

**PENDEKATAN MOLEKULER DENGAN TEKNOLOGI siRNA UNTUK
MENINGKATKAN PERFORMA REPRODUKSI AYAM KAMPUNG**
(Gallus gallus domesticus)

Joice J. Bana

Program Studi Biologi FST Undana

ABSTRAK

Peningkatan performa reproduksi ayam kampung dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain : dengan pendekatan management pemeliharaan, pendekatan hormonal dan pendekatan molekuler. Salah satu cara pendekatan molekuler yang dapat dilakukan adalah dengan teknologi siRNA. Teknologi siRNA ini merupakan teknologi yang digunakan untuk pembungkaman gen-gen tertentu untuk tujuan tertentu. Penghambat terbesar dalam reproduksi ayam kampung adalah adanya sifat mengeram yang dikode oleh gen-gen sifat mengeram. Upaya untuk meningkatkan performa reproduksi ayam kampung dengan pendekatan molekuler adalah dengan mengurangi/menghilangkan sifat mengeramnya. Upaya tersebut diarahkan pada penghambatan gen-gen sifat mengeram ayam kampung. Metode siRNA dapat dijadikan alternatif cara yang dapat dilakukan untuk penghambatan kerja gen-gen sifat mengeram ayam kampung sehingga dapat meningkatkan performa reproduksi ayam kampung.

Kata kunci : Ayam kampung, sifat mengeram, molekuler, siRNA

A. Pendahuluan.

Reproduksi merupakan salah satu tahapan penting dalam kehidupan suatu organism hidup. Hal ini karena tahapan reproduksi merupakan tahapan untuk menghasilkan keturunan baru yang merupakan bagian dari upaya pelestarian suatu spesies. Terganggunya tahapan ini merupakan ancaman keberadaan suatu spesies organisme hidup. Tahapan ini dimulai dari masa pubertas hingga jangka waktu tertentu, tergantung spesies hewan.

Reproduksi juga merupakan suatu proses yang unik karena untuk terjadinya reproduksi yang normal dipengaruhi oleh berbagai factor baik factor luar maupun factor dalam. Faktor luar meliputi antara lain : kualitas makanan dan kondisi lingkungan hidup, sedangkan faktor dalam meliputi antara lain : titer hormone, anatomi saluran reproduksi, kualitas sel gamet jantan maupun betina dan gen. Tidak munculnya satu atau beberapa factor tersebut dapat menimbulkan terjadinya hambatan proses reproduksi sehingga dapat terjadi gangguan reproduksi. Makin banyak factor penghambat, makin berat gangguan reproduksi yang terjadi (Hardjopranjoto, 2000 dalam Latifa dan Sarmanu, 2008). Begitu penting dan uniknya tahapan ini maka perlu ada upaya-upaya peningkatan performa reproduksi, terutama bagi hewan ternak yang memiliki nilai ekonomis contohnya ayam kampung.

Ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*) merupakan jenis hewan ternak yang tidak asing lagi bagi masyarakat khususnya masyarakat Indonesia.

Ayam kampung memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan ayam ras (negeri), diantaranya adalah : daya adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan, pemeliharaan relatif mudah, tidak membutuhkan ruangan yang besar dan tahan terhadap penyakit (Jony, 2013; Risnandar, 2014; Saputra, 2016; Padhi, 2016).

Produktivitas yang rendah ini disebabkan karena ayam kampung memiliki sifat mengeram. Hartono (2014) menyatakan bahwa kendala utama pengembangan produktivitas ayam kampung dari segi reproduksi adalah periode mengeram yang cukup lama. Menurut Romanov (2001) periode mengeram ayam terdiri atas 2 fase yaitu fase mengerami telur (nesting) dan fase mengasuh anak. Pada ayam kampung periode mengeram membutuhkan waktu kurang lebih 3 bulan yang terdiri atas : fase mengerami telur selama 21 hari fase mengasuh anak 60 diikuti waktu istirahat 9-10 hari. Salah satu cara mengoptimalkan reproduksi ayam kampung adalah mengurangi sifat mengeram dengan cara memanipulasi proses reproduksi dengan pendekatan hormonal dan molekuler yang dilakukan pada periode mengeram.

Pendekatan hormonal difokuskan pada memanipulasi sekresi hormon yang paling bertanggung jawab dalam menginduksi sifat mengeram yaitu hormon prolaktin. Sedangkan pendekatan molekuler diarahkan pada gen-gen yang berhubungan dengan sifat mengeram. Pendekatan secara hormonal dapat dilakukan dengan pemberian zat anti prolaktin yang dapat menghambat sekresi hormon prolaktin.

Sedangkan pendekatan molekuler dapat dilakukan dengan membungkam gen-gen yang paling bertanggung jawab terhadap sifat mengeram. Gen-gen yang telah diketahui berhubungan dengan sifat mengeram ayam adalah gen prolaktin dan gen promotor prolaktin (Sartika, *dkk.*, 2004).

Salah satu cara yang dapat digunakan untuk membantu mempelajari respon molekuler suatu fungsi gen dari suatu organisme tertentu adalah dengan menggunakan metode RNAinterference (RNAi). Teknologi RNAi dapat menghambat kerja atau ekspresi dari suatu gen yang spesifik yang memainkan peranan penting dalam jalur signal yaitu dengan menggunakan double stranded si RNA (ds siRNA) yang spesifik dimasukan ke dalam tubuh organisme tertentu (Heath *dkk.*, 2014). Dalam makalah ini akan dibahas kemungkinan penggunaan teknologi siRNA untuk membungkam gen-gen yang berhubungan dengan sifat mengeram ayam kampung sebagai bagian dari upaya peningkatan performa reproduksi ayam kampung dengan pendekatan molekuler.

B. Potensi Reproduksi Ayam Kampung.

Ada beberapa alasan mengapa perlu mengembangkan reproduksi ayam kampung. Alasan utama adalah bahwa ayam, khususnya ayam kampung (*free range chickens*) memberikan suplai makanan yang berkualitas. Telur ayam kampung mengandung nilai nutrisi yang tinggi dibandingkan dengan telur ayam ras, yaitu mengandung 2 kali vitamin E, 6 kali vitamin A, rendah lemak jenuh, 4 kali asam lemak omega 3 dan setengah jumlah kolesterol yang

terdapat pada telur ayam ras (<http://www.raisingfreerangechickens.com>). Selain telur, daging ayam kampung juga memiliki harga jual yang tinggi (Gueye, 1998 dalam Padhi, 2016). Tingginya harga jual ayam kampung menurut Widiani dan Ari (2014) adalah karena waktu pemeliharaan yang cukup lama sebelum dapat dijual, kandungan lemak yang lebih rendah yaitu 9 gr/100 gr dibandingkan ayam negeri (15gr/100gr). Kandungan lemak yang rendah ini menghasilkan kandungan kolesterol yang lebih rendah dibandingkan ayam negeri, sehingga lebih disukai untuk dikonsumsi (Saidin, 2000).

Beberapa peneliti melaporkan potensi reproduksi ayam kampung dihubungkan dengan sistem pemeliharaan dan produksi telur. Produksi telur ayam kampung yang dipelihara secara intensif dapat mencapai 151 butir/ekor/tahun dengan bobot tubuh pada umur 12 minggu sebesar 708 gram (Creswell dan Gunawan, 1982). Sementara itu Wihandoyo dan Mulyadi (1986) mendapatkan bobot tubuh ayam kampung yang dipelihara secara tradisional sebesar 1450,63 gram pada umur delapan bulan dengan produksi telur 60 butir, sedangkan dengan pemeliharaan secara intensif bobot tubuh mencapai 1647,96 gram dengan produksi telur 105 butir. Upaya lain untuk meningkatkan performa reproduksi ayam kampung adalah dengan seleksi dan persilangan. Namun upaya ini membutuhkan waktu yang lama dengan biaya yang tinggi (Sartika *dkk.*, 2004).

C. Upaya Menghilangkan Sifat Mengeram Ayam Kampung.

Beberapa metode sederhana yang dapat dilakukan untuk meningkatkan performa reproduksi ayam kampung dalam hubungannya dengan sifat mengeram menurut Undianto dan Purnama (2000) adalah : mengambil telur setiap hari dari sarang, induk ayam dipelihara dalam kandang individu, ayam betina dipelihara bersama dengan ayam jantan dan induk ayam dimandikan.

Dengan memandikan ayam ketika ayam tersebut menunjukkan tanda-tanda akan mengeram, 2-3 minggu kemudian ayam akan kembali berahi dan bertelur (Saputro, 2003). Selain dengan metode di atas, seleksi dan persilangan dapat juga dilakukan untuk mengurangi sifat mengeram pada ayam kampung. Seleksi dan penyilangan ayam kampung yang memiliki sifat mengeram tinggi dan yang memiliki sifat mengeram rendah, terkendala oleh waktu yang lama karena nilai heretabilitas sifat mengeram yang sangat rendah yaitu 0,1 (Saeky, 1957, dalam Sartika dkk, 2004).

Sartika (1999) lewat penelitiannya menemukan bahwa seleksi untuk mengurangi sifat mengeram dan meningkatkan produksi telur ayam kampung dengan intensitas seleksi sebesar 50% mendapatkan aktual respons seleksi untuk produksi telur sebesar 5,2 % pada generasi G1 dan menurunkan lama mengeram sebesar 2,44 hari. Sartika (2004) menyatakan bahwa gen promotor prolaktin dapat dijadikan sebagai gen kandidat untuk sifat mengeram dan

dapat digunakan sebagai marker genetik untuk mempercepat seleksi. Hasil seleksi konvensional selama tiga generasi yang dilakukan oleh Sartika (2005) menunjukkan terdapat peningkatan pola pita gen promotor prolaktin tipe petelur/tidak mengeram sebanyak 4,46% dibandingkan dengan populasi ayam kampung sebelum seleksi (G0). Rangkaian penelitian Sartika ini menunjukkan bahwa proses seleksi dan penyilangan dapat menurunkan sifat mengeram namun membutuhkan waktu yang relatif lama.

D. Gen-gen Yang Berperan Dalam Sifat Mengeram.

Romanov (1999) menyatakan bahwa sifat mengeram dibawa oleh banyak gen atau bersifat poligen dan komplementer. Gen-gen dan atau kandidat gen yang telah diketahui berhubungan dengan sifat mengeram hasil beberapa peneliti telah dirangkum oleh Romanov (2001) yaitu : gen *estrogen reseptor* (ESR), gen *progesteron reseptor* (PGR), gen *prolaktin* (PRL), gen *prolaktin reseptor* (PRLR), gen *vasoactive intestinal peptide* (VIP), gen *vasoactive intestinal peptide reseptor* (VIPR), gen *luitenizing hormone/choriogonadotropin reseptor* (LHCGR), gen *luitenizing hormone-releasing hormone 1* (LHRH1), gen *dopamin D1D reseptor* (D1LR), gen *growth hormon* (GH1), gen *growth hormone reseptor* (GHR) dan *gonadotrophin releasing hormone 1* (GNRH). Gen-gen lain yang juga telah ditemukan dan diduga berhubungan dengan sifat mengeram adalah gen promotor prolaktin, gen Pit-1

(*pituitary specific transcriptional factor*), gen *GARLN1* (*GTPase activating Rap/RanGAP Domain-Like 1*), gen *prolactin regulatory element binding protein* dan gen *dopamin D2 receptor* (DRD2), (Sartika dkk., 2004; Elzholt dkk., 1991; Shen dkk., 2012; Hiyama dkk., 2015, 2016; Rahman, 2014).

E. Pendekatan Molekuler Untuk Meningkatkan Performa Reproduksi Ayam Kampung.

Dengan berkembangnya aspek molekuler, banyak kemungkinan yang dapat ditawarkan untuk suatu usaha peternakan dalam rangka meningkatkan atau memperbaiki mutu genetik terutama untuk sifat-sifat yang memiliki nilai ekonomi (sifat kuantitatif). Sifat kuantitatif yang menarik dipelajari pada ayam kampung adalah sifat mengeram. Adanya sifat mengeram ini berhubungan dengan menurunnya produksi telur, karena produksi telur akan berhenti selama ayam tersebut mengeram dan mengasuh anak.

Dengan diketahuinya gen-gen yang berhubungan dengan sifat mengeram, langkah selanjutnya yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah utama yang menghambat peningkatan performa reproduksi ayam kampung dengan pendekatan molekuler adalah dengan melakukan pembungkaman gen-gen tersebut (*gene silencing*). Salah satu teknologi yang dapat dilakukan untuk maksud tersebut adalah dengan terapi *RNA interference* (siRNA).

1. Teknologi siRNA.

Salah satu cara yang dapat digunakan untuk membantu mempelajari respon molekuler suatu fungsi gen dari suatu organisme tertentu adalah dengan menggunakan metode *RNA interference* (RNAi). *RNA interference* (RNAi) merupakan suatu mekanisme yang terjadi secara alami dan normal di dalam tubuh yang berhubungan dengan suatu proses proteksi secara genomik dengan menghambat sintesis suatu protein. Mekanisme ini dikenal dengan nama *post-transcriptional gene silencing* dan dikembangkan menjadi suatu metode terapi gen yang potensial, selain itu digunakan juga untuk mempelajari fungsi dan regulasi gen (David dkk., 2010). Peter dkk., (2006) menyatakan bahwa RNAi digunakan secara luas sebagai perangkat sekuens khusus untuk mengknok-down fenotip dan fungsi gen pada berbagai organisme.

Mekanisme kerja RNAi adalah melibatkan suatu intermediet aktif yang disebut *small interfering RNA* (siRNA). Menurut Muhammad (2011) ada tiga hal penting yang berhubungan dengan siRNA sebagai suatu teknologi yaitu : (1) Bagaimana meningkatkan efektivitas dan spesifitas siRNA sebagai alat pembungkam ekspresi gen, (2) Bagaimana menghadirkan siRNA ke dalam lingkungan seluler manakala diperlukan dan (3) Dalam hal apa sajakah teknologi siRNA dapat diterapkan?

2. Mekanisme Kerja siRNA.

Jalur RNAi berlokasi di sitoplasma sel dan dibagi menjadi 2 tahap yaitu : tahap inisiasi (pembentukan molekul efektor) dan tahap subsequence efektor (mekanisme RNAi yang sebenarnya). Molekul RNAi terbagi menjadi 2 grup yaitu small interfering (siRNA) yang terdiri dari 21-23 segmen nukleotida dsRNA dengan 3 nukleotida yang overhang, dan mikro RNA (miRNA) yang terdiri dari 22 segmen nukleotida dsRNA (Lu dan Woodle, 2008).

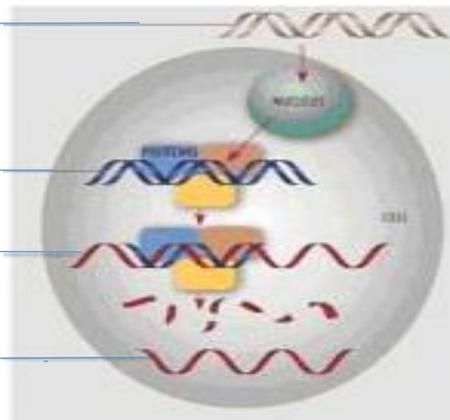
Pembentukan siRNA dimulai di sitoplasma yang membelah menjadi dsRNA yang panjang oleh Dicer. Dicer adalah suatu ribonuclease dengan energi ATP yang mengenali dan memotong mRNA yang membentuk dupleks untai ganda menjadi potongan kecil fragmen untai ganda mRNA (Malik, 2005). Pada tahap efektor, siRNA akan dirakit menjadi RNA-inducing silencing complexes (RISC). Kompleks tersebut akan mengaktifkan RISC yang semula inaktif dan kemudian protein ini akan melaksanakan tugasnya bekerja memutuskan mRNA pada bagian yang mengandung eskuens homolog dengan siRNA (Tang, 2005).

DNA penyandi siRNA digabungkan ke genom di dalam nukleus.

siRNA bergabung dengan protein membentuk kompleks silencing.

Kompleks silencing berikatan ke kopi RNA yang membawa gen cacat dan menghancurkannya.

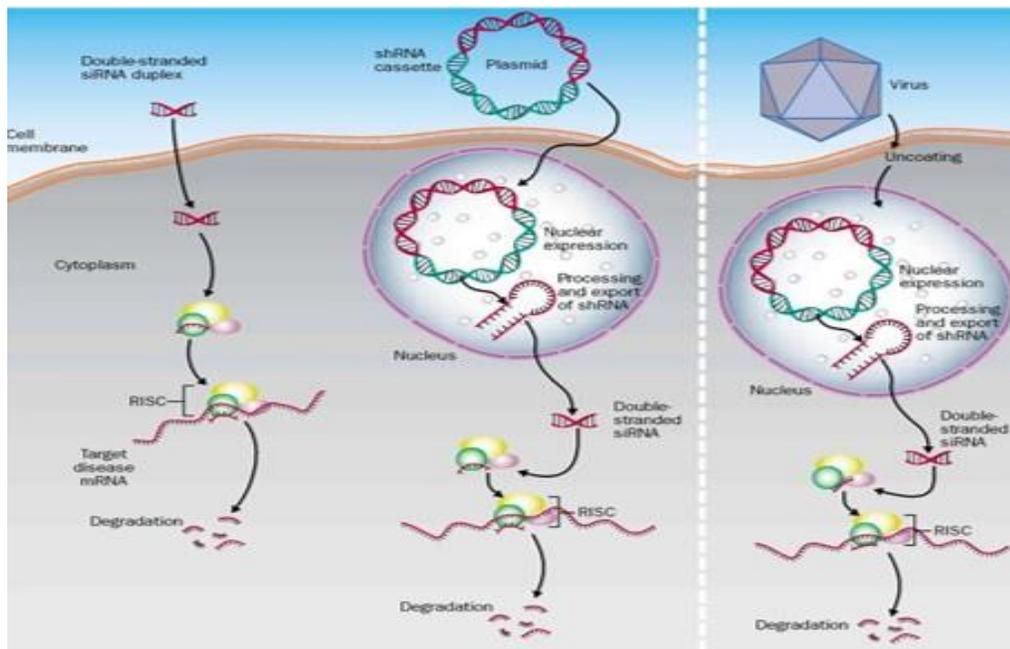
Kopi RNA gen normal tetap utuh.



Gambar 1. Mekanisme kerja short interfering RNA (siRNA) dalam menghalangi ekspresi gen (Malik, 2005)

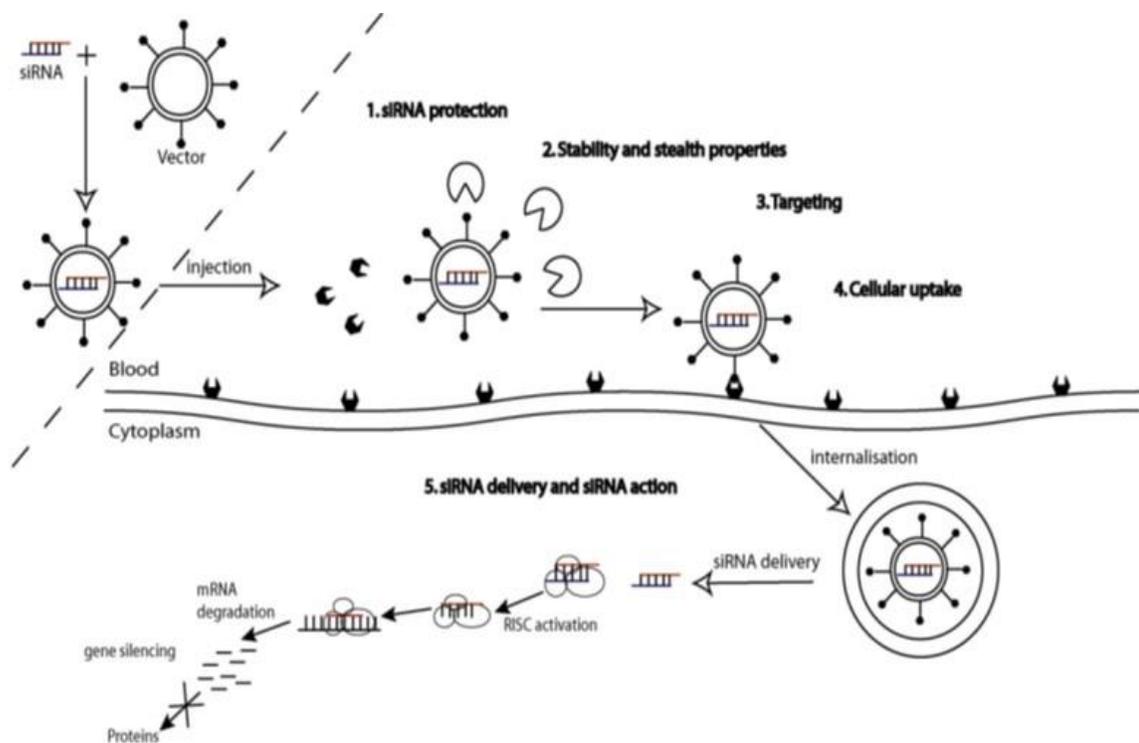
3. Strategi Aplikasi RNAi.

Terdapat beberapa cara untuk aplikasi RNAi yaitu (1) transfeksi RNAi ke sel, dan RNAi yang ditransfeksi diharapkan akan menjadi RISC yang dapat mendegradasi mRNA target, (2) melalui vektor plasmid, pada nukleus diharapkan terjadi transkripsi shRNA atau pre-miRNA dan akan diproses dan diekspor ke sitoplasma menjadi RISC, (3) dengan vektor viral DNA (Davidson dan Paulson, 2004).



Gambar 2. Strategi aplikasi RNAi melalui transfeksi ke sel, vektor plasmid, dan vektor viral. (Davidson dan Paulson, 2004).

Dalam sistem aplikasi RNAi baik melalui siRNA maupun miRNA terdapat faktor-faktor yang harus diperhatikan yaitu : ukuran RNAi, ukuran vektor, vektor yang digunakan, cara aplikasi, sistem proteksi agar siRNA yang dibawa tidak didegradasi, eliminasi, distribusi yang tidak spesifik, serta internalisasi (David *dkk.*, 2010).



Gambar 3. Gambaran umum aplikasi RNAi melalui vektor virus yang dimasukkan secara intra parental melalui darah menuju ke organ target. Virus mengalami internalisasi, ditranskripsikan siRNA dalam inti, ditransfer ke sitoplasma, kemudian menjadi RISC yang komplemen dengan mRNA targetnya sehingga terjadi silencing (David *dkk.*, 2010).

4. Aplikasi Teknologi siRNA.

Berbagai jenis gen dapat dijadikan sebagai sasaran potensial untuk dibungkam ekspresinya oleh siRNA. Hal ini membuka harapan yang menggembirakan tentang penggunaan siRNA dalam berbagai aspek kehidupan. Dewasa ini pengembangan metode siRNA lebih banyak diarahkan pada dunia pengobatan terutama untuk penyakit-penyakit berbahaya seperti kanker dan HIV atau yang disebabkan oleh inveksi virus. Dengan siRNA dosis radiasi (dan alkylating) berkurang dengan faktor 1.4 untuk menimbulkan efek yang secara klinis relevan demikian juga pelumpuhan oleh siRNA untuk gen pembungkus partikel HIV-1 gp120, mampu menekan ekspresi gen-hen HIV dan menyebabkan penghambatan replikasi HIV dalam 14 hari (Collins dkk., 2003 dan Park, dkk., 2003 dalam Peter, 2006).

Pada dunia hewan beberapa penelitian menggunakan siRNA telah dilakukan dan memberikan hasil yang cukup memuaskan. Heger, dkk (2007 dalam Dissen dkk., 2012 melaporkan induksi oleh siRNA dapat menekan gen *Enhance at Puberty* (EAP 1) dan menyebabkan keterlambatan pubertas dan mengganggu siklus reproduksi tikus dan primata. Siklus menstruasi total dihambat pada kera yang diinjeksi dengan LV (lentiviral) partikel yang mengandung EAP1 miRNA (Dissen dkk., 2012).

Kusumawaty (2015) melaporkan bahwa pembungkaman gen *myd88* yang merupakan gen kunci yang menentukan ketahanan ikan gurame terhadap *Aeromonas hydrophila* yang virulen terbukti menurunkan ekspresi gen $TNF\alpha$ yang menyebabkan kematian ikan gurami.

Dengan keberhasilan pada penelitian-penelitian yang dilaporkan di atas tidak menutup kemungkinan untuk melakukan pembungkaman gen-gen yang berhubungan dengan sifat mengeram pada ayam kampung. Namun untuk sampai ke proses pembungkaman perlu dilakukan penelitian untuk mencari gen-gen kunci yang berperan dalam menginduksi sifat mengeram dan studi metode yang tepat untuk pembungkaman gen-gen tersebut. Keberhasilan dalam pembungkaman gen-gen kunci sifat mengeram akan memberikan kontribusi yang luar biasa untuk perbaikan performa reproduksi ayam kampung.

PENUTUP

Simpulan

Teknologi siRNA dapat dijadikan alternatif cara untuk pembungkaman gen-gen (silencing gens) sifat mengeram ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*) dalam upaya untuk memperbaiki performa reproduksi ayam kampung.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, A. 2005. RNA Therapeutic Enter Clinical Trials. The scientist.
- Cresswell, D.C dan B, Gunawan. 1982. Pertumbuhan dan Produksi Telur dari Lima Strain Ayam Sayur Pada Peternak Sistem Intensif. *Pros. Seminar Penelitian Peternakan*. Bogor.
- David, S., Pitard, B., Benoid, J. P dan passirani, C. 2010. Non Viral Nanosystem for Systemic Sirna delivery. *Pharmacological Research*, 62 : 100-114.
- Davidson, B. L dan Paulson, H. L. 2004. Molecular Medicine For Brain : Silencing of Disease Genes With RNA Interference. *Lancet Neurol*, 3 : 145-149.
- Dissen, G. A., Lomniczi, A., Boudreau, R. L., Chen, Y. H., Davidson B. L dan Ojeda S. R. 2012. Applying Gene Silencing Technology to Contraception, *Reprod Domest Anim*, 47 (6) : 381-386.
- Elsholtz, P. H., Lew, M. A., Albert, R. P. dan Sundmark, C. V. 1991. Inhibitory Control of Prolactin and Pit-1 Gene Promoters by Dopamin, *Biological. cem. J*, 266 (34), 22919-22925.
- Hale, B. J., Cai-Xia, Y dan Rose J. W. 2013. Small RNA Regulation of Reproductive Function, *Molecular Reproduction and Development*, 81 (2) : 148-159.
- Hartono. 2003. *Upaya Meningkatkan Produktifitas Ayam Buras*. Puslitbang Peternakan. Bogor 29-30 Sept.2003.
- Hiyama, G., Kansaku, N., Tanaka, T., Wakui, S. dan Zadworny, D. 2015. Characterization of Chicken Prolactin Regulatory Element Binding Protein and its Expression in the Anterior Pituitary Gland During Embryogenesis and Different Reproductive Stages. *J. Poul. Sci.*, 52 : 42-51.
- Jony, I. 2013. *Jenis-Jenis Ayam Di Indonesia*, Ilmu Peternakan UIN Suska Riau.
- Latifa, R. & Sarman. 2008. Manipulasi Reproduksi Pada Itik Petelur Afkir Dengan PMSG, *J Penelit. Med.Eksakta*,. 7 (1),83-91.
- Lu, P.Y dan Woodle, M. C. 2008. Delivering Small Interfering RNA for Novel Therapeutics. *Method Mol Biol*, 437 : 93-107.
- Kusumawati, D. 2015. Pola Distribusi Gen-gen Virulen Pada *Aeromonas hydrophila* Dan Ekspresi Gen-gen Yang Terlibat Dalam Sistem Imunitas Bawaan Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*) Yang Diinfeksi Patogen Paska Pembungkaman Dengan ds siRNA MYD88. *Disertasi ITB*.
- Malik, A. 2005. RNA Therapeutic, Pendekatan Baru Dalam Terapi Gen. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, II (2) : 51-61.
- Muhammad, F. 2011. siRNA Sebagai Suatu Teknology. <http://f-sharing.blogspot.co.id>. Dikunjungi tanggal 4 Desember 2017.

- Padhi, M. K. 2016. Importance of Indigenous Breeds of Chickens for Rural Economy and Their Improvement for Higher Production Performance, Review Article, *J. Scientifica*. 2016.
- Peter, I. J., Gallagher, J. M dan Kuwabara, P. E. 2006. Manipulation and Enhancing the RNAi Response, *Journal of RNAi and Gene Silencing*, 2 (1) : 118-125.
- Rahman, M. MD., Matsuda, R., Matsuda, T., Nishiyama, Y., Jozaki, K., Anann, K. dan Wada, Y. 2014. Relationship Between the Production Traits and Three Candidate Genes in the Prolactin's In/Del X In/Del Population of Silkie Fowl, *J.Poult.Sci.*, **51** : 138-143.
- Romanov, M.N., R.T. Talbot, P.W. Wilson and P.J. Sharp.1999. Inheritance of broodiness in domestic fowl. Br, *Poult. Sci.* **40**,suppl. pp. S20-S21.
- Romanov, M.N 2001. Genetic of Broodiness in Poultry- A Review. Departmen of Genetics, Poultry Research Institute/UAAS, Borky. Ukraina.
- Saputro, Th. 2014. Pengaturan Siklus Bertelur Ayam Kampung, www.ilmu ternak.com. Dikunjungi pada tanggal 10-10-2016.
- Sartika, T., B. Gunawan dan Murtiyeni. 1999. Seleksi Generasi Pertama (G1) untuk Mengurangi Sifat mengeram dan meningkatkan Produksi Telur Ayam Lokal, *Semnas Peternakan dan Veteriner*, Badan Penelitian Ternak, Bogor.
- Sartika, T. 2005. Peningkatan Mutu Bibit Ayam Kampung Melalui Seleksi dan Pengkajian Penggunaan Penanda Genetik Promotor Prolaktin Dalam MAS/ Marker Assisted Selection untuk Mempercepat Proses Seleksi. *Disertasi Program Pascasarjana*, IPB, Bogor.
- Sartika, T. 2005. Sifat mengeram pada ayam ditinjau dari aspek molekuler, Review. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- Shen, X., Zeng, H., Xie, L., He, J., Li, J., Xie, X., Luo, Ch., Xu, H., Zhou, M. & Nie, Q. 2012. The GTPase Activating Rap/Ran GAP Domain-Like 1 Gene Is Associated with Chicken Reproductive Traits, <http://journals.plos.org/plosone/article>.
- Tang, G. 2005. siRNA and miRNA : an insight into RISCs, TRENDS in Molecular Medicine. *Trend Biochem Sci*, 30 : 106-114.