

Gen Promotor Prolaktin sebagai Penanda Pembantu Seleksi untuk Mengontrol Sifat Mengeram pada Ayam Kampung

TIKE SARTIKA¹, D. DURYADI², S.S. MANSJOER³, A. SAEFUDDIN² dan H. MARTOJO³

¹Balai Penelitian Ternak, PO Box 221-Bogor 16002

²Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor

³Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

(Diterima dewan redaksi 28 Oktober 2004)

ABSTRACT

SARTIKA, T., D. DURYADI, S.S. MANSJOER, A. SAEFUDDIN and H. MARTOJO. 2004. Prolactin promoter gene as marker assisted selection (MAS) for the control of broodiness of Kampung chicken. *JITV* 9(4): 239-245.

Preliminary research about MAS (Marker Assisted Selection) was conducted to detect broodiness trait of Kampung chicken. MAS currently is very important in situations, where the accuracy of selection is low, such as, traits with low heritability, e.g. broodiness trait and egg production. Prolactin promoter was selected as a marker gene for broodiness because it plays a critical part in the neuroendocrine cascade which is triggered at the onset of broodiness. DNA samples were collected from low and high broodiness samples on basic population (G0) each 24 samples, and from selected population (G3) each 28 samples. As control population without broody behavior was used 16 samples White Leghorn (WL) chicken. Prolactin promoter gene was amplified using polymerase chain reaction (PCR). PCR product was analyzed using electrophoresis agarose gel 2%. The results showed four types of bands represent in the Kampung chicken, three types called as wild type band and one type as the WL band. The chickens with low and high broodiness on G0 generation have 75 and 87.5% of wild type band while in the G3 generation was decreased to 25 and 75%. Conclusions of the research indicated that the selected breed of the Kampung chicken on G3 generation increased WL band like White Leghorn chicken as much as 31,25% from the G0 generation.

Key words: Kampung chicken, prolactin promoter, MAS

ABSTRAK

SARTIKA, T., D. DURYADI, S.S. MANSJOER, A. SAEFUDDIN dan H. MARTOJO. 2004. Gen promotor prolaktin sebagai penanda pembantu seleksi untuk mengontrol sifat mengeram pada ayam Kampung. *JITV* 9(4): 239-245.

Penelitian pendahuluan MAS (*Marker Assisted Selection*) telah dilakukan untuk mendeteksi sifat mengeram pada ayam Kampung. MAS akhir-akhir ini sangat penting digunakan untuk membantu ketepatan seleksi terutama pada sifat dengan nilai heritabilitas rendah seperti sifat mengeram dan produksi telur. Promotor prolaktin terseleksi sebagai kandidat gen untuk sifat mengeram karena memegang peranan penting pada fungsi saraf neuroendokrin yang merangsang terjadinya awal pengeraman. Sampel DNA diambil dari ayam Kampung dengan sifat mengeram rendah dan tinggi sebelum seleksi pada generasi G0 masing-masing sebanyak 24 sampel dan dari ayam Kampung setelah seleksi pada generasi G3 masing-masing sebanyak 28 sampel. Sebagai pembanding digunakan sebanyak 16 sampel ayam White Leghorn, yang tidak mempunyai sifat mengeram. Gen promotor prolaktin diamplifikasi dengan alat *polymerase chain reaction* (PCR). Hasil PCR dianalisa dengan melakukan elektroforesis *gel agarose* 2%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat empat pola pita promotor prolaktin pada ayam Kampung dan satu pola pita pada ayam White Leghorn, tiga pola pita sebagai tipe liar (tipe *W/wild*) dan satu pola pita sebagai tipe L (*Layer/White Leghorn*). Ayam Kampung yang mempunyai sifat mengeram rendah dan tinggi pada generasi G0 mempunyai pola pita tipe liar (tipe W) masing-masing sebanyak 75 dan 87,5%, sedangkan pada generasi G3 menurun menjadi masing-masing sebesar 25 dan 75%. Respon seleksi masing-masing sebesar 50 dan 12,5% untuk sifat mengeram rendah dan tinggi. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa ayam Kampung hasil seleksi pada generasi G3 mempunyai pola pita L meningkat sebanyak 31,25% dibandingkan dengan generasi G0.

Kata kunci: Ayam Kampung, promotor prolaktin, MAS

PENDAHULUAN

Saat ini produksi telur ayam Kampung pada masyarakat relatif rendah yang disebabkan mutu bibit yang kurang baik, sistem pemeliharaan dan pemberian pakan yang seadanya, serta mempunyai sifat mengeram. GOODALE *et al.* (1960) mengemukakan bahwa terdapat

korelasi negatif antara produksi telur dengan sifat mengeram, dengan nilai koefisien korelasi (r) = -0,56, sementara itu SAEKI (1957) mendapatkan nilai koefisien korelasi bervariasi sebesar -0,082 sampai dengan -0,587. Diketahui pula bahwa kemampuan ayam Kampung dalam menghasilkan telur per ekor induk selama periode tertentu sangat bervariasi, yang

disebabkan ayam Kampung mempunyai keragaman individu cukup tinggi (MANSJOER, 1989; SARTIKA *et al.*, 2004). Upaya memanfaatkan keragaman tersebut untuk perbaikan mutu genetik ayam Kampung melalui seleksi secara konvensional selama tiga generasi, telah mendapatkan respon seleksi positif dari yang semula sebesar 54,32 butir/ekor/6 bulan menjadi sebesar 89,10 butir/ekor/6 bulan (SARTIKA *et al.*, 2002).

Seiring berkembangnya IPTEK akhir-akhir ini, program seleksi (MAS/Marker Assisted Selection) dapat dipacu dengan melakukan teknik molekuler yang menggunakan material DNA. Penggunaan *marker* genetik kaitannya dengan MAS sangat berguna didalam ketepatan seleksi, serta peningkatan mutu genetik yang cepat dan akurat. MAS sangat berguna untuk seleksi pada sifat-sifat yang mempunyai nilai heritabilitas rendah, pada sifat-sifat yang mempunyai catatan terbatas (karena mahal biaya rekording), pada sifat-sifat yang diukur setelah ternak dipotong dan pada sifat-sifat resistensi penyakit (MEUWISSEN, 2003). Pada ternak ayam, sifat mengeram dan produksi telur mempunyai nilai heritabilitas rendah yaitu sebesar 0,1 untuk sifat mengeram yang dihitung berdasarkan *full-sib family* (SAEKI, 1957) dan 0,2 untuk sifat produksi telur *hen-house* (MARTOJO *et al.*, 1990). Sehingga seleksi pada ayam Kampung secara konvensional memerlukan waktu yang lama. Selain itu apabila seleksi dilakukan pada skala industri, pencatatan yang intensif setiap hari untuk menunjang program pemuliaan memerlukan biaya yang cukup mahal. Oleh karena itu untuk meningkatkan akurasi seleksi dan kecepatan peningkatan mutu genetik (*genetic gain*), seleksi berdasarkan MAS pada ayam Kampung dalam skala industri perlu dilakukan.

Adapun pemilihan *marker* genetik yang berhubungan dengan sifat yang diinginkan dapat diakses langsung melalui *website* yang tersedia. Saat ini pembuatan peta genetik pada ayam sangat berkembang. Berdasarkan data statistik ARKDB-CHICK (2004) genom ayam telah dipetakan sebanyak 2530 lokus dan 765 lokus dinyatakan sebagai gen. Promotor prolaktin (PRLP) telah terseleksi sebagai kandidat gen untuk sifat mengeram karena merupakan bagian penting fungsinya neuroendokrin yang menstimulir kejadian mengeram (SHARP, 1997). Mekanisme terjadinya mengeram diawali dari hasil akhir aktifitas hormon endokrin yang merupakan mediator untuk sekresi VIP (*Vasoactive Intestinal Polypeptide*). VIP merupakan 28 asam amino *neuropeptide* yang dihasilkan dari bagian utama hypothalamus dan mengaktifkan pengeluaran prolaktin dari bagian pituitary. Prolaktin menstimulir kebiasaan mengeram (*broody behavior*) dengan adanya aksi gen promotor prolaktin.

Posisi promotor dalam suatu gen prolaktin terletak pada bagian awal (*startpoint*) (LEWIN, 1997b) dan berfungsi mengaktifkan awal transkripsi dari ekspresi

gen yang merupakan sinyal bekerjanya hormon prolaktin (JABBOUR dan KELLY, 1997). Apabila terjadi mutasi pada promotor gen, maka gen prolaktin tidak akan bekerja yang mengakibatkan tidak terjadinya ekspresi mengeram. Gen prolaktin sangat menarik dipelajari sebagai *candidate gene*, karena merupakan major gen yang berperan pada keberhasilan mengeram (SHARP, 1999; DUNN *et al.*, 1998). Sifat mengeram banyak pula dipengaruhi oleh gen-gen lainnya diantaranya gen dominan autosomal (ROMANOV *et al.*, 1999; 2002) dan major gen *sex-linked* (SAEKI dan INOUE, 1979; APPLEBY *et al.*, 1992; DUNN *et al.*, 1998). Pemilihan promotor prolaktin untuk mendeteksi adanya mutasi atau tidak didasarkan pada metode yang paling sederhana, mudah pengerjaannya dan lebih murah dibandingkan metode lainnya. Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini dijajaki kemungkinan penggunaan *marker* genetik yang dapat membantu mempercepat seleksi (MAS/Marker Assisted Selection) dengan menggunakan *marker prolactin promotor*.

MATERI DAN METODE

Sebanyak 48 sampel darah diambil dari induk ayam Kampung generasi G0, yang terdiri atas 24 sampel darah dari kelompok induk ayam yang mempunyai sifat mengeram rendah (lama mengeram 0-<10 hari) dan 24 sampel dari induk ayam yang mempunyai sifat mengeram tinggi (>21-100 hari). Kemudian setelah dilakukan seleksi berdasarkan performan produksinya pada generasi G3, sampel darah diambil kembali sebanyak 56 sampel, masing-masing terdiri atas 28 sampel dari induk yang mempunyai sifat mengeram rendah dan 28 sampel dari induk yang mempunyai sifat mengeram tinggi. Sebagai kontrol digunakan pula sampel darah ayam White Leghorn yang tidak mempunyai sifat mengeram sebanyak 16 sampel. Total sebanyak 120 sampel digunakan dalam penelitian ini.

Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan SEPAGENE kit (*Sancko-Junyaku Co, Ltd, Tokyo, Japan*). Prosedurnya sebagai berikut: 30 μ l sampel darah ditambah larutan 1 (bufer tris) sebanyak 100 μ l diaduk perlahan, kemudian ditambah 100 μ l larutan 2 (guanidin tiosianat) diaduk sampai keluar seperti lendir. Larutan 3 (kloroform) sebanyak 700 μ l dan larutan 4 (Na-asetat) sebanyak 400 μ l ditambahkan pada larutan tersebut dan diaduk sampai merata, kemudian disentrifus. Supernatan dipindahkan pada *tube* baru, larutan 5 (bufer asetat) sebanyak 60 μ l dan 600 μ l 2-*propanol* ditambahkan, disentrifus. Supernatan dibuang, endapan dibersihkan dengan 1 ml *ethanol* 70%, disentrifus. Supernatan dibuang, endapan DNA dikeringkan dan ditambah larutan TE (Tris-HCL EDTA) sebanyak 100 μ l.

Konsentrasi DNA dihitung dengan menggunakan spektrofotometer otomatis *Gene Quant, template* DNA

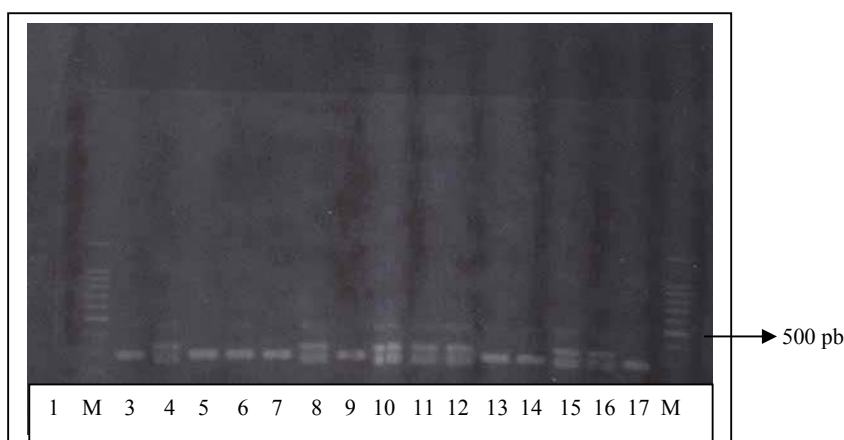
sebanyak 10 ng/μl disiapkan untuk dilakukan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yaitu fragmen DNA diamplifikasi dengan *marker* promotor prolaktin dengan *primer forward*: 5'-ATAACAATGGCCTGTCTTGC-3' dan *primer Reverse*: 5'-CCACTGATCCTCGAAAATC-3' (TAKAHASHI, 2003a). Dengan primer tersebut dapat menghasilkan fragmen DNA sebesar 254 pb.

Untuk menghasilkan fragmen DNA promotor prolaktin tersebut dibuat larutan campuran yang terdiri atas 10x *buffer*, 2 mM dNTP, 25 mM MgSO₄, primer promotor prolaktin (*forward* dan *reverse primer*, 200 pmol/μl), enzim polimerase KOD plus dan air. Amplifikasi dilakukan dengan alat termosiklus Gene Amp, PCR sistem 9700, PE *Applied Biosystems*. Kondisi PCR diprogram yaitu denaturasi pada 94°C selama 1 menit 15 detik, penempelan (*annealing*) dibuat 3 tipe: 10 siklus (15 detik pada 94°C, 30 detik pada 60°C, 1 menit pada 68°C), 10 siklus (15 detik pada 94°C, 30 detik pada 55°C, 1 menit pada 68°C) dan 10 siklus (15 detik pada 94°C, 30 detik pada 50°C, 1 menit pada 68°C) dan elongasi selama 9 menit pada 68°C. Setelah siklus berakhir diteruskan dengan temperatur penyimpanan pada 4°C. Hasil amplifikasi fragmen DNA promotor prolaktin dideteksi dengan mensegregasikan pola pita promotor prolaktin dengan sistem elektroforesis pada *gel agarose* 2% yang diwarnai dengan *ethidium bromide* dan dilihat dengan alat Ultra Violet. Kemudian dilakukan dokumentasi dengan memotret hasil elektroforesis tersebut dengan kamera.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian dari produk PCR promotor prolaktin pada ayam Kampung hasil elektroforesis, menunjukkan terdapat tiga pola pita promotor prolaktin yang disebut sebagai tipe liar (*wild /W type*) dan satu alel tipe L (*layer*). Tipe W merupakan genotipe alel normal dan tipe L merupakan alel mutan (LEWIN, 1997a). Pada ayam Kampung terdapat tiga alel tipe liar yaitu tipe W homosisgot, tipe W heterosisgot, tipe W *unidentified* dan satu alel tipe L homosisgot (*Layer/White Leghorn*) seperti tertera pada Gambar 1.

Untuk ayam White Leghorn hanya terdapat satu pola pita alel tipe L homosisgot (*Layer/White Leghorn*) seperti tertera pada Gambar 2. Pola pita tipe L ini digunakan sebagai standar untuk tipe ayam tidak mengeram dan merupakan promotor prolaktin yang diinginkan, karena merupakan penciri dari ayam White Leghorn dengan karakter tidak mengeram dan mempunyai produksi telur tinggi. Tipe W (*wild*) pada ayam Kampung bervariasi, menunjukkan adanya polimorfik yang disebabkan tingginya ragam genetik pada ayam Kampung seperti halnya dikemukakan SARTIKA *et al.* (2004). Tipe W pada ayam Kampung merupakan penciri adanya sifat mengeram (TAKAHASHI, 2003b). Hal tersebut diketahui dengan membandingkan pola-pola pita W dengan ayam Nagoya yang juga mempunyai sifat mengeram. HALLEY dan VISSCHER (2000) mengemukakan bahwa untuk mempelajari kandidat gen yang berhubungan dengan sifat tertentu, gen tersebut harus polimorfik. Dalam hal ini promotor prolaktin yang merupakan aktivator gen prolaktin, mempunyai alel-alel polimorfik dengan empat pola pita alel yang berbeda. Adanya tipe W



Keterangan: Pola pita tipe W *unidentified*: 1
 Pola pita tipe W homosisgot: 5,6,7,9
 Pola pita tipe W heterosisgot: 4,8,10,11,12,15,16
 Pola pita tipe L (White Leghorn) homosisgot: 3,13,14,17
 M = *Marker* DNA 100 pb

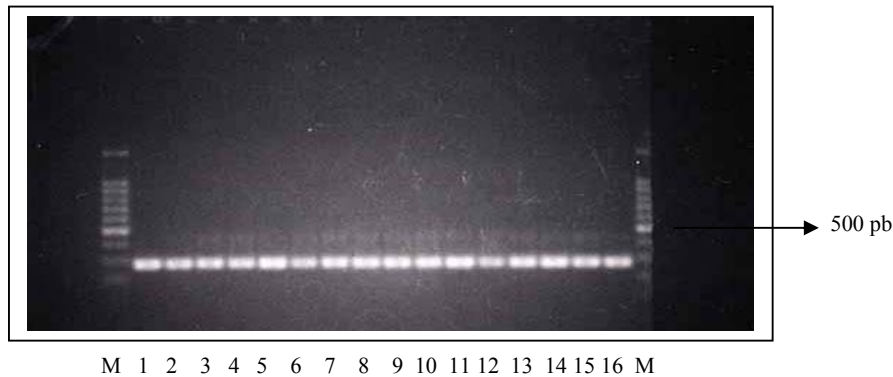
Gambar 1. Pola pita promotor prolaktin pada ayam kampung

unidentified juga didefinisikan sebagai alel tipe liar karena diasumsikan bahwa tidak terdapatnya pola pita prolaktin promotor bukan berarti tidak terdapatnya *template* DNA, tetapi sangat dimungkinkan karena adanya mutasi insersi atau delesi basa nukleotida pada promotor prolaktin. Hal tersebut menyebabkan fragmen DNA sebesar 254 pb tidak teramplifikasi. Hal ini dapat diketahui dari penggunaan sampel tersebut dengan primer mikrosatelit, semua sampel dengan pola pita W *unidentified* dapat diamplifikasi dengan baik (SARTIKA *et al.*, 2004).

Gambar 3. merupakan contoh hasil elektroforesis pola pita promotor prolaktin pada ayam Kampung yang

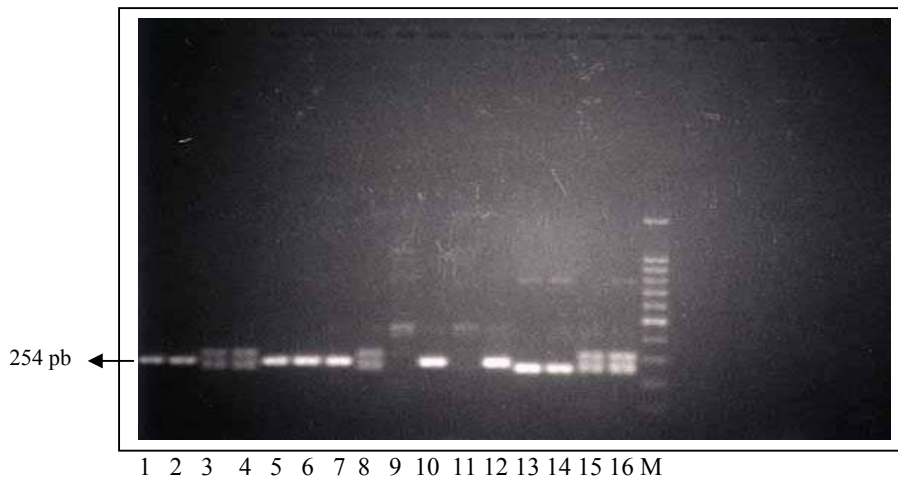
mempunyai sifat mengeram tinggi pada generasi G3. Terlihat bahwa tipe W yang mencirikan sifat mengeram mempunyai jumlah alel yang lebih banyak dibandingkan dengan tipe L.

Hasil elektroforesis promotor prolaktin pada generasi G0 dan G3 diidentifikasi dan disajikan pada Tabel 1. Pada generasi G0 sebelum seleksi dilakukan, terlihat bahwa jumlah pola pita promotor prolaktin tipe liar (Tipe W/*wild*) menunjukkan jumlah yang sangat tinggi baik pada lama mengeram rendah maupun tinggi, yaitu masing-masing sebesar 75 dan 87,5%. Untuk pola pita promotor prolaktin tipe L (*layer*/White Leghorn) pada generasi G0 menunjukkan jumlah yang



Keterangan : Pola pita tipe L homosigot, 1-16
M = *Marker* DNA 100 pb

Gambar 2. Pola pita promotor prolaktin ayam White Leghorn



Keterangan : Tipe W homosigot: 1,2,5,6,7,10,12
Tipe W heterosigot: 3,4,8,15,16
Tipe W *unidentified*: 9,11
Tipe L homosigot: 13,14
M = *Marker* DNA 100 pb

Gambar 3. Pola pita promotor prolaktin ayam kampung G3 mengeram tinggi

Tabel 1. Jumlah pola pita promotor prolaktin pada ayam Kampung sebelum seleksi (G0) dan sesudah seleksi (G3)

Sifat	Pola pita	Generasi		Respon seleksi
		G0	G3	
Mengeram rendah	Tipe W <i>unidentified</i> (a)	7	0	
	Tipe W homosigot (b)	10	5	
	Tipe W heterosigot (c)	1	2	
	Jumlah Tipe W	18 (75%)	7 (25%)	-50%
	Tipe L (d)	6 (25%)	21 (75%)	+50%
Mengeram tinggi	Tipe W <i>unidentified</i> (a)	4	4	
	Tipe W homosigot (b)	10	10	
	Tipe W heterosigot (c)	7	7	
	Jumlah tipe W	21 (87,5%)	21 (75%)	-12,5%
	Tipe L (d)	3 (12,5%)	7 (25%)	+12,5%
Total	Tipe W <i>unidentified</i> (a)	11	4	
	Tipe W homosigot (b)	20	15	
	Tipe W heterosigot (c)	8	9	
	Jumlah tipe W	39 (81,25%)	28 (50%)	-31,25%
	Tipe L (d)	9 (18,75%)	28 (50%)	+31,25%

- a. tipe liar (W/wild) *unidentified*, tidak teramplifikasi
- b. tipe liar (W/wild) homosigot, mempunyai satu pita
- c. tipe liar (W/wild) heterosigot, mempunyai dua pita
- d. tipe layer (L) homosigot, mempunyai satu pita

Tabel 2. Rataan lama mengeram dan produksi telur ayam Kampung dari jumlah sampel yang dianalisa pada generasi G0 dan G3

Pengamatan	Mengeram rendah		Mengeram tinggi	
	Generasi		Generasi	
	G0 (n = 24)	G3 (n = 28)	G0 (n = 24)	G3 (n = 28)
Lama mengeram (hari)	4,58 ± 6,33	3,89 ± 4,42	31,67 ± 13,96	31,68 ± 16,80
Produksi telur/induk/6 bulan (butir)	87,17 ± 17,85	118,86 ± 21,84	44,04 ± 13,83	74,39 ± 17,05

masih relatif rendah yaitu hanya sebesar 25 dan 12,5% masing-masing untuk lama mengeram rendah dan tinggi. Tipe W menunjukkan pola pita promotor prolaktin ayam Kampung mengeram, sedangkan tipe L menunjukkan ayam tidak mengeram dengan produksi telur tinggi.

Pada penelitian ini dilakukan pembagian sampel mengeram tinggi (lama mengeram >21-100 hari) dan mengeram rendah (lama mengeram 0-<10 hari). Hal tersebut untuk mengetahui karakter pola pita promotor prolaktin yang diperoleh dan hubungannya dengan lama mengeram. Telah diketahui bahwa lama mengeram berkorelasi negatif dengan produksi telur. Sebagaimana dikemukakan GOODALE *et al.* (1960) bahwa koefisien korelasi antara sifat mengeram dengan produksi telur sebesar -0,56. Demikian halnya SAEKI (1957)

mendapatkan nilai koefisien korelasi bervariasi sebesar -0,082 sampai dengan -0,587 pada silangan ayam Nagoya dengan White Leghorn, sedangkan pada ayam Nagoya diperoleh sebesar -0,245. SARTIKA *et al.* (2002) mendapatkan koefisien korelasi antara lama mengeram dengan produksi telur pada generasi G0 sebesar -0,31 dan pada generasi G3 sebesar -0,55. Rataan lama mengeram dan produksi telur dari sampel yang dilakukan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 2. Terlihat bahwa pada generasi G0 maupun G3 apabila lama mengeram rendah, produksi telur yang dihasilkan tinggi. Begitu pula sebaliknya apabila lama mengeram tinggi, produksi telur yang dihasilkan rendah. Terjadi peningkatan produksi telur pada generasi G3 yang merupakan adanya respon seleksi positif.

Setelah dilakukan seleksi selama tiga generasi terlihat adanya peningkatan pola pita promotor prolaktin tipe L pada generasi G3 sebesar 50 dan 12,5% untuk ayam dengan sifat mengeram rendah dan tinggi yang bersamaan dengan penurunan tipe W sebesar 50 dan 12,5% (Tabel 1).

Peningkatan tipe L tersebut dikarenakan adanya seleksi secara konvensional yang dapat merubah frekuensi alel tipe L yang diinginkan menjadi lebih banyak (FALCONER dan MACKAY, 1996). Peranan *marker* genetik dalam penelitian ini digunakan sebagai penajakan untuk mengetahui genotipe ayam Kampung mengeram. Diketahui bahwa promotor prolaktin berfungsi mengaktifkan awal transkripsi dari ekspresi gen yang merupakan sinyal bekerjanya hormon prolaktin (JABBOUR dan KELLY, 1997). Maka apabila terjadi mutasi pada promotor gen, ekspresi dari gen prolaktin yang menyebabkan timbulnya sifat mengeram tidak akan bekerja. Hal tersebut terjadi pada ayam White Leghorn yang semua tipe promotor prolaktinnya merupakan alel mutan. Sehingga pada ayam White Leghorn merupakan ayam tipe layer dengan tidak mempunyai sifat mengeram.

Untuk ayam Kampung mengeram rendah dan tinggi, pola pita promotor prolaktin tipe L pada generasi G3 masing-masing sebesar 75 dan 25%. Hal tersebut seiring dengan peningkatan produksi telur pada generasi G3 dari yang semula sebesar 54,32 butir/6 bulan menjadi sebesar 89,10 butir/6 bulan (SARTIKA *et al.*, 2002). Dari total sampel terjadi kemajuan seleksi yang ditunjukkan oleh meningkatnya pola pita promotor prolaktin tipe L sebesar 31,25% selama tiga generasi seleksi, walaupun sebetulnya seleksi yang dilakukan masih berdasarkan seleksi konvensional. Apabila seleksi dilakukan dengan *marker* genetik ada kemungkinan respon seleksi akan semakin cepat dan akurat.

KESIMPULAN

Gen promotor prolaktin dapat digunakan sebagai gen kandidat untuk sifat mengeram dan dapat digunakan sebagai *marker* genetik untuk mempercepat seleksi (MAS/*Marker Assisted Selection*). Hasil seleksi konvensional selama tiga generasi menunjukkan bahwa terdapat peningkatan pola pita gen promotor prolaktin tipe L (*layer*) sebanyak 31,25% dibandingkan dengan populasi ayam Kampung sebelum seleksi (G0).

Disarankan sebaiknya penelitian ini dilanjutkan dengan melakukan seleksi berdasarkan *marker* gen promotor prolaktin, agar *genetic gain* yang diperoleh lebih cepat dan akurat. Diperlukan pengembangan studi *marker* gen promotor prolaktin dengan sekuensing agar mutasi gen dapat dipelajari dengan jelas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Dr. Hideaki Takahashi dan Dr. Mitsuru Minezawa yang telah merancang primer dan mengizinkan penulis melakukan penelitian di Laboratorium *Animal Genetic Resources Genebank, National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS)*, Tsukuba-Ibaraki, Japan.

DAFTAR PUSTAKA

- APPLEBY M.C., B.O. HUGHES and H.A. ELSON. 1992. Poultry Production Systems Behaviour, Management and Welfare. Agriculture Development and Advisory Service, Nottingham, UK. pp. 171-173.
- ARKDB-CHICK, 2004. Database statistics section of the chicken genome. Roslin Bioinformatics Group. <http://www.thearkdb.org/> [13 September 2004].
- DUNN, I.C., G. MCEWAN, T. OHKUBO, P.J. SHARP, I.R. PATON and D.W. BURT. 1998. Genetic mapping of the chicken prolactin receptor gene: a candidate gene for the control of broodiness. *Brit. Poult. Sci.* Dec 39; suppl S23-S24.
- FALCONER, D.S. dan T.F.C. MACKAY. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. Longman, England.
- GOODALE, H.D., F.A. HAYS, R. SAMBORN and CARD. 1960. Broodiness. *In: Poultry Breeding*. Bulletin No. 146. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London.
- HALLEY, C dan P. VISSCHER. 2000. DNA marker and genetic testing in farm animal improvement: Current applications and future prospects. *In: Depth Review, Reader in the Institute of Cell, Animal and Population Biology at the Univ. of Edinburgh*. www.ri.bbsrc.ac.uk [13 September 2004].
- JABBOUR, H.N and P.A. KELLY. 1997. Prolactin receptor subtypes: a possible mode of tissue specific regulation of prolactin function. *J. Reprod. Fertil.* 2: 14-18.
- LEWIN, B. 1997a. Genes are mutable units. *In: Genes VI*. Oxford University Press, Inc, New York. pp. 51-70.
- LEWIN, B. 1997b. Transcription is catalyzed by RNA polymerase. *In: Genes VI*. Oxford University Press, Inc, New York. pp. 289-334.
- MANSJOER, S.S. 1989. Pengembangan ayam lokal di Indonesia. Disampaikan pada Seminar Peran Unggas Lokal di Indonesia, Lustrum V, Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro. Semarang, 28 September 1989.
- MARTOJO, H., P.H. HUTABARAT dan S.S. MANSJOER. 1990. Ilmu Pemuliaan Unggas. Diktat. PAU Bioteknologi, IPB. Bogor.
- MEUWISSEN, T. 2003. Genomic Selection: The future of marker assisted selection and animal breeding. Electronic forum on biotechnology in food and agriculture. MAS: a fast track to increase genetic gain in plant and animal breeding, Session II: MAS in animals.

- FAO, Conference 10. <http://www.fao.org/biotech/Torino.htm> [26 Juli 2004].
- ROMANOV, M.N., R.T. TALBOT, P.W. WILSON and P.J. SHARP. 1999. Inheritance of broodiness in the domestic fowl. *Brit. Poult. Sci.* 40. suppl. S20-S21.
- ROMANOV, M.N., R.T. TALBOT, P.W. WILSON and P.J. SHARP. 2002. Genetic control of incubation behavior in the domestic hen. *Poult. Sci.* 81: 928-931.
- SAEKI, Y dan Y. INOUE. 1979. Body growth, egg production, broodiness, age at first egg and egg size in Red Jungle Fowls, and an attempt at their genetic analyses by the reciprocal crossing with White Leghorn. *Japan Poult. Sci.* 16: 121-125.
- SAEKI, Y. 1957. Inheritance of broodiness in Japanese Nagoya fowl, with special reference to sex linkage and notice in breeding practice. *Poult. Sci.* 36: 378-383.
- SARTIKA, T., B. GUNAWAN, RAZALI dan P. MAHYUDDIN. 2002. Seleksi generasi ketiga (G3) untuk mengurangi sifat mengeram dan meningkatkan produksi telur ayam Kampung. Laporan hasil penelitian Balitnak. T.A. 2001, No Kegiatan: UAT/BRE/F01/APBN/2001.
- SARTIKA, T., S. ISKANDAR, L.H. PRASETYO, H. TAKAHASHI dan M. MITSURU. 2004. Kekerabatan genetik ayam Kampung, Pelung, Sentul dan Kedu Hitam dengan menggunakan penanda DNA mikrosatelit: I. Grup pemetaan pada makro kromosom. *JITV* 9: 81-86.
- SHARP, P.J. 1997. Neurobiology of the onset of incubation behaviour in birds. *Frontier in environmental and metabolic endocrinology* S.K. MAITRA (Ed.). The University of Burdwan, India. pp. 193-202.
- SHARP, P.J. 1999. Regulation of avian prolactin secretion. *Proc. of the 19th Conference for European Comparative Endocrinologists*, Department of Animal Physiology Nijmegen Institute for Neurosciences, Univ. of Nijmegen. pp. 121-125.
- TAKAHASHI, H. 2003a. Design primer prolaktin promoter. Premier Biosoft International, www.PremierBiosoft.com [1 Desember 2003].
- TAKAHASHI, H. 2003b. Personal komunikasi mengenai penentuan tipe-tipe alel promotor prolaktin.