

KESAMAAN GENETIK DALAM DAN ANTAR POPULASI PUYUH LOKAL DAN PUYUH SILANGAN BERDASAR ANALISIS *POLYMERASE CHAIN REACTION-RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (PCR-RAPD)*

Dyah Maharani¹

INTISARI

Penelitian dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kesamaan genetik populasi puyuh lokal dan puyuh silangan berdasar analisis *PCR-RAPD*. Subyek dari penelitian adalah sampel DNA genom puyuh yang diambil dari dua lokasi peternakan puyuh di Daerah Istimewa Yogyakarta. Penelitian diawali dengan pengambilan sampel darah dari *vena* di bawah sayap dari puyuh lokal dan puyuh silangan. Sampel tersebut diekstraksi DNA darahnya, dilakukan amplifikasi DNA dengan metode *PCR-RAPD (Polymerase Chain Reaction -Random Amplified Polymorphic DNA)* dengan 6 primer, namun hanya 5 primer yang menghasilkan produk amplifikasi yang jelas. Prosedur kemudian dilanjutkan dengan visualisasi hasil *PCR* dengan melakukan elektroforesis dan pemotretatan hasil elektroforesis. Analisis statistik untuk mengetahui kesamaan genetik di dalam dan antar dua populasi didasarkan pada nilai *BSF (Band Sharing Frequency)*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kesamaan genetik dalam populasi (antar individu dalam populasi) baik populasi lokal maupun silangan tidak berbeda dan relatif kecil. Hal ini ditunjukkan dengan nilai *BSF* yang berkisar antara 0,6111 sampai 0,7544 untuk populasi lokal dan 0,5559 sampai 0,7883 untuk populasi silangan, sedangkan kesamaan genetik antar populasi cukup besar yaitu berkisar antara 0,9073 sampai 0,9965.

(Kata kunci : Kesamaan genetik, Puyuh lokal dan silangan, *PCR-RAPD*).

Buletin Peternakan 28 (4) : 184 -192, 2004

¹ Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

GENETIC SIMILARITY OF WITHIN AND BETWEEN LOCAL AND CROSSED BRED QUAIL POPULATION USING RAPD-PCR ANALYSIS

ABSTRACT

Research was conducted to know how big genetic similarity of local and crossed bred quail population based on analysis PCR-RAPD. The research subject was DNA genome quail which were taken from two locations of quail population in Special Region Yogyakarta. The research was initiated with the collection of blood sampling from vena under wing from local and crossed quail. The respective blood samples were extracted to obtain DNA samples, by amplifying DNA using Polymerase Chain Reaction- Random Amplified Polymorphic DNA (PCR- RAPD). Method with six primers, but only five primers had product amplification clearly. The procedures was than continued with visualization of the PCR results using electrophoresis apparatus. Genetic similarity within and between populations was analyzed statistically based on Band of Sharing Frequency (BSF) values. The results indicated that there was existing genetic similarity. The differences if any was relatively small. This phenomena was shown by the BSF values which ranging from 0.6111 to 0.7544 for local bred population and 0.5559 to 0.7883 for crossed bred population. Genetic similarity between populations were considerably high with BSF values between 0.9073 to 0.9965.

(Key words : Genetic similarity, Local and crossed quail, *PCR-RAPD*).

Pendahuluan

Perkembangan peternakan puyuh di Indonesia khususnya di Daerah Istimewa Yogyakarta dewasa ini cukup mengembirakan. Hal ini dapat dilihat dari tingginya animo masyarakat untuk beternak puyuh. Usaha peternakan puyuh sudah mulai dikelola secara intensif, bahkan sudah ada perusahaan yang mengembangkan peternakan puyuh ini dalam skala industri, dengan melakukan kegiatan dari hulu sampai hilir, mulai dari pengadaan bibit, pakan, proses produksi dan pemasaran dengan melibatkan peternak melalui sistem kemitraan.

Upaya peningkatan produktivitas puyuh oleh peternak baik skala kecil maupun besar terus diupayakan, yaitu dengan peningkatan mutu genetik. Upaya yang telah dilakukan antara lain adalah perkawinan silang antar populasi puyuh lokal dengan puyuh dari negara lain dengan tujuan mendapatkan produktivitas telur (untuk puyuh petelur) dan

daging (untuk puyuh pedaging) yang lebih baik. Bahkan peternakan puyuh skala industri sudah sampai tahap melakukan *grading up* dengan jalan mendatangkan tetua atau *parent stock* dari negara yang memiliki bibit puyuh yang produktivitasnya tinggi.

Puyuh lokal yaitu puyuh yang sudah lama dipelihara di masyarakat seringkali tidak terkontrol sistem perkawinannya. Hal ini dapat menimbulkan masalah di kemudian hari yaitu terjadinya penyimpangan genetik seperti tingginya tingkat *inbreeding*. Sedangkan puyuh hasil silangan diharapkan dapat meningkatkan keragaman genetiknya sehingga dapat memberikan peluang besar bagi seleksi. Upaya-upaya untuk mencegah terjadinya penyimpangan tersebut belum banyak dilakukan baik oleh peternak berskala kecil maupun industri bahkan instansi terkait seperti Dinas Peternakan dan lembaga yang terkait.

Keanekaragaman merupakan suatu fenomena normal pada makhluk hidup. Studi

atau kajian keragaman genetik secara prinsip bertujuan untuk mengkaji komposisi genetik individu dalam atau antar populasi. Dengan demikian maka kesamaan genetik (*genetik similarity*) di antara individu dan antar populasi juga dapat diketahui. Secara umum, keanekaragaman genetik pada suatu populasi dapat terjadi karena gen mengalami mutasi, rekombinasi, dan perpindahan sekelompok populasi dari suatu tempat ke tempat yang lain (Griffiths *et al.*, 1996). Beberapa faktor seperti populasi, cara reproduksi individu yang diteliti, aliran gen, dan seleksi sangat mempengaruhi struktur genetik dari suatu populasi (Mc Donald dan Mc Dermott, 1993). Keanekaragaman genetik suatu populasi ternak dapat diamati pada tingkat protein (isoenzim) dan tingkat DNA. Analisis isoenzim pada prinsipnya merupakan teknologi pengkajian keragaman berdasarkan variasi asam amino pada protein yang mengandung fungsi katalik yang sama. Analisis isoenzim pada akhirnya bertujuan untuk mendeteksi keragaman rantai DNA yang mengkode pembentukan protein tersebut. Kesamaan genetik dapat diketahui berdasarkan *band sharing frequency (BSF)*. Metode yang sering dipakai adalah berbasis *Polymerase Chain Reaction-RAPD (PCR-RAPD)* (Weising *et al.*, 1994). Keragaman genetik dapat juga diketahui berdasarkan *band sharing* hasil amplifikasi DNA menggunakan *PCR-RAPD*, nilai BSF yang rendah menunjukkan keragaman genetik yang besar dan kesamaan genetik yang kecil (Katrina, 2003). Keragaman terjadi karena masing-masing individu memiliki urutan DNA yang berbeda, dan hal ini dapat dipakai untuk mempelajari keragaman dan kesamaan genetik di antara organisme. Metode *PCR (Polymerase Chain Reaction)* pertama kali dikembangkan oleh Kary Mulis pada tahun 1985, seorang peneliti dari perusahaan Cetus Corporation (Innis *et al.*, 1990, disitasi oleh Katrina, 2003). Selanjutnya beberapa teknik baru dikembangkan untuk analisis polimorfisme dengan basis *PCR* antara lain *Random Amplified Polymorphic DNA*

(*RAPD*). Metode ini menganalisis DNA secara langsung. Pola yang dihasilkan merupakan pola sidik jari DNA dengan variabel yang kompleks dan pola tersebut dapat digunakan untuk membedakan genotip (Williem *et al.*, 1990; Weising *et al.*, 1994). Metode ini dapat diterapkan pada tanaman (Multani dan Lyon, 1995), serangga (Utari, 1999), dan unggas (Plotsky *et al.*, 1995; Smith *et al.*, 1996; Crittenden *et al.*, 1993). Teknik *PCR-RAPD* oleh Ali *et al.* (2003) telah dipakai untuk mendeteksi kesamaan genetik diantara lima strain ayam lokal yang diseleksi terhadap produksi daging dan telur. Teknik ini oleh Sharma *et al.* (2000) telah dipakai juga untuk mendeteksi kesamaan genetik dalam dan antar populasi puyuh di New Delhi yang ditunjukkan dengan nilai BSF dalam populasi sebesar 0,726 sampai 0,836 dan antar populasi sebesar 0,709 sampai 0,808.

RAPD merupakan suatu metode yang banyak digunakan untuk karakteristik genetica populasi, studi evolusi, identifikasi strain, analisis *inbreeding*, serta studi keragaman dan kesamaan genetik (Albustan *et al.*, 2001). Metode *RAPD* menggunakan oligonukleotida pendek yang dinyatakan sebagai primer. Selanjutnya tempat perlekatan primer adalah urutan nukleotida yang dapat dikenal oleh suatu primer. Primer yang digunakan untuk *RAPD* tidak dirancang untuk mengamplifikasi urutan DNA target yang spesifik sehingga lokus yang diamplifikasi sekitar 0–30 macam produk amplifikasi (Grosberg *et al.*, 1996). Keuntungan teknik *RAPD* adalah mampu menganalisis variasi genom suatu species dengan cepat dan efisien (Haymer 1995, disitasi oleh Katrina, 2003). Teknik ini mampu menyelesaikan tahapan kerja dari ekstraksi DNA sampai dokumentasi dalam waktu lebih kurang 24 jam.

Penelitian ini bertujuan untuk melihat seberapa besar kesamaan genetik dalam dan antar populasi puyuh lokal dan silangan yang diambil dari dua populasi puyuh di wilayah DIY berdasarkan nilai BSF menggunakan teknik *PCR-RAPD*.

Materi dan Metode

Materi penelitian ini adalah sampel DNA genom puyuh yang diambil dari dua populasi puyuh yaitu populasi puyuh lokal dan populasi puyuh silangan. Puyuh lokal yang dimaksud adalah populasi puyuh yang terbentuk dari beberapa generasi hasil perkawinan antar populasi puyuh lokal, sedangkan puyuh silangan adalah puyuh yang dihasilkan dari perkawinan beberapa generasi antara puyuh lokal dengan puyuh yang datang dari negara lain. Masing-masing populasi dipilih 10 ekor puyuh untuk diambil sampel darahnya

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan untuk beberapa tahapan proses yaitu 1) ekstraksi DNA terdiri dari EDTA, tris, SDS, dithiothreitol, proteinase-K, fenol, CIAA, natrium asetat, etanol, dan TE; 2) bahan untuk visualisasi DNA hasil ekstraksi dan produk PCR terdiri dari gel agarose, TAE, dan etidium bromide; dan 3) bahan untuk analisis PCR-RAPD sampel terdiri dari dH₂O filter steril, primer, *Ready to go PCR*, dan *DNA Marker*.

Alat yang digunakan meliputi tabung konikal, tabung ependorf, vortex, sentrifuse, freezer -20°C, pipet mikro, mesin PCR thermocycler, alat untuk elektroforesis (Mupid 2), spektrofotometer, timbangan analitik, pH meter, Stirer magnet, waterbath, lampu UV, dan alat untuk foto Polaroid.

Pengambilan sampel

Sampel darah sebanyak 2 ml diambil dari vena bawah sayap 10 ekor puyuh dari masing-masing populasi dengan menggunakan syringe 1 cc/ml yang sudah berisi EDTA. Agar darah tercampur dengan EDTA tabung digoyang perlahan, kemudian dimasukkan ke dalam termos es dan dibawa ke laboratorium.

Ekstraksi DNA darah

Ekstraksi DNA dilakukan untuk mendapatkan sampel DNA genom. Sebanyak 1 ml darah yang telah tercampur dengan EDTA dipindah ke dalam tabung konikal 10 ml dan ditambah 4 ml *buffer lysis* dan 5 µl proteinase-K 20 mg/ml, lalu digoyang selama 1 jam.

Selanjutnya ditambah fenol dengan perbandingan 1 : 1, digoyang selama 30 menit, lalu disentrifus 2800 rpm selama 15 menit. Selanjutnya diambil supernatan (bagian atas yang bening) dimasukkan ke dalam konikal, lalu ditambahkan 1/10 volume supernatan 3 M Na asetat dan etanol absolut dengan perbandingan 1 : 1. Kemudian didinginkan pada suhu -80°C selama 1 jam. Setelah itu, disentrifuse. Selanjutnya pellet yang diperoleh dicuci dengan etanol 70 % dan dikeringkan di laminar. Setelah kering, ditambah 75 µl TE kemudian disimpan pada suhu 4°C selama semalam. Sampel DNA siap dipakai untuk proses lebih lanjut.

Amplifikasi DNA puyuh dengan PCR-RAPD

Sampel DNA genom hasil ekstraksi selanjutnya diamplifikasi menggunakan teknik PCR-RAPD. Primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6 random primer yang akan dicari mana yang memberikan hasil amplifikasi terbaik. Primer yang dipergunakan terdiri dari 10 basa.

Program PCR diawali dengan denaturasi awal pada suhu 95°C selama 4 menit, denaturasi siklus dengan suhu 94°C selama 1 menit, *annealing* dengan suhu 35°C selama 1 menit, polimerisasi dengan suhu 72°C selama 2 menit, polimerisasi akhir dengan suhu 72°C selama 10 menit, selanjutnya dipertahankan pada suhu 4°C selama 5 menit. Total siklus yang dilakukan sebanyak 45 kali. Tabung disimpan pada freezer -20°C sampai dilakukan elektroforesis dan dokumentasi.

Elektroforesis produk PCR

Hasil amplifikasi DNA selanjutnya dipisahkan berdasarkan berat molekulnya dengan menggunakan 2 gram gel agarose dalam 100 ml buffer TAE 1 x. Pewarnaan dilakukan dengan menambahkan 4 µl etidium bromide pada gel agarose, lalu dituang ke dalam cetakan yang sudah ada sisirnya. Sisir diambil apabila gel sudah mengeras, lalu dituangi dengan ± 250 ml TAE 1 x. Sampel DNA diberi larutan *blue juice* dengan perbandingan 5:2. Selanjutnya, sampel dimasukkan ke dalam sumuran elektroforesis.

Di samping itu, juga dipasang marker "Directload Wide Range DNA Marker" sebagai molekul standar. Elektroforesis dijalankan pada tegangan 50 volt selama 60 menit.

Pengamatan pita-pita DNA dilakukan di bawah sinar UV, kemudian dilakukan pemotretan dengan film polaroid.

Analisis statistik hasil elektroforesis

Pita-pita yang muncul dari hasil elektroforesis dianalisis secara statistik dengan menggunakan metode BSF. Hasil perhitungan BSF ini dipakai untuk menghitung kesamaan genetik dalam dan antar populasi puyuh lokal dan silangan. Untuk menghitung nilai BSF dalam populasi (antar individu dalam populasi) dihitung dengan formula sbb:

$$B_{ab} = 2b_{ab} / (b_a + b_b)$$

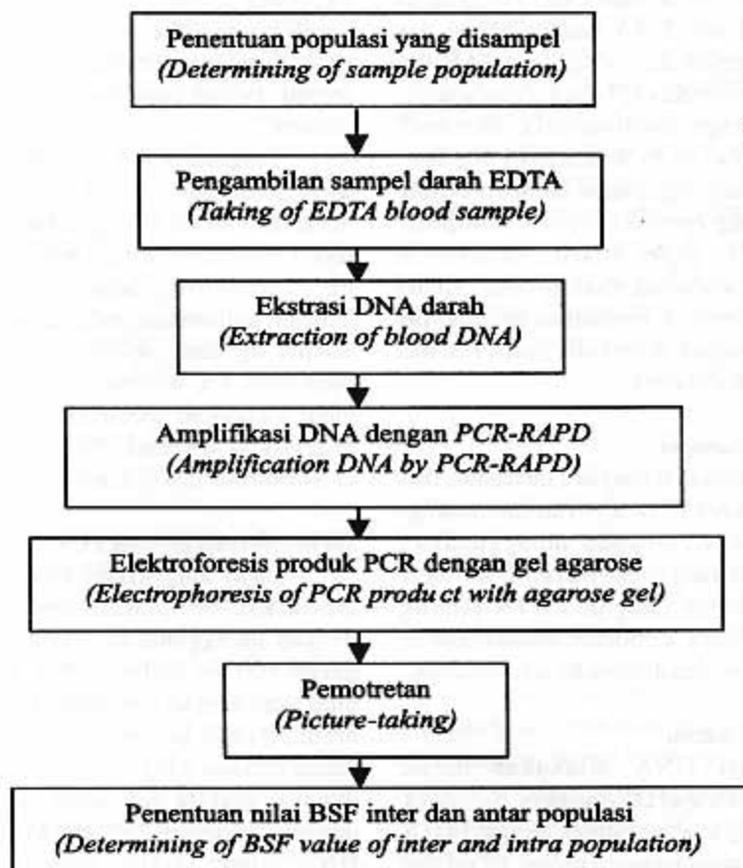
Di mana b_a dan b_b adalah jumlah pita yang dijumpai pada individu a dan b. b_{ab} adalah jumlah pita yang sama antara individu a dan b. BSF di dalam populasi (B) merupakan rata-rata B_{ab} dari seluruh kemungkinan pasangan antara individu-individu di dalam populasi (Lynch, 1990).

Nilai BSF antar individu antar populasi (B') dihitung dengan formula sebagai berikut :

$$B' = 1 + B_{xy} - 0.5(B_x + B_y)$$

Di mana B_x dan B_y merupakan nilai B pada populasi x dan y, dan B_{xy} merupakan rata-rata *band sharing* antara individu-individu pada populasi x dan y yang dibandingkan.

Secara lengkap alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir penelitian (Diagram of research flow)

Hasil dan Pembahasan

Hasil ekstraksi DNA

DNA genom yang diperoleh cukup bersih sehingga memenuhi syarat jika digunakan dalam analisis PCR-RAPD. Tidak semua sampel DNA yang diperoleh dipakai untuk analisis PCR-RAPD, hanya 2 μ l untuk tiap sampel. Sisa DNA selanjutnya disimpan pada suhu -20° C.

Pemilihan primer

Optimasi primer pada penelitian ini menggunakan sampel DNA puyuh lokal sampel nomor 10. Enam primer yang diseleksi pada penelitian ini semua berhasil melakukan amplifikasi DNA, namun hanya 5 primer yang menghasilkan produk amplifikasi yang jelas dan konsisten yaitu PET-1, PET-2, PET-3, PET-4 dan PET-5. Optimasi primer seperti ini juga dilakukan oleh Smith *et al.* (1996) yang menyeleksi 60 primer dan memilih 6 primer yang dapat menghasilkan produk yang jelas untuk menganalisis kekerabatan dan keragaman pada

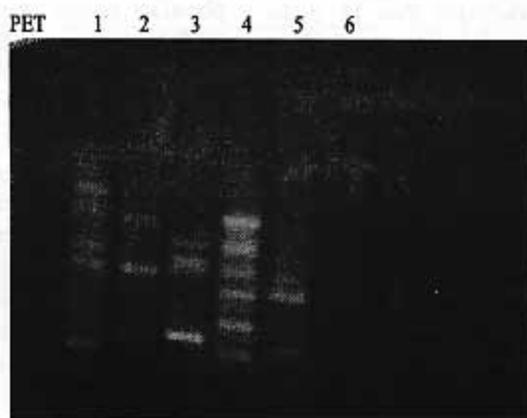
ayam dan kalkun. Seleksi primer juga dilakukan oleh Ali *et al.* (2003) untuk menganalisis kesamaan genetik pada strain ayam. Demikian juga Sharma *et al.* (2000) yang melakukan seleksi terhadap 20 primer dan hanya 6 primer yang menghasilkan produk yang jelas

Pita yang dihasilkan dengan primer PET-6 terlihat samar-samar dan kemunculannya kurang konsisten sehingga tidak digunakan dalam penelitian ini. Hasil amplifikasi enam primer dapat dilihat pada Gambar 2.

Analisis hasil PCR-RAPD

Hasil PCR-RAPD adalah berupa pola sidik jari DNA dengan jumlah dan berat molekul yang berbeda untuk masing-masing primer. Pita dengan ukuran *basepair* tertentu yang tidak selalu muncul pada seluruh individu disebut pita yang bersifat polimorfis, sedangkan pola yang selalu muncul pada setiap individu disebut sebagai pita monomorfis.

Analisis hasil PCR-RAPD dilakukan dengan 2 cara yang saling berkaitan satu sama lain yaitu secara kualitatif dan kuantitatif.



Gambar 2. Elektroforegram PCR-RAPD sampel DNA puyuh lokal dengan 6 primer PET1, PET2, PET3, PET4, PET5 dan PET6. (*Electrophoregram of DNA sampel local quail by PCR-RAPD with primer PET1, PET2, PET3, PET4, PET5 and PET6*).

Tabel 1. Jumlah total pita dan pita polimorfik primer RAPD
(Total bands and RAPD primer polymorphic bands)

Primer	Urutan basa (Base sequencing)	Total pita (Total of bands)	Pita polimorfik (Band of polymorphic)		Ukuran (bp) (Size(bp))
			Lokal	Silangan	
			(Local bred)	(Crossed bred)	
PET-1	gaaacgggtg	11	10	11	100-5000
PET-2	tcggcgatag	8	8	6	150-4150
PET-3	gaccgcttgt	6	6	5	350-3100
PET-4	aacgcgtgg	9	9	8	100-3500
PET-5	tctggcgcac	7	5	5	200-2000

Analisis kualitatif

Analisis kualitatif dilakukan dengan menganalisis pita-pita yang unik, spesifik dan khas. Pita-pita dengan ukuran tertentu yang hanya dimiliki individu-individu anggota populasi tertentu merupakan pita spesifik. Pita-pita yang teramplifikasi diberi nilai 1, sedangkan yang tidak teramplifikasi diberi nilai 0.

Jumlah total pita dan pita polimorfis yang terbentuk baik pada populasi lokal maupun silangan pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1.

Elektroforesis hasil PCR-RAPD dengan primer PET 1 menghasilkan 11 pita dengan ukuran fragmen berkisar antara 100-5000 basepair (Gambar 3) dengan pita polimorfik 10 pada populasi puyuh lokal dan 11 pada populasi puyuh silangan. Tabel 2 menunjukkan bahwa hampir seluruh pita bersifat polimorfik. Dari 41 pita yang terbentuk, 38 untuk puyuh lokal (93%) dan 35 untuk puyuh silangan (85%) berupa pita polimorfik.

Hasil ini menunjukkan bahwa pola sidik jari yang terbentuk memiliki keragaman yang cukup tinggi baik pada populasi puyuh lokal maupun silangan. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Sharma *et al.* (2000) yang menghasilkan 60 pita dengan hanya 19 pita yang bersifat polimorfik dengan primer yang sama. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan antar individu yang diteliti memiliki perbedaan dalam kemurnian darah, *subsequent selected*, dan *breeding history* (Sharma *et al.*, 2000).

Analisis kuantitatif

Analisis kuantitatif dilakukan dengan menghitung nilai BSF antar individu di dalam

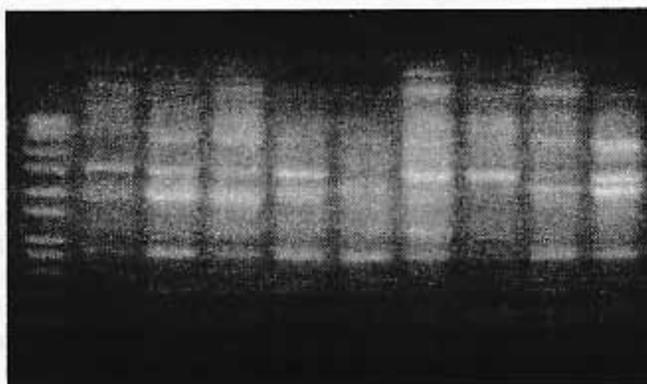
populasi dan antar populasi. Pada tabel 2 dapat dilihat nilai BSF antar individu dalam populasi baik populasi lokal dan silangan berkisar antara 0,6111 sampai 0,7544 dan 0,5559 sampai 0,7883.

Nilai BSF yang relatif tidak besar ini mengindikasikan kesamaan genetik pada kedua populasi relatif kecil atau dengan kata lain keragaman genetik pada kedua populasi relatif besar. Keragaman yang relatif besar dan kesamaan genetik yang relatif kecil ini kemungkinan timbul adanya introduksi genetik dari luar populasi bahkan dari populasi negara lain.

Hasil penelitian ini menunjukkan kesamaan genetik antar individu dalam populasi puyuh lokal lebih kecil dibandingkan populasi puyuh silangan yaitu dengan nilai BSF berturut-turut 0,647 dan 0,722. Hal ini diduga antar individu dalam populasi puyuh lokal mempunyai pertalian genetik yang relatif jauh dibanding antar individu dalam populasi puyuh silangan. Puyuh pada populasi lokal berasal dari pusat pembibitan komersial yang terus melakukan seleksi pada setiap generasi sehingga keragaman tetap terjaga. Hasil ini sesuai dengan pendapat Ye *et al.* (1998). Di samping itu, lebih tingginya nilai BSF antar individu dalam populasi silangan berdasarkan catatan dan informasi dari tempat pembibitan yang dipakai dalam penelitian disebabkan pejudan impor yang dipakai untuk mengintroduksi populasi yang ada kurang terkontrol penggunaannya sehingga menyebabkan keragaman menurun.

Nilai BSF antar populasi puyuh lokal dan silangan pada Tabel 3 menunjukkan nilai

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9



Gambar 3. Elektrofogram PCR-RAPD sampel DNA puyuh lokal dengan primer PET1 (*Electrophogram PCR-RAPD of DNA sampel of Local Quail with PET1 primer*).

Tabel 2. Nilai BSF antar individu dalam populasi (*BSF value of inter individu in population*)

Populasi (<i>Population</i>)	Primer					Mean
	PET 1	PET 2	PET 3	PET 4	PET 5	
Lokal (<i>Local</i>)	0,6211	0,613	0,6354	0,6111	0,7544	0,647
Silangan (<i>Crossed</i>)	0,5559	0,7883	0,7153	0,7714	0,7792	0,722

Tabel 3. Nilai BSF antar populasi puyuh lokal dan silangan (*BSF value of local and crossed bred quail population*)

Primer	BSF
PET 1	0,9198
PET 2	0,9073
PET 3	0,9698
PET 4	0,9477
PET 5	0,9965
Mean	0,9482

yang relatif tinggi. Hal ini mengindikasikan kesamaan genetik antar dua populasi tersebut cukup besar dengan rata-rata nilai BSF dengan 5 primer sebesar 0,9482. Tingginya nilai BSF ini disebabkan individu-individu antar populasi tersebut nenek moyangnya berasal dari pusat pembibitan yang sama.

Kesimpulan

Secara umum kesamaan genetik dalam populasi (antar individu dalam populasi) baik populasi lokal maupun silangan tidak berbeda

dan relatif kecil. Hal ini ditunjukkan dengan nilai BSF yang berkisar antara 0,6111 sampai 0,7544 untuk populasi lokal dan 0,5559 sampai 0,7883 untuk populasi silangan. Sedangkan kesamaan genetik antar populasi cukup besar yaitu berkisar antara 0,9073 sampai 0,9965.

Daftar Pustaka

- Albustan, S. A., M. A. Alnaqeeb, N. Y. Murad and A. F. Al-Alawi. 2001. Genetik Variation of Inbreed Laboratory Rats by RAPD-PCR. *Kuwait J. Sci. Eng.* 28 (2): 391-400.

- Ali, B. A., Ahmed, M. M. M., Osama M. A. 2003. Relationship Between Genetic Similarity and Some Productive Traits in Local Chicken Strain. *African J. of Biotechnology*. Vol 2 (2), pp. 46-47.
- Brown, T. A. 1991. Pengantar Kloning Gen (Terjemahan). Yayasan Esentia Medica, Yogyakarta.
- Cargill, S. L., G.B. Anderson, J. F. Medrano. 1995. Development of Species Specific Marker Using RAPD Analysis to Distinguish Between Sheep and Goats. *Anim. Biotechnol.* 6: 93 – 100.
- Crittenden, L. B., L. Provencher, L. Santangelo, I. Levin, H. Abplanalp, R.W. Briles, W. E. J. B. Dodgson. 1993. Characterization of Red Jungle Fowl by White Leghorn Backcross Reference Population for Molecular Mapping of Chicken Genome. *Poultry Sci.* 72: 334 – 348.
- Griffith, A. J. F., J. H. Miller, D. T., Suzuki, R. C. Lewontin and W. M. Gelbert. 1996. An Introduction of Genetik Analysis. W.H. Freeman and Co. New York.
- Grosberg, R. K., D. R. Leviton and B. B. Comeron. 1996. Characterization of Genetics Structure and Genealogis RAPD-PCR Marker. A Random Primer for the Novice and Nervous. di Dalam : J. D. Ferraris and S. R. Palumbi. *Molecular Zoology Advances, Strategies and Protocols*. John Wiley and Son Inc. Publ. New York.
- Katrina, A. 2003. Studi Pertalian Genetik Kambing Lokal Berdasarkan Analisis Polimorfisme dengan *PCR-RAPD*. Tesis. Program Studi Bioteknologi, UGM, Yogyakarta.
- Koh, M. C., C. H. Lim, S. B. Chua, S. T. Chew, S.T.w. Phang. 1998. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Fingerprint for Identification of Red Meat Animal Species. *Meat Sci.* 48: 275-285.
- Lynch, M. 1990. The Similarity Index and DNA Fingerprinting. *Mol. Biol. Evol.* 7: 478 – 484.
- Mc. Donald, B. A. and J. M. Mc Dermott. 1993. Population Genetik of Plant Pathogenic Fungi, Electroporetic Marker Give Unprecedented Precision to Analysis of Genetik Structure of Population. *Bio Science* 43: 311-319.
- Multani, D. S. and B. J. Lyon. 1995. Genetik Fingerprinting of Australian Cotton Cultivators with RAPD Marker. *Genome* 38: 1005-1008.
- Plotsky, Y., M. G. Kaiser and S. J. Lamont. 1995. Genetik Characterization of Higly Inbreed Chicken Lines by Two DNA Methods : DNA Fingerprinting and Polymerase Chain Reaction Using Arbitrary Primers. *Anim Genet.* 26: 163-170.
- Sharma, D, Rao, K. B. C. A and Totey Sm. 2000. Measurement of Within and Between Population Genetic Variability in Quails. *British Poultry Science* 41: 29-32.
- Smith, E. J., C. P. Jones, J. Barlett and K. E. Nestor. 1996. Use of Randomly Amplified Polymorphic DNA Markers for the Genetik Analysis of Relatedness and Diversity in Chickens and Turkeys. *Poultry Sxi.* 75: 579-584.
- Utari, S. 1999. Analisis Variasi Genetik *Anopheles subpictus* (Diptera: *Culicidae*) di Sekitar Yogyakarta Dengan RAPD-PCR. Tesis. Program Studi Bioteknologi, UGM, Yogyakarta.
- Weising, K., H. Nybom, K. Wolf, W. Meyyer. 1994. DNA Fingerprinting in Plants and Fungi. CRC Press. Florida, USA.
- Wiliem, J. G. K., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Ravalski, S.V. Tingey. 1990. DNA Polymorphism Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetik Markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.
- Ye, X., J. Zhu, S. G. Velleman, W. L. Bacon and K. E. Nester. 1998. Measurement of Genetic Variation Within and Between Jappnese Quail Lines Using DNA Fingerprinting. *J. Poult. Sci* 77:1755-1758.