang diambil sampelnya dicatat hari laktasinya. Sampel susu dianalisis kadar lemak dengan metoda

Babcock dan kadar protein dengan metode Kjeldahl. Sampel darah diambil dari vena jugularis dengan menggunakan jarum *venoject* ditampung dalam tabung *vacutainer* yang sudah berisi EDTA. Sampel darah dianalisis untuk mendapatkan sampel DNA.

Sampel DNA diisolasi dari sampel darah dengan metode ekstraksi fenol. Sampel DNA yang dihasilkan diamplifikasi dengan menggunakan metoda PCR. Dua buah primer yang dipergunakan oleh Chikuni *et al.* (1991) dipakai untuk mengamplifikasi sekuen DNA κ -kasein yaitu primer 1 (*sense primer*) 5' CGCTGTGAGAAAGATGAAAGATTC 3' dan primer 2 (*anti sense primer*) 5' AGATTCAAGGAGTATACCAATTGTTG 3'. Program PCR untuk amplifikasi adalah *denaturasi* awal pada suhu 95°C selama 2 menit, selanjutnya sebanyak 35 siklus; untuk proses *denaturasi* 94°C selama 1 menit, *annealing* 55°C selama 1 menit, *polimerisasi* 72°C selama 1 menit. Setelah siklus terakhir tabung diinkubasi pada suhu 72°C selama 5 menit, lalu suhu diturunkan hingga suhu 4°C, dan disimpan pada suhu -20°C.

Hasil amplifikasi berupa produk PCR 780 bp didigesti dengan enzim restriksi endonuklease *Hind* III dan *Pst* I, kemudian dilakukan elektroforesis dengan gel agarose 1%. Hasil amplifikasi divisualisasi dibawah sinar UV dan difoto. Penentuan genotipe κ -kasein oleh digesti enzim restriksi endonuklease *Hind* III dan *Pst* I berdasarkan laporan Chikuni *et al.* (1991).

Frekuensi alel κ -kasein dihitung menurut Warwick *et al.* (1990). Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variansi menggunakan program SPSS versi 10.0 berdasarkan Rancangan Acak Lengkap pola faktorial dengan satu kovariat yaitu jumlah hari laktasi sebagai kovariat (Gill, 1978).



Gambar 1. Genotipe κ -kasein oleh enzim restriksi endonuklease *Hind III* dan *Pst I* (Genotyping of κ -casein locus by endonuclease restriction enzyme *Hind III* and *Pst I*).

Model statistik

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + b(X_{ijk} - X_{...}) + E_{ijk}$$

Dimana:

- Y_{ijk} = pengamatan ke-k pada genotipe ke-i dengan paritas ke-j
 μ = rerata populasi
 α_i = pengaruh genotipe ke-i, $i = 1 \dots a$
 β_j = pengaruh paritas ke-j, $j = 1 \dots b$
 $\alpha\beta_{ij}$ = interaksi genotipe ke-i dengan paritas ke-j
 b = regresi pengamatan (kadar lemak dan protein) pada jumlah hari laktasi
 E_{ijk} = random error

Hasil dan Pembahasan

Hasil Isolasi DNA

Sampel DNA yang diperoleh, diukur konsentrasinya dengan spektrofotometri absorben ultraviolet pada panjang gelombang 260 nm. Pengukuran konsentrasi juga dilakukan dengan cara membandingkan dengan intensitas pita pada marker yang telah

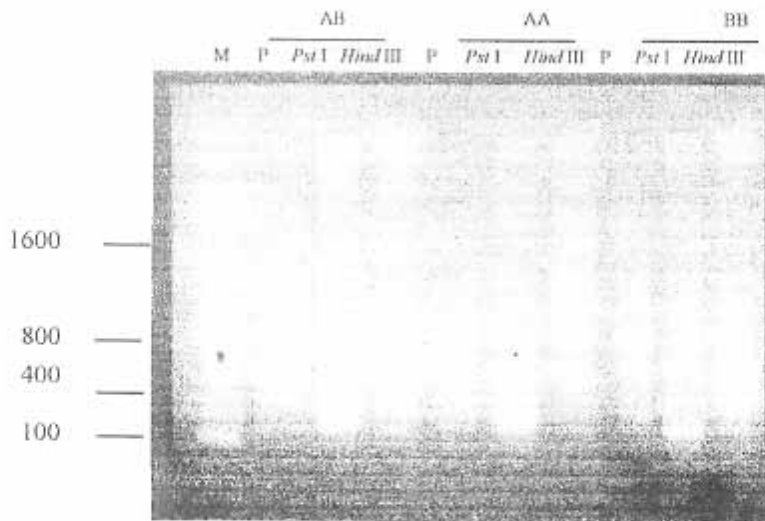
diketahui konsentrasinya. Intensitas pita DNA yang dihasilkan diperkirakan mengandung sekitar 200-300 ng DNA.

Tingkat kemurnian DNA diperkirakan dengan menghitung perbandingan absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Molekul DNA dinyatakan murni jika mempunyai perbandingan absorbansi pada panjang gelombang 260/280 nm = 1,8 (Sambrook *et al.*, 1989).

Kemurnian DNA hasil isolasi pada penelitian ini adalah 1,6 - 2,1. Hasil ini relatif baik. Nilai perbandingan yang lebih tinggi dari 1,8 disebabkan hasil isolasi masih mengandung RNA, sedangkan nilai perbandingan yang kurang dari 1,8 menunjukkan hasil isolasi terkontaminasi protein.

Produk PCR dan Hasil Digesti

Hasil amplifikasi PCR berupa fragmen DNA ukuran 780 bp dengan menggunakan sepasang primer serta hasil *digesti* dengan *Hind III* dan *Pst I* (TOYOBO). Contohnya dapat dilihat pada elektroforegram pada gambar berikut ini.



Gambar 2. Elektroforegram produk PCR dan hasil digesti dengan restriksi endonuklease *Hind* III dan *Pst* I; M (marker); P (produk PCR); AB, AA, BB (genotipe κ -kasein) (*Electroforegram of PCR product and genotyping of κ -casein locus by endonuclease restriction enzyme Hind III and Pst I; M (Marker) P (PCR product) AB, AA, BB (genotype of κ -casein)*).

Tabel 1. Frekuensi genotipe dan frekuensi alel κ -kasein sapi Friesian Holstein di Balai Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah Baturraden (*Frequency of κ -casein genotype and allele of Holstein Friesian cattle at Balai Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah Baturraden*)

Genotype (<i>Genotype</i>)	Jumlah (<i>Total</i>)	Frekuensi (<i>Frequency</i>)
AA	14	0,40 (40%)
AB	19	0,54 (54%)
BB	2	0,06 (6%)
Alel (<i>Allele</i>)		
A	47	0,67 (67%)
B	23	0,33 (33%)

Identifikasi genotipe dilakukan menurut Chikuni *et al.* (1991). *Digesti* dengan *Hind* III: genotipe κ -kasein AA mempunyai satu pita pada ukuran 780 bp, genotipe AB mempunyai 3 pita masing-masing pada ukuran 780 bp, 413 bp dan 367 bp dan genotipe BB mempunyai 2 pita yaitu pada ukuran 413 bp dan 367 bp. *Digesti* dengan *Pst* I : genotipe κ -kasein AA mempunyai 3 pita masing-masing pada ukuran 306 bp, 303 bp dan 171 bp, genotipe AB

mempunyai 4 pita masing-masing pada ukuran 609 bp, 306 bp, 303 bp dan 171 bp dan genotipe BB mempunyai 2 pita yaitu pada ukuran 609 bp dan 171 bp.

Frekuensi Genotipe dan Alel

Hasil pengamatan serta hasil perhitungan frekuensi genotipe dan frekuensi alel dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 2. Rata-rata kadar lemak susu sapi Friesian Holstein berdasar genotipe κ -kasein dan paritas (*Average percent of milk fat Holstein Friesian cattle*)

Genotipe (<i>Genotype</i>)	Lemak (<i>Fat</i>) (%)			
	AA	AB	BB	
Paritas (<i>Parity</i>)	3	4	5	6
	3,42 ^a	3,38 ^a	3,23 ^b	3,11 ^b

^{a,b} Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda (^{a, b} *The same superscript in the same row indicated no significant difference (P>0.05)*)

Frekuensi alel B yang *didapat mendekati hasil yang dilaporkan oleh McLean *et al.* (1984) dalam Barroso *et al.* (1997) yang mendapatkan frekuensi alel B pada FH 0,32 sedangkan pada Jersey didapat 0,77. Medrano dan Cordova (1990) dalam Burzynska dan Topczewski (1995) mendapatkan frekuensi genotipe BB pada populasi Holstein 0,3 dan Jersey 0,81. Hasil untuk frekuensi genotipe κ -kasein sedikit berbeda dengan hasil yang dilaporkan oleh Chikuni *et al.* (1991) dan Yamamoto *et al.* (1994) dimana frekuensi genotipe κ -kasein AA lebih besar dari AB. Perbedaan ini dapat terjadi karena perbedaan bangsa dan jumlah sampel yang diteliti.

Pengaruh Genotipe dan Paritas pada Kadar Lemak

Rata-rata kadar lemak susu berdasar genotipe κ -kasein dan paritas yang diamati disajikan pada Tabel 2.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pengaruh ketiga macam genotipe κ -kasein tidak menunjukkan perbedaan terhadap kadar lemak susu. Namun demikian, genotipe κ -kasein BB secara kuantitatif menunjukkan kandungan lemak yang lebih tinggi (3,45%) dibandingkan dengan yang lain (κ -kasein AA dan AB). Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Strzalkowska *et al.* (2002) dan juga seperti yang dinyatakan oleh Ng-Kwai

Hang *et al.* (1990) bahwa κ -kasein BB mempunyai kadar lemak lebih tinggi daripada κ -kasein AA.

Rata-rata kadar lemak susu hasil penelitian adalah 3,41%. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Soeparno *et al.* (2001) bahwa kadar lemak susu mempunyai kisaran antara 3,0 - 4,0%, dan juga Harper dan Hall (1976) yang melaporkan susu sapi bangsa Holstein mempunyai kadar lemak 3,44%, tetapi sedikit lebih rendah dari yang dihasilkan oleh Utami (1998) yaitu sebesar 3,6%.

Hasil analisis statistik pengaruh paritas terhadap kadar lemak tidak menunjukkan perbedaan, sapi yang lebih tua (paritas 6) mempunyai kadar lemak paling rendah dibandingkan lainnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Soeparno (1992^b) yang menyatakan bahwa umur sapi dan kandungan lemak susu selama periode laktasi mempunyai hubungan yang negatif. Hari laktasi sebagai kovariat dalam analisis menunjukkan pengaruh yang nyata.

Pengaruh Genotipe dan Paritas pada Kadar Protein

Rata-rata kadar protein susu berdasar genotipe κ -kasein dan paritas pada penelitian ini seperti terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata kadar protein susu sapi Friesian Holstein berdasar genotipe κ -kasein dan paritas (*Average percent of milk protein Holstein Friesian cattle*)

Genotipe (<i>Genotype</i>)	Protein (%)			
	AA	AB	BB	
	2,66 ^a	3,00 ^a	3,26 ^a	
Paritas (<i>Parity</i>)	3	4	5	6
	3,01 ^b	2,82 ^b	2,88 ^b	2,86 ^b

^{a,b} Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda (^{a, b} *The same superscript in the same row indicated no significant difference (P>0.05)*)

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pengaruh ketiga macam genotipe κ -kasein tidak menunjukkan perbedaan terhadap kadar protein susu. Meskipun demikian data kuantitatif mengindikasikan genotipe κ -kasein BB mempunyai kandungan protein yang lebih tinggi (3,26%) diikuti yang lainnya AB (3,00%) dan AA (2,66%). Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Strzalkowska *et al.* (2002), Ng-Kwai Hang *et al.* (1990) dan Eenennaam dan Medrano (1991^b). Dinyatakan oleh Ng-Kwai-Hang *et al.* (1984) bahwa alel B κ -kasein berhubungan dengan tingginya kandungan protein susu, juga dinyatakan oleh Mao *et al.* (1992) bahwa alel B κ -kasein berhubungan dengan produksi dan persentase protein, genotipe BB κ -kasein mempunyai proporsi κ -kasein tinggi dalam fraksi kasein.

Analisis statistik pengaruh paritas terhadap kadar protein tidak menunjukkan perbedaan, meskipun sapi dari paritas 3 mempunyai kadar protein paling tinggi dibandingkan yang lainnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Soeparno (1992^b) yang menyatakan bahwa persentase protein susu menurun pada sapi umur lebih dari tiga tahun. Hari laktasi sebagai kovariat menunjukkan pengaruh yang nyata.

Kadar protein susu hasil penelitian rata-ratanya yaitu 2,89%, ini lebih rendah dari yang dinyatakan oleh Soeparno *et al.* (2001) yaitu antara 3,3% - 3,5%, dan oleh Harper dan Hall (1976) yaitu sebesar 3,11%, dan juga lebih rendah dari yang dihasilkan oleh Utami (1998) yaitu 3,2%.

Kesimpulan

Penggunaan teknik amplifikasi DNA dengan PCR mendapatkan fragmen DNA κ -kasein ukuran 780 bp dan *digesti* dengan enzim *Hind* III dan *Pst* I dapat digunakan untuk membedakan tiga macam genotipe κ -kasein (AA, AB, BB). Frekuensi alel A dan alel B berturut-turut sebesar 0,67 dan 0,33. Pengaruh ketiga macam genotipe κ -kasein terhadap kadar lemak dan protein susu tidak menunjukkan perbedaan, begitu juga tidak terdapat perbedaan pengaruh paritas. Meskipun demikian hasil penelitian secara kuantitatif menunjukkan genotipe BB mempunyai kadar lemak dan kadar protein lebih tinggi dibandingkan AA dan AB. Hari laktasi menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap kadar lemak begitu juga terhadap kadar protein. Hal ini memberikan peluang untuk mempergunakan genotipe κ -kasein sebagai bantuan dalam pelaksanaan seleksi kadar lemak dan kadar protein susu pada sapi perah.

Daftar Pustaka

- Astuti, M. 2002. Alternatif Kriteria Seleksi pada Sapi Perah. Kuliah Perdana Program Magister Ilmu Peternakan Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Barroso, A., S. Dunner and J. Canon. 1997. Use of Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis to Perform Simple Genotyping of Bovine κ -casein

- A, and B Variants. *J. Dairy Res.*, 64: 535-540.
- Burzynska, B. and J. Topczewski. 1995. Genotyping of Bison *bonasus* κ -casein gene Following DNA sequence Amplification. *Animal Genetics*. 26: 335-336.
- Chikuni, K., S. Kageyama, T. Koshikawa, S. Kato and K. Ozutsumi. 1991. Identification of Bovine κ -casein Genotypes using Polymerase Chain Reaction Method. *Anim. Sci. Technol. (Jpn)*. 62 (7) 654-659.
- Cronin, M. A. and N. Cockett. 1993. Kappa-casein Polymorphisms among Cattle Breeds and Bison Herds. *Animal Genetics*. 24. 135-138.
- Eenenmaam, A. L. V. and J. F. Medrano. 1991. Milk Protein Polymorphisms in California Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, 74: 1730-1742.
- Gill, J. L. 1978. Design and Analysis of Experiments in the Animal and Medical Science, vol. I. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.
- Harper, W. J. and C. W. Hall. 1976. Dairy Technology and Engineering. The Avi Pubs. Co., Inc., Westport.
- Mao, I. L., L. G. Buttazzoni and R. Aleandri. 1992. Effect Polymorphic Milk Protein Genes on Milk Yield and Composition Traits in Holstein Cattle. Sect. A, *Animal Sci.* 42; 1-7.
- Ng-Kwai Hang, K. F., J. F. Hayes, J. E. Moxley, and H. G. Monardes. 1984. Association of Genetic Variants of Casein and Milk Serum Proteins with Milk, Fat and Protein Production by Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, 67:835.
- Ng-Kwai Hang, K. F., H. G. Monardes, and J. F. Hayes. 1990. Association Between Genetic Polymorphism of Milk Proteins and Production Traits During Three Lactations. *J. Dairy Sci.*, vol. 73, no. 12, 3415-3421.
- Robitaille, G. 1995. Influence of κ -casein and β -lactoglobulin Genetics Variants on the Heat Stability of Milk. *J. Dairy Res.* 62: 593-600.
- Sambrook, J., E. F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2-nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schaar, J., B. Hansson, and H. Patterson. 1985. Effects of Genetic Variants of κ -casein and β -lactoglobulin on Cheese making. *J. Dairy Res.* 52:429.
- Schmidt, G. H. and L. D. Van Vleck. 1974. *Principles of Dairy Science*. W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- Soeparno. 1992. Faktor Komposisi dan Karakteristik Fisik Susu. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Soeparno, Rihastuti, Indratiningsih dan S. Triatmojo. 2001. *Dasar Teknologi Hasil Ternak*. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Strzalkowska, N., J. Krzyzewski, L. Zwierzchowski and Z. Ryniewicz. 2002. Effect of κ -casein and β -lactoglobulin loci polymorphism, cow' age, stage of lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black-and-White cattle. *Anim. Sci. Papers and Report*. Vol.20 no. 1, 21-35. Inst. of Genetics and Anim. Breeding, Jastrzebiec, Poland.
- Utami, S. 1998. *Kajian Kualitas Susu Segar pada Jalur Susu di DIY*. Tesis. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Yamamoto, T., K. Shimada, M. Takahashi, T. Tabata, N. Takenouchi, K. Oshima, A. Kikkawa, O. Nakayama and M. Kosugiyama. 1994. Genotype Effect of κ -casein on Milk performance in Japanese Black Cows. *Anim. Sci. Technol. (jpn)* 65 (12): 1119-1121.