

## Polimorfisme Protein Darah Ayam Kedu Jengger Merah dan Jengger Hitam di Satuan Kerja Non Ruminansia Temanggung

*(Polymorphism Blood Protein of Red Comb and Black Comb Kedu Chickens at Satuan Kerja Non Ruminansia Temanggung)*

**Bagus Praditya Setyo Nugroho, Sutopo, Edy Kurnianto**

JL. Kompl. drh. R. Soejono Koesoemowardojo, Tembalang  
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang  
email: bagus.praditya48@gmail.com

Diterima: 30 April 2016/ Disetujui: 27 Mei 2016

### ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the blood protein diversity first generation of Kedu chickens ( $G_0$ ) at Satuan Kerja Non Ruminansia Maron, Temanggung. The materials used in this study were each of 14 red and black comb Kedu chickens. The methods of this study were observational and electrophoresis PAGE (*Polyacrylamid Gel Electrophoresis*). The observed parameters were loci of pre albumin (*Palb*), albumin (*Alb*), ceruloplasmin (*Cp*), transferrin (*Tf*), post transferrin (*Ptf*) and amylase-I (*Amy-I*). Gene structures were observed to characterize genetic diversity. Characterization of genetic diversity based on individual heterozygosity, mean heterozygosity and chi-square values for testing Hardy Weinberg equilibrium for each observed loci. The results showed that red comb Kedu chickens had the highest gene frequencies of pre albumin, ceruloplasmin, transferrin, post transferrin and amylase-I those were 0,714; 0,714; 0,643; 0,643 and 0,536 respectively. The highest individual heterozygosity of red comb Kedu chickens found in amylase-I (0,497) and also post transferrin (0,500), and amylase-I (0,500) for black comb Kedu chickens. The highest mean heterozygosity was found in black comb Kedu chickens (0,458). The chi-square calculation showed that the whole loci were at Hardy Weinberg equilibrium except pre albumin at red comb Kedu chickens.

**Key-words:** Kedu chicken, electrophoresis, blood protein

### PENDAHULUAN

Pembibitan ternak merupakan salah satu aspek yang cukup penting untuk mendapatkan keturunan yang baik. Masih sedikit orang yang membudidayakan ayam Kedu, apa lagi membibitkannya. Telah diketahui bahwa Ayam Kedu merupakan unggas lokal yang memiliki potensi untuk dikembangkan. Apabila dibudidayakan untuk menghasilkan bibit yang baik maka akan tercipta ayam Kedu dengan potensi dan harga yang lebih tinggi

Ayam Kedu memiliki variasi warna bulu yang dibedakan menjadi tiga yaitu ayam Kedu Hitam, Kedu Putih, dan Kedu Lurik. Ketiga ayam Kedu tersebut dapat juga dibedakan melalui warna jenggerinya yaitu ayam Kedu jengger merah dan ayam Kedu jengger hitam. Selain variasi warna dan

jengger, ayam Kedu dapat diketahui dari ciri-cirinya melalui bulu, kulit, dan daging. Penelitian ayam Kedu mengenai sifat kualitatif dan kuantitatif telah banyak dilakukan diantaranya oleh Wulandari *et al.* (2008), dan Johari *et al.* (2010), namun masih sedikit peneliti yang meneliti secara molecular. Berdasarkan alasan tersebut diatas maka untuk mengetahui keragaman protein darah ayam Kedu jengger merah dan jengger hitam generasi awal ( $G_0$ ) perlu dilakukan.

### METODE PENELITIAN

#### Materi penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 14 ekor ayam Kedu jengger merah dan 14 ekor ayam Kedu jengger hitam  $G_0$ , masing-masing 7

ekor jantan dan 7 ekor betina. Ayam-ayam tersebut dipelihara di Satuan Kerja Non Ruminansia Maron, Temanggung, Jawa Tengah.

**Prosedur penelitian**

Sebanyak 14 ekor Ayam Kedu jengger hitam Go (7 ekor jantan dan 7 ekor betina) dan 14 ekor ayam Kedu jengger merah Go (masing 7 ekor jantan dan 7 ekor betina) diambil darahnya 1,5 mL melalui *vena brachialis* dengan menggunakan spuit. Sampel darah lalu dianalisis di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada. Sampel disentrifuse dan plasma darahnya dimasukkan ke minitube. Analisis gel elektroforesis dikerjakan berdasarkan Johari *et al.* 2008 dengan modifikasi. Bahan- bahan disiapkan seperti gradient gel 12,5%, stacking gel 3%, dan elektroda buffer. Gel yang telah siap diletakkan di kotak elektroforesis secara horizontal. Sampel diambil 10 µL lalu diencerkan sebanyak 10 kali dengan cara diberi aquades 90 µL ditambahkan sampel buffer 25 µL digojok hingga merata. Sampel yang telah siap lalu dicelupkan ke dalam air panas 2,5-3 menit, kemudian didinginkan. Sampel yang telah dingin dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 20 µL. Proses elektroforesis dilanjutkan dengan memberi catu daya sebesar 100volt/jam selama 2 jam. Setelah gel berwarna biru berjarak 2 cm dari ujung bawah sumuran maka proses elektroforesis dihentikan. Gel diletakkan didalam wadah dan diberi Coomassie blue 0,1 % untuk proses pewarnaan selama 1 jam dengan cara digojok.

**Analisis data**

Lokus-lokus dari hasil elektroforesis diamati dan dicatat. Frekuensi gen masing-masing lokus pre-albumin, albumin, ceruloplasmin, transferrin, post-transferin, dan amylase-I dihitung dengan menggunakan rumus Warwick *et al.* (1990), yaitu :

$$F_{An} = \frac{\sum \text{Lokus } A_n}{\sum \text{Lokus } A_1 + \sum \text{Lokus } A_2 + \dots + \sum \text{Lokus } A_n}$$

Keterangan:  $F_{An}$  = frekuensi gen A pada lokus ke-n

Ragam genetik dihitung menggunakan rumus heterozigositas individual (h) dan rataaan heterozigositas ( $\bar{H}$ ) menurut Nei (1987), yaitu:

$$h = 1 - \sum q_i^2$$

$$\bar{H} = \frac{\sum h}{r}$$

Keterangan:  $q_i$  = frekuensi gen ke-I, h= heterozigositas, r = jumlah lokus yang diamati,  $\bar{H}$  = rataaan heterozigositas

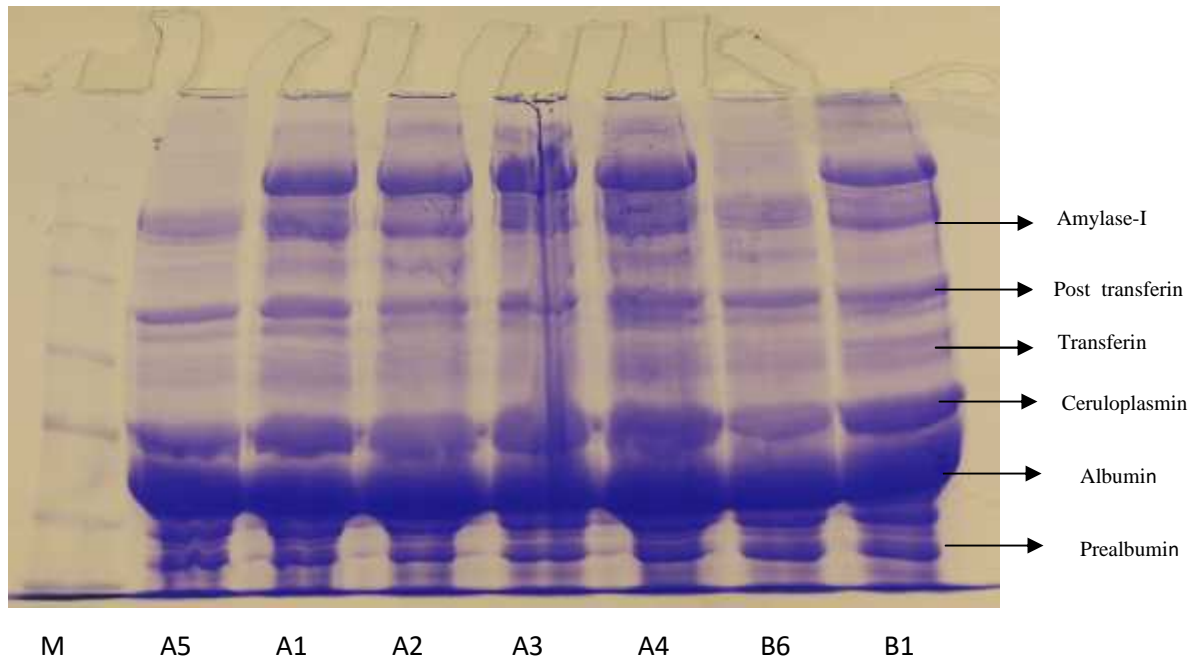
Pengujian data observasi dan nilai estimasi genotip dilakukan dengan menggunakan rumus chi square menurut Sugiyono (2003), yaitu:

$$X^2 \text{ hit} = \sum \frac{(\text{Obs}-\text{Exp})^2}{\text{Exp}}$$

Keterangan:  
 $X^2 \text{ hit}$  = chi square  
 Obs = Frekuensi Observasi  
 Exp = Frekuensi Ekspektasi (Frekuensi yang diharapkan)

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil elektroforesis pada ayam Kedu ditunjukkan pada Gambar 1. Menurut hasil analisis elektroforesis didapatkan gel yang memiliki muatan protein. Diketahui bahwa sebagai penentu muatan protein atau nama protein yang diamati digunakan acuan dengan marker. Dapat dilihat bahwa protein yang paling bawah disebut dengan pre albumin. Pita yang paling tebal disebut dengan albumin dan merupakan pita protein yang dapat dilihat dengan jelas karena ketebalannya.



Gambar1. Hasil elektroforesis darah ayam Kedu

Keterangan : M : Marker, A1 : Jengger merah (betina), A2 : Jengger merah (betina), A3: Jengger merah (betina), A4 : Jengger merah (betina), A5 : Jengger merah (jantan), B6 : Jengger hitam (jantan). B1: Jengger hitam (betina)

**Pre albumin**

Pada Tabel 1 ditunjukkan bahwa ayam Kedu jengger merah dan jengger hitam memiliki dua alel pada lokus pre albumin. Kedua alel tersebut yaitu *Palb<sup>A</sup>* dan *Palb<sup>B</sup>*. Hal ini sesuai dengan pendapat Wulandari (2008) yang menyatakan bahwa lokus pre albumin pada ayam Kedu memiliki dua alel yaitu *Palb<sup>A</sup>* dan *Palb<sup>B</sup>*. Pada lokus pre albumin terdapat tiga genotip yaitu *Palb<sup>AA</sup>*, *Palb<sup>AB</sup>*, dan *Palb<sup>BB</sup>*. Hasil ini sesuai dengan laporan Johari *et al.* (2008) bahwa di dalam lokus pre albumin pada ayam Kedu

terdapat 2 genotip yaitu homozigot *Palb<sup>AA</sup>* dan *Palb<sup>BB</sup>*, serta 1 genotip heterozigot *Palb<sup>AB</sup>*.

Frekuensi gen pada lokus pre albumin pada ayam Kedu jengger merah yang paling tinggi terdapat pada alel *Palb<sup>B</sup>* sedangkan pada jengger hitam yang tertinggi pada alel *Palb<sup>A</sup>*. Perbedaan nilai frekuensi gen dapat disebabkan oleh adanya mutasi dan seleksi. Noor (2000) menyatakan bahwa jumlah frekuensi genotip dapat berbeda apabila terjadi beberapa faktor diantaranya mutasi dan seleksi.

Tabel 1. Sebaran genotip dan frekuensi gen ayam Kedu jengger merah dan hitam lokus Pre-albumin

Warna jengger	Jumlah sampel	Genotip			Frekuensi gen	
		AA	AB	BB	A	B
Merah	14	4	0	10	0,286	0,714
Hitam	14	6	3	5	0,536	0,464

**Albumin**

Ayam Kedu jengger merah dan jengger hitam memiliki dua alel pada lokus albumin (Tabel 2), yaitu *Alb<sup>B</sup>* dan *Alb<sup>C</sup>*. Ismoyowati *et al.* (2008) menyatakan bahwa ayam Kedu memiliki dua alel yang mengontrol albumin yaitu *Alb<sup>B</sup>* dan *Alb<sup>C</sup>*. Menurut Johari *et al.* (2010) menyatakan bahwa

pada albumin juga terdapat tiga genotip yaitu *Alb<sup>BB</sup>*, *Alb<sup>BC</sup>* dan *Alb<sup>CC</sup>*. Hasvira (2008) menyatakan bahwa didalam plasma darah ayam Kedu terdapat lokus albumin dengan tiga genotip yaitu *Alb<sup>BB</sup>*, *Alb<sup>BC</sup>* dan *Alb<sup>CC</sup>*.

Frekuensi gen pada lokus albumin ayam Kedu jengger merah (0,750) yang paling tinggi terdapat

pada alel  $Alb^B$  dan pada ayam Kedu jengger hitam yang paling besar juga terdapat pada alel  $Alb^B$  (0,786). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian

Abubakar *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa pada lokus albumin ayam Kedu hitam nilai tertinggi terdapat pada alel  $Alb^B$ .

Tabel 2. Sebaran genotip dan frekuensi gen ayam Kedu jengger merah dan hitam lokus Albumin

Warna jengger	Jumlah sampel	Genotip			Frekuensi gen	
		BB	BC	CC	B	C
Merah	14	10	1	3	0,750	0,250
Hitam	14	8	6	0	0,786	0,214

**Ceruloplasmin**

Pada Tabel 3 ditunjukkan bahwa ayam Kedu jengger merah dan hitam memiliki dua alel pada lokus ceruloplasmin. Kedua alel tersebut adalah  $Cp^F$  dan  $Cp^S$ . Hal ini sesuai pendapat Abubakar *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa lokus ceruloplasmin pada ayam Kedu, ayam Lurik, dan ayam Lignan dikontrol oleh dua alel yaitu  $Cp^F$  dan  $Cp^S$ . Terdapat dua genotip homozigot pada ceruloplasmin yaitu  $Cp^{FF}$  dan  $Cp^{SS}$ . Genotip heterozigot yang terdapat

pada lokus ceruloplasmin adalah  $Cp^{FS}$ . Hasil frekuensi gen pada lokus ceruloplasmin yang diperoleh yaitu pada ayam Kedu jengger merah yang tertinggi pada alel  $Cp^S$  (0,714), sedangkan pada jengger hitam yang tertinggi juga terdapat pada alel  $Cp^S$  (0,679). Dinyatakan oleh Abubakar *et al.* (2014) yang menyebutkan bahwa pada lokus ceruloplasmin ayam Kedu frekuensi genotip yang tertinggi terdapat pada alel  $Cp^S$  (0.900).

Tabel 3. Sebaran genotip dan frekuensi gen ayam Kedu jengger merah dan hitam lokus Ceruloplasmin

Warna jengger	Jumlah sampel	Genotip			Frekuensi gen	
		FF	FS	SS	F	S
Merah	14	3	2	9	0,286	0,714
Hitam	14	1	7	6	0,321	0,679

**Transferin**

Ayam Kedu jengger merah dan hitam memiliki dua alel yaitu  $Tf^B$  dan  $Tf^C$  pada lokus transferin (Tabel 4). Hasil ini sama dengan hasil yang diperoleh oleh Johari *et al.* (2007) bahwa lokus transferin pada ayam Kedu memiliki dua alel yang mengontrolnya yaitu  $Tf^B$  dan  $Tf^C$ . Adapun tiga genotip yang mengontrol lokus transferin yaitu  $Tf^{BB}$ ,  $Tf^{BC}$ , dan  $Tf^{CC}$ . Penelitian Wulandari (2008) memperlihatkan bahwa pada ayam Kedu pada

transferin dikontrol oleh tiga genotip yaitu  $Tf^{BB}$ ,  $Tf^{BC}$  dan  $Tf^{CC}$ . Pada frekuensi gen ayam Kedu jengger merah dan hitam yang memperoleh hasil tertinggi adalah alel  $Tf^B$ . Hasil ini sesuai dengan penelitian Johari *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa frekuensi genotip pada lokus transferin yang paling tinggi terdapat pada alel  $Tf^B$ . Hasil ini tidak sesuai dengan hasil penelitian Abubakar *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa lokus transferin pada ayam Kedu memiliki nilai yang sama.

Tabel 4. Sebaran genotip dan frekuensi gen ayam Kedu jengger merah dan hitam lokus Transferin

Warna jengger	Jumlah sampel	Genotip			Frekuensi gen	
		BB	BC	CC	B	C
Merah	14	6	6	2	0,643	0,357
Hitam	14	6	5	3	0,607	0,393

**Post Transferin**

Ayam Kedu jengger merah dan hitam memiliki dua alel pada lokus post tranferin yaitu  $Ptf^F$  dan  $Ptf^S$  sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 5. Hal ini sesuai dengan pendapat Wulandari (2008) yang menyatakan bahwa pada lokus post tranferin ayam Kedu memiliki dua alel yaitu  $Ptf^F$  dan  $Ptf^S$ . Pada lokus post tranferin terdapat tiga genotip yaitu  $Ptf^{FF}$ ,  $Ptf^{FS}$ , dan  $Ptf^{SS}$ . Hasil frekuensi gen menunjukkan bahwa pada lokus post tranferin ayam Kedu jengger merah nilai paling tinggi terdapat pada  $Ptf^S$  sedangkan pada jengger hitam, menunjukkan nilai frekuensi alel  $Ptf^F$  dan  $Ptf^S$  sama. Hal ini sesuai dengan Abubakar *et al.* (2014) yang menunjukkan bahwa frekuensi gen tertinggi lokus post tranferin terdapat pada  $Ptf^S$ .

**Amylase-I**

Hasil pengamatan pita protein pada lokus amylase-I ayam Kedu jengger merah dan hitam disajikan pada Tabel 6. Ayam Kedu jengger merah dan hitam memiliki dua alel yaitu  $Amy-I^B$  dan  $Amy-I^C$ . Hal ini sesuai pendapat Abubakar *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa terdapat dua alel yang berada pada lokus amylase-I yaitu  $Amy-I^B$  dan  $Amy-I^C$ . Genotip homozigot pada lokus amylase-I yaitu  $Amy-I^{BB}$  dan  $Amy-I^{CC}$ , sedangkan genotip heterozigot pada amylase-I yaitu  $Amy-I^{BC}$ . Pada lokus amylase-I ayam Kedu jengger merah, frekuensi gen  $Amy-I^A$

sebesar 0,536 lebih tinggi dibandingkan  $Amy-I^B$  (0,536). Pada ayam Kedu jengger hitam memiliki nilai frekuensi gen yang sama besar. Perbedaan nilai frekuensi gen disebabkan oleh mutasi dan seleksi di Satuan Kerja Non Ruminansia Temanggung seperti pengelompokkan sesuai warna jengger dan bobot tubuh yang seragam. Hal ini sesuai dengan pendapat Noor (2000) bahwa perbedaan nilai frekuensi dapat disebabkan oleh seleksi dan mutasi.

**Heterozigositas Individu dan Rataan Heterozigositas**

Pada ayam Kedu jengger merah nilai heterozigositas individu yang lebih tinggi terdapat pada lokus amylase-I, sedangkan pada jengger hitam yang paling tinggi terdapat pada lokus post transferrin dan amylase-I (Tabel 7). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Abubakar *et al.* (2014) yang menunjukkan bahwa nilai heterozigositas individu pada ayam Kedu terdapat pada lokus post tranferin dan amylase I. Rataan heterozigositas ayam Kedu jengger hitam lebih tinggi dibandingkan ayam Kedu jengger merah. Nilai heterozigositas dapat dipengaruhi oleh beberapa hal yaitu jumlah sampel, populasi, dan bangsa. Dinyatakan oleh Ardiningsasi *et al.* (1997) perbedaan nilai heterozigositas dapat disebabkan oleh jenis bangsa ternak yang diamati.

Tabel 5. Sebaran genotip dan frekuensi gen ayam Kedu jengger merah dan hitam lokus Post Transferin

Warna jengger	Jumlah sampel	Genotip			Frekuensi gen	
		FF	FS	SS	F	S
Merah	14	3	4	7	0,357	0,643
Hitam	14	6	2	6	0,500	0,500

Tabel 6. Sebaran genotip dan frekuensi gen ayam Kedu jengger merah dan hitam lokus Amylase-I

Warna jengger	Jumlah sampel	Genotip			Frekuensi gen	
		BB	BC	CC	B	C
Merah	14	4	7	3	0,536	0,464
Hitam	14	4	6	4	0,500	0,500

**Perhitungan Chi Square**

Hasil perhitungan chi-square ayam Kedu jengger merah dan jengger hitam disajikan pada Tabel 8. Perhitungan dengan menggunakan chi-square sering

dilakukan untuk mengetahui kondisi keseimbangan Hardy-Weinberg. Hal ini sesuai dengan pendapat Graffelman (2010) bahwa chi square sering digunakan untuk menilai kesetimbangan Hardy

Weinberg dalam sampel acak. Faktor-faktor yang mempengaruhi kondisi Hardy Weinberg adalah perkawinan secara acak, tidak ada mutasi gen, tidak terjadi migrasi, dan tidak terjadi seleksi. Hal ini sesuai dengan pendapat Ismoyowati *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa keseimbangan pada hukum

Hardy Weinberg dipengaruhi oleh faktor-faktor yaitu genotip yang ada mempunyai viabilitas dan fertilitas yang sama, perkawinan secara acak, tidak ada mutasi gen, tidak terjadi migrasi, dan tidak terjadi seleksi.

Tabel 7. Heterozigositas individu dan rata-rata heterozigositas ayam Kedu

Lokus	Jengger merah	Jengger hitam
Pre-albumin	0,408	0,497
Albumin	0,375	0,337
Ceruloplasmin	0,408	0,436
Transferin	0,459	0,477
Post-transferin	0,459	0,500
Amylase-I	0,497	0,500
$\bar{H}$	0,434	0,458

Tabel 8. Perhitungan *chi square* ayam Kedu jengger merah dan jengger hitam

Lokus	<i>Chi square</i> jengger merah	Signifikansi 95%	<i>Chi square</i> jengger hitam	Signifikansi 95%
Pre-albumin	14	ns	4,536	s
Albumin	9,174	s	1,041	s
Ceruloplasmin	5,915	s	0,299	s
Transferin	0,062	s	0,884	s
Post-transferin	1,998	s	7,143	s
Amylase-I	0,003	s	0,286	s

Keterangan: S = Signifikan

**SIMPULAN**

Ayam Kedu jengger merah dan jengger hitam di Satuan Kerja Non Ruminansia Maron, Temanggung memiliki keragaman genetik. Rataan heterozigositas ayam Kedu jengger hitam relatif lebih tinggi (0,458) dari pada jengger merah (0,434). Hasil perhitungan chi-square menunjukkan bahwa seluruh lokus berada dalam keseimbangan Hardy Weinberg kecuali pre albumin pada ayam Kedu jengger merah.

**DAFTAR PUSTAKA**

Abubakar, E. Suprijatna, dan Sutopo. 2014. Genotype distribution of local chicken crossbred in Poultry Breeding Centre Temanggung Central Java. *International Refereed Journal of Engineering and Science (IRJES)*.3: 01-14.  
 Apsari, I. A. P dan I. M. S. Arta. 2010. Gambaran darah merah ayam buras yang terinfeksi leucocytozoon. *Jurnal Veteriner*. 11 (2) : 114-118.

Manwell, C. and C. M. A. Baker. 1986. Population Genetics, Molecular Marker and Gene Conservation of Bovine Breeds. In: Neimann and Hickman (Ed) .World Animal Science. Elsevier Health Sciences, London.  
 Bollag, D. M and S. J. Edelstein. 1991. Protein Method. A John Willey and Sons Inc, New York.  
 Direktorat Jenderal Peternakan. 2002. Statistik Peternakan 2012. Direktorat Jenderal Peternakan, Jakarta.  
 Harper, H.A., V. W. Rodwell and P.A. Mays. 1984. Biochemistry. Large Medical Publication Drawer L, Los Atlas, California.  
 Holsinger, K.E. 2001. Encyclopedia of Genetics. Academic Press. 2: 912-914.  
 Ismoyowati. 2008. Kajian deteksi produksi itik Tegal melalui polimorfisme protein darah. *Journal Animal Production* 10 (2): 122 – 128.  
 Johari, S., E. Kurnianto and E. Hasviara. 2008. Blood protein polymorphism of kedu chicken. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*. 33 (4): 313-318.

- Johari, S., E. Kurnianto, Sutopo and A. Santi. 2010. Genetic diversity of colour pattern (feather, skin, and shank) in Kedu chicken. Proceeding of the International Seminar on Prospects and Challenges of Animal Production in Developing Countries in the 21st Century, 23-25 March 2010. Malang Indonesia. Hal: OP142-148.
- Johari, S., S. Ekasari and E. Kurnianto. 2012. Genetic variation in three breeds of Indonesian local ducks based on blood and eeg white protein polymorphism. *Journal of the Indonesian Troical Animal Agriculture* **38** (1): 20-26.
- Keren, D. F. 2003. *Protein Electrophoresis in Clinical Diagnosis*. Hodder Arnold, London.
- Laily, A.N. 2010. Perbandingan Lokus Plasma Ceruloplasmin (Cp) dan Amylase I (Amy I) pada Domba Beranak Tunggal dan Beranak Kembar di Kabupaten Semarang. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang. (Skripsi)
- Murtidjo, M. A. B. 1992. *Pedoman Beternak Ayam Broiler*. Kanisius. Yogyakarta.
- Muryanto., Subiharta dan D.M. Yuwono. 1996. *Pembibitan Ayam Buras. Prosding Aplikasi Teknologi pada Ayam Buras*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. Ungaran, Semarang.
- Nataamijaya, A.G. 2000. The native chicken of Indonesia. *Bulletin Plasma Nutfah*. 6 (1): 1-6.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Colombia University Press, New York.
- Nicholas, F. W. 1987. *Veterinary Genetics*. Clarendon Press, Oxford.
- Noor, T., C. Sumantri dan Adiani. 2011. Jarak genetik populasi kuda lokal Sulawesi Utara berdasarkan analisis morfologi. *Jurnal Ilmu Sains*. **11** (1). Hal: 48-58.
- Noviani, F. 2010. Perbandingan Lokus Plasma Pre Albumin (Pa) dan Albumin (Alb) pada Domba Beranak Tunggal dan Beranak Kembar di Kabupaten Semarang. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang. (Skripsi)
- Rodriguez, S. 2014. Hardy-Weirnberg Law. *Brenner's Encylopedia of Genetics 2nd Edition*. (3): 396-398.
- Rukmana, H. R. 2003. *Ayam Buras. Intensifikasi dan Kiat Pengembangan*. Kanisius, Yogyakarta.
- Sugiyono. 2003. *Statistika untuk Penelitian*, Cetakan Kelima, CV Alpha Betha, Bandung.
- Sutopo., K. Nomura, Y. Sugimoto and T. Amano. 2001. Genetic relationships among Indonesian native cattle. *Journal Animal Genetic*. 28 (2) : 3-11.
- Warwick, E. J., J. M. Astuti dan W. Hardjosebroto. 1990. *Pemuliaan Ternak*. Edisi ke-4. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wulandari, Ani R. 2008. Studi tentang keragaman genetik melalui polimorfisme protein darah dan putih telur pada tiga jenis ayam kedu periode "layer". Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro. (Tesis).
- Yuwono, T. 2005. *Biologi Molekular*. Erlangga, Jakarta.