



Keragaman Gen Calpastatin pada Ayam Kampung

Calpastatin Gene Diversity in Native Chicken

Saifullah^{1*}, Wempie Pakiding², Muh. Ihsan A. Dagong² dan Hikmawaty³

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan dan Perikanan, Universitas Tadulako, Jl. Soekarno Hatta No. KM. 9, Tondo, Kec. Mantikulore, Kota Palu, Indonesia, 94148

²Program Studi Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan KM. 10, Makassar, Indonesia, 90245

³Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan dan Perikanan, Universitas Sulawesi Barat, Jl. Prof. Dr. Baharuddin Lopa, S.H., Talubung, Majene, Indonesia, 91412

ABSTRAK

Gen calpastatin (CAST) berperan dalam mengontrol sifat kualitas daging. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman gen calpastatin tiga jenis ayam kampung yang berbeda. Penelitian ini menggunakan metode PCR-RFLP untuk mengamplifikasi fragmen DNA genom gen CAST. Penelitian ini dilaksanakan di Kandang Peternakan CV. Bittara Wanua di Kabupaten Soppeng dan Laboratorium Bioteknologi Terpadu Universitas Hasanuddin. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 45 ekor dari tiga jenis ayam kampung yang berbeda, yaitu Ayam KUB, ayam Merawang, dan ayam kampung *in ovo feeding*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa genotipe ayam kampung berupa AA dan AG, dengan frekuensi alel dominan A. Gen CAST pada ayam kampung *in ovo feeding* bersifat polimorfik (frekuensi alel A = 0,93; G = 0,07), sedangkan ayam KUB dan ayam Merawang bersifat monomorfik (frekuensi alel A = 0,97; G = 0,03 pada ayam KUB dan frekuensi alel A = 1,00; G = 0,00 pada ayam Merawang). Nilai H_o dan H_e ayam kampung *in ovo feeding* masing-masing sebesar 0,133 dan 0,1289. Ayam kampung *in ovo feeding* berada dalam keseimbangan Hukum Hardy-Weinberg dengan nilai $X^2 = 0,0370$.

Kata kunci: ayam kampung, KUB, *in ovo feeding*, Calpastatin

ABSTRACT

The calpastatin gene (CAST) plays a role in controlling meat quality traits. This study aims to determine the diversity of the calpastatin gene in three different types of local chickens. This study used the PCR-RFLP method to amplify CAST gene genomic DNA fragments. This research was conducted at the CV. Bittara Wanua in Soppeng Regency and Integrated Biotechnology Laboratory at Hasanuddin University. The number of used samples was 45 from three different types of local chickens, namely KUB chicken, Merawang chicken and *in ovo feeding* native chicken. The results showed that the genotypes of local chickens were AA and AG, with the frequency of allele dominant A. The CAST gene in local chickens *in ovo feeding* was polymorphic (allele frequency A = 0.93; G = 0.07), while KUB and Merawang chickens monomorphic (allele frequency A = 0.97; G = 0.03 in KUB chickens and A allele frequency = 1.00; G = 0.00 in Merawang chickens). H_o and H_e values of native chickens *in ovo feeding* were 0.133 and 0.1289, respectively. Free-range chicken *in ovo feeding* is in balance with the Hardy-Weinberg Law with a value of $X^2 = 0.0370$.

Keywords: local chicken, KUB, *in ovo feeding*, Calpastatin

*Corresponding Author:
Saifullah, Program Studi
Peternakan, Fakultas
Peternakan dan Perikanan,
Universitas Tadulako;
saifullahfarizi@ymail.com

Diterima: 10-10-2023
Disetujui: 22-11-2023
Diterbitkan: 23-12-2023

Kutipan: Saifullah, S., Pakiding, W., Dagong, M. I. A., & Hikmawaty, H. (2023). Keragaman Gen Calpastatin pada Ayam Kampung. *Jurnal Ilmiah AgriSains*, 24(3), 129–137.
<https://doi.org/10.22487/jiagrisains.v24i3.2023.129-137>

PENDAHULUAN

Ayam kampung adalah salah satu sumber kekayaan genetik ternak lokal Indonesia. Ayam kampung memiliki kelebihan yaitu mudah beradaptasi dengan lingkungan dan dapat dipelihara dengan modal yang sedikit. Selain itu, ayam kampung juga memiliki kekurangan seperti pertumbuhan yang lambat (Tamzil *et al.*, 2014), bobot badan rendah (Aryanti *et al.*, 2013) dan konversi pakan yang tinggi (Iriyanti *et al.*, 2014). Pertumbuhan yang lambat pada ayam kampung menyebabkan umur potong yang tertunda dan akan berdampak pada kualitas daging yang rendah.

Peningkatan performa dan kualitas daging dapat dilakukan melalui pemuliaan dan seleksi pada tingkat DNA (Saifullah, 2021). Terknologi seleksi pada tingkat DNA disebut *Marker Assisted Selection* (MAS). MAS bergantung pada identifikasi hubungan antara penanda genetik dan lokus sifat kuantitatif terkait (QTL) (Wakchaure dan Ganguly, 2015). Salah satu marker gen yang bisa digunakan adalah gen *calpastatin*. Gen *calpastatin* (CAST) merupakan gen yang berhubungan dengan sifat kualitas daging khususnya keempukan (Biswas *et al.*, 2016; Yuliati *et al.*, 2019).

Penelitian ini menggunakan beberapa jenis ayam kampung, salah satunya adalah ayam kampung hasil *in ovo feeding*, ayam kampung hasil *in ovo feeding* memiliki pertumbuhan yang cepat dibandingkan dengan ayam kampung lainnya, dengan pertumbuhan yang cepat maka akan mempengaruhi keempukan daging. Olehnya itu, diperlukan penelusuran gen CAST pada ayam kampung khususnya ayam kampung *in ovo feeding*. Penelitian ini juga menggunakan *primer* CAST yang berbeda dengan penelitian lainnya.

Biswas *et al.* (2016) pada penelitiannya menemukan hubungan antara gen CAST dan perubahan otot yang berefek pada keempukan daging ayam. Gen CAST ditemukan pada ayam kampung merawang di daerah *intron* 11 dengan panjang produk 482 pb (Harahap *et al.*, 2017). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi keragaman gen CAST pada beberapa jenis ayam kampung dan diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu pencari pada program seleksi dan pemuliabiakan untuk menghasilkan ayam kampung dengan kualitas daging yang baik.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Agustus – Oktober di kandang peternakan CV. Bittara Wanua di Kabupaten Soppeng dan Laboratorium Bioteknologi Terpadu Universitas Hasanuddin, Makassar.

Materi

Penelitian ini menggunakan 45 ekor ayam kampung yang terdiri dari ayam KUB, Merawang, dan ayam kampung *in ovo feeding* yang berumur 10 minggu. Ayam kampung *in ovo feeding* adalah ayam kampung yang telah mengalami perlakuan penyuntikan nutrisi ke dalam telur pada masa inkubasi.

Metode

Sampel darah dikoleksi dari 15 ekor ayam jenis kelamin campuran disetiap jenis ayam kampung. Pengambilan darah sebanyak 1 ml melalui *vena brachialis* dilakukan pada tiap ekor ayam yang ditampung pada tabung *vacutainer* yang telah berisi antikoagulan heparin untuk mencegah penggumpalan darah. Sampel darah diekstraksi DNA secara modifikasi dan selanjutnya dilakukan teknik PCR.

Ekstraksi DNA modifikasi dilakukan dengan cara berikut, sebanyak 20 µl sampel darah ditambahkan 200 µl *buffer* GA dan 20 µl *proitenase* K (10 mg/ml), kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 56 °C selama 45 menit di dalam *waterbath shaker*. Setelah itu larutan yang telah diinkubasi ditambahkan 200 µl *buffer* GB dan divortex kemudian diinkubasi lagi pada suhu 70 °C selama 10 menit untuk menghasilkan larutan yang homogen. Setelah itu, larutan yang telah diinkubasi ditambahkan lagi 200 µl *Ethanol absolute* 96% dan divortex selama 15 detik dan disentrifugasi singkat.

Larutan dipindahkan ke Spin column CB3 dan disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 30 detik dan supernatannya dibuang. Selanjutnya, ditambahkan 500 µl *buffer* GD dan sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 30 detik dan supernatan yang terbentuk dibuang. Kemudian ditambahkan 600 µl *buffer* PW dan sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 30 detik dan buang supernatannya.

Tahapan selanjutnya sentrifugasi kering dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit dan mengganti *Spin Column* CB3 dengan *microcentrifugasi tube* ukuran 1,5 ml dan ditambahkan 200 µl *buffer* TE, kemudian inkubasi pada suhu ruangan (15-25 °C) selama 2-5 menit. Selanjutnya sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm. Pengecekan kualitas DNA hasil ekstraksi dilakukan dengan *elektroforesis* pada *gel agarose* 1,5% dengan *buffer* 1 × TBE (89 mM Tris, 89 mM asam borat, 2 mM Na2EDTA) yang mengandung 100 mg/ml *ethidium bromide* lalu divisualisasi pada UV *transiluminator* (*gel documentation system*).

Teknik PCR yang dilakukan mengacu pada Zhou et al. (2017) dengan menggunakan *primer* CAST *forward* 5'-CCAAAAGTAGATGAACATTCT-3' dan *reverse* 5'-GCTTCTATTAATTCCTACT-3'. Sampel DNA sebanyak 45 yang didapat dari tiga jenis ayam kampung *disequencing* dengan menggunakan mesin sekuenser (ABI Prims 3100-Avant *Genetic Analyzer*) pada *fragmen primer forward* dan *reverse*. Hasil *sequencing* dirunutkan dan disejajarkan dengan runutan baku yang diperoleh dari GenBank dengan menggunakan aplikasi MEGA7.

Peubah yang Diamati

Frekuensi Genotipe

Frekuensi genotipe dihitung menggunakan persamaan seperti yang digunakan oleh Prastowo et al. (2021):

$$X_{ij} = \frac{n_{ii}}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

X_{ij} = Frekuensi genotip homozigot (ii)

X_{ij} = Frekuensi genotip heterozigot (ij)

n_{ii} = Jumlah individu bergenotipe ii

n_{ij} = Jumlah individu bergenotipe ij

N = Jumlah individu sampel

Frekuensi Alel

Frekuensi alel (X_i) dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Prastowo et al., 2021):

$$X_i = \frac{2n_{ii} + \sum n_{ij}}{2N}$$

Keterangan:

X_i = frekuensi alel i

n_{ii} = Jumlah individu yang mempunyai genotipe ii

n_{ij} = Jumlah individu yang mempunyai genotipe ij
 N = Jumlah sampel

Heterozigositas

Nilai *heterozigositas* dan keseimbangan Hardy-Weinberg ditentukan dengan menggunakan aplikasi PopGen32. Nilai heterozigositas dihitung sesuai persamaan Renwick *et al.* (2001):

$$H = \frac{n}{(n - 1)} \left(1 - \sum_{k=1}^k P_k^2 \right)$$

Keterangan:

H = *Heterozigositas*

n = Jumlah individu sampel

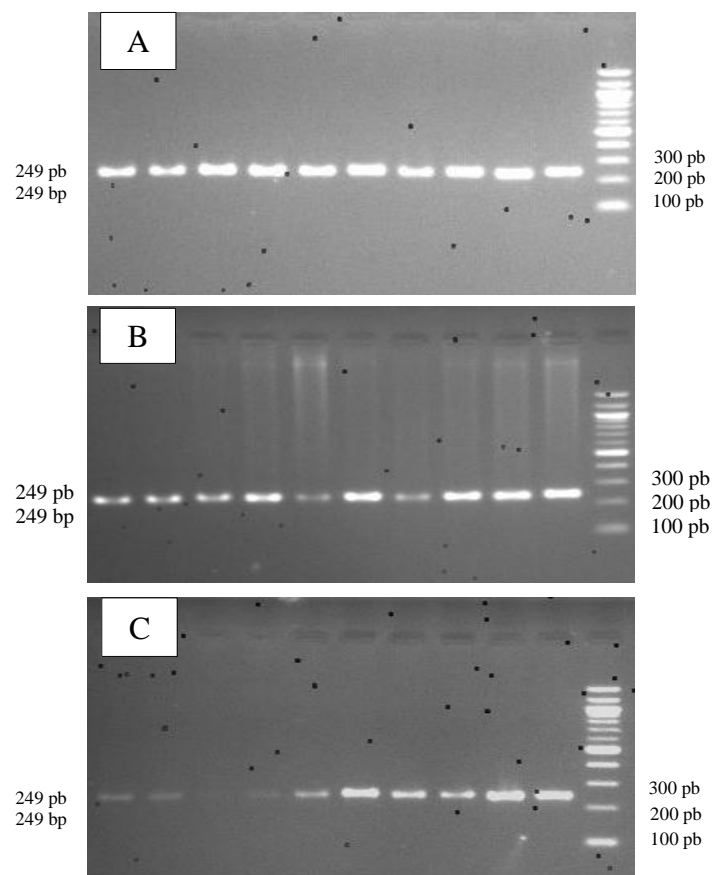
P_k = Frekuensi relatif alel ke- k

k = Jumlah alel yang diamati pada lokus

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi Gen CAST pada Ayam Kampung

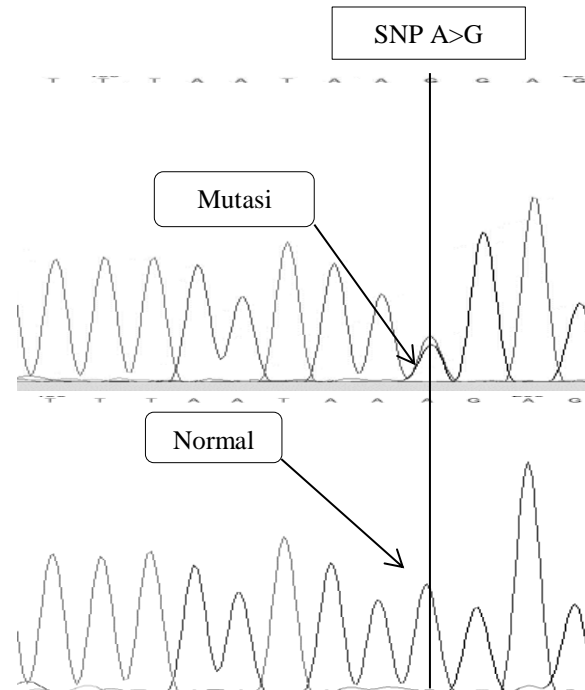
Hasil amplifikasi PCR gen CAST pada ayam KUB, ayam merawang dan ayam kampung *in ovo feeding* berhasil dilakukan dengan panjang produk 249 pasang basa (pb) dengan suhu annealing 48 °C pada daerah *intron* 11 (Gambar 1). Hasil yang didapatkan berbeda dengan penelitian Harahap *et al.* (2017) yang berhasil melakukan amplifikasi PCR gen CAST pada ayam lokal dengan panjang produk 482 pb pada suhu *annealing* 57 °C.



Gambar 1. Visualisasi hasil *amplifikasi* gen CAST menggunakan gel agarose 1,5% pada (A) ayam kampung *in ovo feeding*, (B) ayam KUB, (C) ayam Merawang

DNA Sequencing

Hasil analisis DNA *sequencing* diperoleh SNP A>G pada fragmen target gen CAST (Gambar 2) yang diperoleh memperlihatkan adanya perubahan SNP dari alel A ke alel G, ini menandakan adanya perubahan atau mutasi pada gen CAST ayam kampung KUB dan ayam kampung *in ovo feeding* pada *intron* 11. Jenis mutasi yang didapatkan pada gen CAST adalah jenis mutasi transisi yaitu adanya perubahan basa A menjadi basa G.



Gambar 2. Visualisasi penentuan SNP dengan metode DNA *sequencing*

Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) Gen CAST

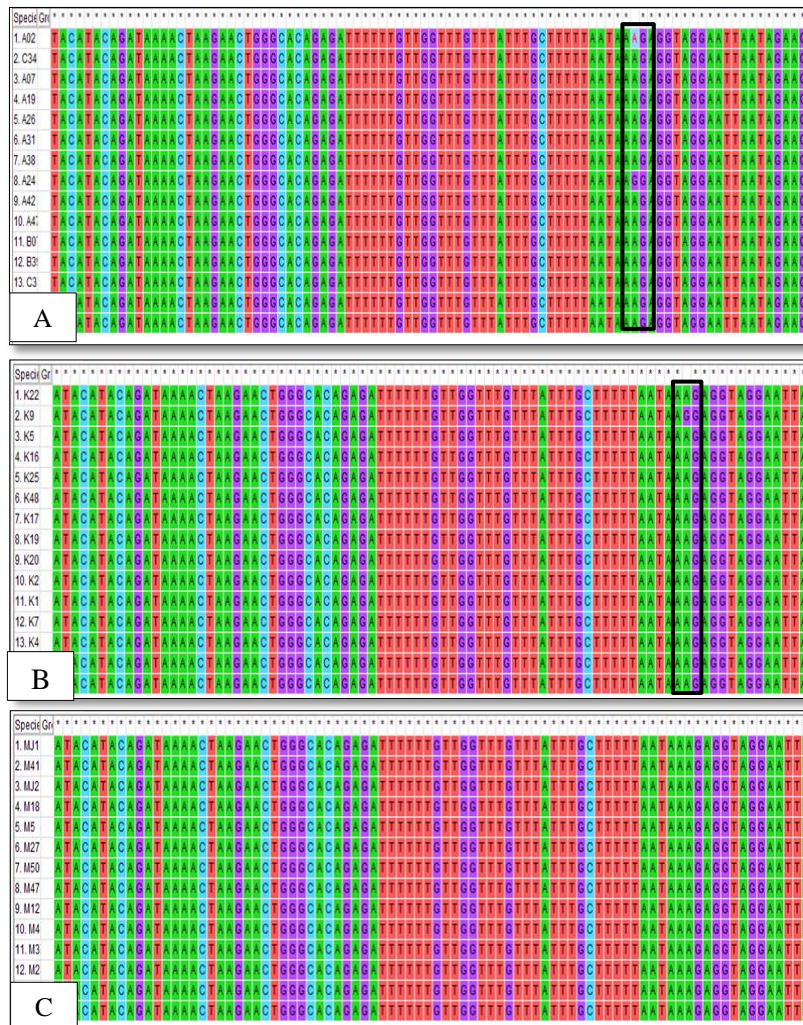
Hasil penelusuran dan pensejajaran hasil *sequens* gen CAST pada daerah fragmen target ditemukan 1 SNP di daerah *intron* 11 (Gambar 3). SNP tersebut ditemukan pada ayam KUB dan ayam kampung *in ovo feeding* tetapi tidak ditemukan pada ayam Merawang. Jumlah genotipe yang ditemukan ada dua yaitu AA dan AG.

Pada penelitian Zhou *et al.* (2017) menemukan adanya SNP gen CAST pada *intron* 11 posisi g.57042952G<A, exon 11 posisi g.37752A>T dan *intron* 11 posisi g.37868G>A. Sedangkan penelitian (Harahap *et al.*, 2017) menemukan 1 SNP gen CAST posisi g.42988G>T pada ayam Merawang. Menurut (Asaf *et al.*, 2014) perbedaan letak SNP memberikan pengaruh yang berbeda sehingga memberikan pengaruh secara langsung terhadap terjemahan protein. Pada posisi promotor berpengaruh terhadap ekspresi gen, sedangkan pada daerah *intron* berpengaruh pada proses *splicing*.

Frekuensi Genotipe Gen CAST

Frekuensi genotipe adalah persentase genotipe tertentu dalam suatu populasi. Nilai frekuensi genotipe menentukan keragaman gen CAST pada ayam (Tabel 1). Gen CAST ditemukan 2 genotipe yaitu AA dan AG. Hasil analisis frekuensi genotipe memperlihatkan bahwa genotipe yang dominan pada semua jenis ayam kampung adalah genotipe AA. Hasil yang didapatkan berbeda dengan hasil penelitian Harahap *et al.* (2017) yang menemukan genotipe dominan adalah GG. Adanya perbedaan disebabkan oleh perbedaan primer yang digunakan. Menurut Rezaei dan Hedayat (2013) perubahan frekuensi genotipe

menggambarkan adanya evolusi, berupa seleksi alam, penyimpangan genetik, mutasi, dan aliran gen yang bekerja pada kumpulan gen tertentu dari waktu ke waktu.



Gambar 3. SNP gen CAST pada (A) ayam in ovo feeding, (B) ayam KUB, dan (C) ayam Merawang

Tabel 1. Frekuensi genotipe gen CAST tiga jenis ayam kampung

Jenis Ayam Kampung	N (ekor)	Frekuensi Genotipe			
		AA	N (ekor)	AG	N (ekor)
KUB	15	0,93	14	0,07	1
Merawang	14	1,00	14	0,00	0
<i>In ovo feeding</i>	15	0,87	13	0,13	2

Frekuensi Alel Gen CAST

Gen CAST posisi ditemukan 2 alel yaitu alel A dan alel G (Tabel 2). Hasil analisis frekuensi alel memperlihatkan bahwa alel yang dominan pada ketiga jenis ayam kampung adalah alel A. Tingginya alel A pada semua jenis ayam kampung menjadikan nilai alel A sebagai patokan untuk penentuan sifat monomorfik dan polimorfik pada ketiga jenis ayam kampung.

Nilai frekuensi alel A menunjukkan bahwa ayam *in ovo feeding* bersifat polimorfik, sedangkan pada ayam KUB dan kampung Merawang bersifat monomorfik (Tabel 2). Nei dan Kumar (2000) menyatakan bahwa polimorfik terjadi karena adanya variasi alel yang muncul pada populasi dengan nilai yang dihasilkan kurang dari atau sama dengan nilai

0,95. Allendorf dan Luikart (2006) menyatakan bahwa suatu alel dikatakan monomorfik apabila memiliki nilai frekuensi salah satu alel mencapai 1,00.

Tabel 2. Frekuensi alel gen CAST tiga jenis ayam kampung

Jenis Ayam Kampung	N	Frekuensi Alel			
		A	N	G	N
KUB	30	0,97	29	0,03	1
Merawang	28	1,00	28	0,00	0
<i>In ovo feeding</i>	30	0,93	28	0,07	2

Frekuensi alel ayam kampung *in ovo feeding* yang bersifat polimorfik, mengindikasikan adanya perbedaan variasi alel ayam kampung *in ovo feeding* dengan jenis ayam kampung lainnya, sehingga dapat menjadi informasi penting untuk dilakukan seleksi yang berhubungan dengan gen CAST. Selain memiliki variasi alel yang berbeda, ayam kampung *in ovo feeding* juga memiliki daging dengan tingkat keempukan yang lebih baik dibanding ayam lokal dan ayam KUB (Saifullah et al., 2021).

Heterozigositas dan Keseimbangan Hardy-Weinberg pada Gen CAST

Hasil analisis frekuensi genotipe ketiga jenis ayam kampung (Tabel 1) menunjukkan bahwa hanya ayam kampung *in ovo feeding* yang memenuhi kriteria uji *heterozigositas* karena mempunyai dua genotipe heterozigot. Sedangkan ayam KUB dan ayam kampung Merawang tidak memenuhi kriteria. Hal ini disebabkan karena ayam KUB hanya memiliki 1 genotipe heterozigot dan ayam kampung Merawang tidak memiliki genotipe heterozigot sama sekali.

Tabel 3. Nilai Heterozigositas dan Hardy-Weinberg gen CAST pada ayam kampung *in ovo feeding*

Jenis Ayam Kampung	Ho	He	H Rata-Rata	X ²	F Tabel
<i>In ovo feeding</i>	0,1333	0,1287	0,1244	0,0370	3,481

Hasil analisis nilai *heterozigositas* pengamatan (Ho), *heterozigositas* harapan (He), dan keseimbangan *Hardy-Weinberg* gen CAST pada ayam kampung *in ovo feeding* (Tabel 3) menunjukkan bahwa ayam kampung *in ovo feeding* memiliki keragaman yang rendah karena nilai Ho dibawah 0,50. Allendorf dan Luikart (2006) mengatakan bahwa keragaman genetik tinggi jika memiliki nilai heterozigositas diatas 0,50. Nilai Ho dan He menjadi atribut acuan tingkat keragaman genetik dalam suatu populasi. Semakin tinggi nilai Ho maka semakin tinggi tingkat keragaman dalam populasi. Sebaliknya, semakin rendah nilai Ho maka semakin rendah pula tingkat keragaman dalam populasi.

Pengujian keseimbangan Hukum Herdy-Weinberg pada ayam kampung *in ovo feeding* dilakukan dengan menggunakan uji Chi-square. Nilai Chi-square pada ayam kampung *in ovo feeding* sebesar 0,0370 lebih kecil daripada nilai F Tabel 3,481, hal ini mengindikasikan bahwa pada populasi ayam kampung *in ovo feeding* berada dalam keseimbangan Hardy-Weinberg. Hal ini mengindikasikan bahwa populasi ayam kampung *in ovo feeding* memiliki frekuensi genotipe dan alel selalu konstan dan tidak ada perubahan dari satu generasi ke generasi selanjutnya. Populasi yang cukup besar tidak akan mengalami perubahan dari satu generasi ke generasi berikutnya apabila terjadi perkawinan secara acak (Allendorf dan Luikart, 2006).

KESIMPULAN

Gen CAST pada ayam kampung khususnya ayam KUB, ayam Merawang dan ayam kampung *in ovo feeding* memiliki dua genotipe yaitu genotipe AA dan AG serta memiliki frekuensi alel A yang tinggi dan alel G yang rendah. Ayam kampung *in ovo feeding* bersifat polimorfik, sedangkan ayam KUB dan ayam Merawang bersifat monomorfik. Ayam kampung *in ovo feeding* berada dalam keseimbangan Hukum Herdy-Weinberg.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada CV. Bittara Wanua yang telah memberikan fasilitas penelitian serta kepada program Prioritas Riset Nasional (PRN) Kemenristek/BRIN yang telah memberikan bantuan dana.

DAFTAR PUSTAKA

- Allendorf, F. W., & Luikart, G. H. (2006). *Conservation and Genetics of Populations*. Blackwell Publishing. Oxford, UK.
- Aryanti, F., Aji, M. B., & Budiono, N. (2013). Pengaruh Pemberian Air Gula Merah terhadap Performans Ayam Kampung Pedaging. *Jurnal Sain Veteriner*, 31(2), 156–165.
- Asaf, V. N. M., Kumar, A., Rahim, A., Sebastian, R., Mohan, V., Dewangan, P., & Panigrahi, M. (2014). An Overview on Single Nucleotide Polymorphism Studies in Mastitis Research. *Veterinary World*, 7(6), 416–421. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.416-421>
- Biswas, A. K., Tandon, S., & Beura, C. K. (2016). Identification of Different Domains of Calpain and Calpastatin from Chicken Blood and Their Role in Post-Mortem Aging of Meat during Holding at Refrigeration Temperatures. *Food Chemistry*, 200, 315–321.
- Harahap, A. S., Sumantri, C., Ulupi, N., Darwati, S., & Sartika, T. (2017). Identifikasi Keragaman Gen Calpastatin (CAST) pada Ayam Lokal Indonesia. *Jurnal Veteriner*, 18(2), 192. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2017.18.2.192>
- Iriyanti, N., Santosa, R. S. ., & Rachmawati, W. (2014). Blood Profile and Performance of Native Chicken with Functional feed. *International Journal of Poultry Science*, 13(11), 645–651.
- Nei, M., & Kumar, S. (2000). *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Prastowo, S., Herowati, N., Widyas, N., Pambuko, G., & Vanessa, R. (2021). Perubahan Frekuensi Alel Gen Growth Hormone pada Populasi Kambing Keturunan Boer dan Hubungannya dengan Ukuran Tubuh. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 21(1), 18–26.
- Renwick, A., Davison, L., Spratt, H., Patrick King, J., & Kimmel, M. (2001). DNA Dinucleotide Evolution in Humans: Fitting Theory to Facts. *Genetics*, 159, 737–747. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/genetics/159.2.737>
- Rezaei, N., & Hedayat, M. (2001). *Allele Frequency*. In *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition* (pp. 77–78). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00032-2>
- Saifullah, S. (2021). Keragaman Gen Calpastatin dan Hubungannya dengan Sifat Pertumbuhan, Kualitas Karkas, dan Kualitas Daging Tiga Jenis Ayam Kampung. *Tesis tidak dipublikasikan*. Makassar: Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
- Saifullah, S., Dagong, M. I. A., & Pakiding, W. (2021). Physical Meat Quality Comparison of Selected KUB Chicken, Original Kampung and Improved Kampung Chicken with In Ovo Feeding Technology. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 788(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/788/1/012126>

- Tamzil, M., Noor, R., Hardjosworo, P., Manalu, W., & Sumantri, C. (2014). Hematological Response of Chicken with Different Heat Shock Protein 70 Genotypes to Acute Heat Stress. *International Journal of Poultry Science*, 13(1), 14–20.
- Wakchaure, R., & Ganguly, S. (2015). Marker Assisted Selection (MAS) in Animal Breeding: A Review. *Journal of Drug Metabolism & Toxicology*, 06(05). <https://doi.org/10.4172/2157-7609.1000e127>
- Yuliati, S., Helmi, T. Z., Rinidar, R., Balqis, U., Erwin, E., & Rosmaidar, R. (2019). Kajian Molekuler Karakteristik Gen Calpastatin (CAST) pada Kambing Boerka (*Capra hircus*). *Jimvet*, 3(4), 206–216.
- Zhou, Y. G., Xiong, Y., Yang, C. W., Jiang, X. S., Ran, J. S., Jin, J., Wang, Y., Lan, D., Ren, P., Hu, Y. D., & Liu, Y. P. (2017). Experimental Verification of CAPN1 and CAST Gene Polymorphisms in Different Generations of Da-Heng Broilers. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/7968450>