

Optimasi Polymarease Chain Reaction Fragmen 784 pb Gen Pituitary Transcription Factor-1 pada Sapi Pogasi untuk Meningkatkan Produk Amplifikasi

(Polymerease Chain Reaction Optimisation of 784 pb Fragment of Pituitary Transcription Factor-1 Gene in Pogasi Cattle to Increase Amplification Product)

Dewi Khosiya Robba^{1*}, Sulistiyoningtiyas Irmawanti¹, Tika Anggraeni², Rina Ariyanti¹, Dyah Tuwi Ramsiati¹, Wahyuni Indah Wulansari¹

¹Pusat Riset Peternakan, Organisasi Riset Pertanian dan Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jl. Raya Jakarta-Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16915

²Direktorat Pengelolaan Laboratorium Fasilitas Riset Kawasan Sain dan Teknologi, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Jl. M.H Thamrin Nomor 8, Jakarta Pusat, Indonesia 10340

*Corresponding author: dewi059@brin.go.id

Abstrak. Permasalahan produktivitas sapi potong pogasi mengakibatkan siklus produksi susu tidak optimal sehingga pedet kesulitan untuk tumbuh dengan baik dan induk susah mengalami kebuntingan, maka diperlukan metode penelitian molekuler *invitro* dengan optimasi polymarease chain reaction gen pituitary transcription factor-1 pada sapi pogasi untuk meningkatkan produk amplifikasi agar mencegah permasalahan reproduksi. Penelitian menggunakan sampel DNA sapi Pogasi dengan metode ekstraksi DNA dari darah sapi Pogasi, Amplifikasi gen (PIT1) dengan metode Optimasi (PCR) dan memisahkan fragmen DNA dengan elektroforesis kemudian divisualisasikan menggunakan UV transilluminator. 10 sampel darah sapi Pogasi yang sudah terekstraksi dengan baik ditandai dengan adanya pita DNA yang tebal, terang dan sesuai target pada gel agarose. Suhu *annealing* pada proses optimasi (PCR) gen (PIT1) yang digunakan untuk menempelkan pada primer *forward* 5'CCC TGG TTC TTT CCT TTG GC-3' dan primer *reverse* 5'ACA GGA AGG ATA AGC AGA GGG-3' adalah 55oC, 56oC, 57oC, 58oC, 59oC, 60oC, 61oC, dan 62oC. Hasil amplifikasi dielektroforesis selama 30 menit dan 100 volt yang kemudian divisualisasikan dengan UV transilluminator dengan hasil suhu annealing optimal di suhu 57 oC dengan target fragmen 784pb.

Kata kunci: Optimasi PCR, Pogasi, TIP1, Amplifikasi

Abstract. The productivity problem of pogasi beef cattle results in the milk production cycle not being optimal so that the calf has difficulty growing well and the mother has difficulty getting pregnant, so *invitro* molecular research methods are needed by optimizing the polymarease chain reaction of the pituitary transcription factor-1 gene in pogasi cattle to increase the amplification product to prevent reproductive problems. The research used Pogasi cattle DNA samples using the DNA isolation method from Pogasi cattle blood, gene amplification (PIT1) using the Optimization method (PCR) and separating DNA fragments by electrophoresis then visualizing using a UV transilluminator. 10 well-extracted Pogasi cattle blood samples were characterized by the presence of thick, bright and targeted DNA bands on the agarose gel. The annealing temperature of the optimization process (PCR) gene (PIT1) is used for attaching to the forward primer 5'CCC TGG TTC TTT CCT TTG GC-3' and the reverse primer 5'ACA GGA AGG ATA AGC AGA GGG-3' are 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, and 62oC. The amplification results were electrophoresed for 30 minutes and 100 volts and then visualized using a UV transilluminator with optimal annealing temperature results at 57 °C with a target fragment of 784pb.

Keywords: PCR Optimization, Pogation, TIP1, Amplification

1. Pendahuluan

Sapi Peranakan Onggole Grati (Pogasi) merupakan sapi hasil proses seleksi agrinak, yang pada saat ini mengalami penurunan produktivitas dan mutu genetik sehingga perlu adanya upaya untuk mempertahankan hal tersebut. Produksi susu merupakan salah satu penurunan produktivitas pada sapi pogasi. Permasalahan produktivitas pada sapi potong pogasi mengakibatkan siklus reproduksi dan produksi susu tidak optimal dan tidak terjaga normal sehingga susah untuk mengalami kebuntingan dan pedet kesulitan untuk tumbuh dengan baik. Peningkatan pemuliaan sapi potong diperlukan untuk meningkatkan populasi dan produktivitas sapi potong untuk menghasilkan susu sehingga pedet mendapatkan asupan susu dari induk dengan baik.

Sifat produksi susu dikontrol dengan gen *pituitary transcription factor 1* (PIT1) [1]. Gen *pituitary transcription factor 1* adalah gen yang memiliki fungsi untuk pengaturan kelenjar pituitary mamalia untuk mengekspresikan hormon [2]. Pituitari dapat menghasilkan hormon yang mengatur sistem reproduksi dan pertumbuhan [3]. Gen *pituitary transcription factor 1* terletak di kromosom 1 atau Bos taurus autosome 1 dengan nomor ID 282315 [4]. Gen *pituitary transcription factor 1* memiliki Panjang sebesar 18093 basa nukleotida, dengan 6 ekson dan 5 intron [5]. Gen *pituitary transcription factor 1* dapat memiliki hubungan dengan produksi susu pada sapi potong pogasi.

Salah satu upaya untuk meningkatkan produktivitas ternak dapat dilakukan seleksi ternak pemuliaan dengan mendeteksi adanya gen PIT1 pada sapi potong pogasi yang dilakukan dengan Teknik polymerase chain reaction. Metode polymerase chain reaction dilakukan untuk mengamplifikasi fragmen berukuran 784 pb gen PIT1. Tujuan penelitian ini mengoptimasi tahap PCR agar produk amplifikasi meningkat dan diperoleh pita band yang jelas dan tebal. Proses optimasi gen PIT1 meliputi pengoptimalkan dengan variasi suhu dan waktu annealing.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian Optimasi Polymarease Chain Reaction Fragmen 784 Pb Gen Pituitary Transcription Factor-1 pada Sapi Pogasi untuk Meningkatkan Produk Amplifikasi dilaksanakan dengan rentan waktu selama 3 bulan dari bulan Maret hingga Mei 2024 yang berlokasi di Laboratorium Kawasan Konservasi Ilmiah Kebun Raya Purwodadi, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Kabupaten Pasuruan, Provinsi Jawa Timur.

2.2 Materi dan Alat Penelitian

Materi yang digunakan untuk kegiatan penelitian Optimasi Polymarease Chain Reaction Fragmen 784 Pb Gen Pituitary Transcription Factor-1 pada Sapi Pogasi untuk Meningkatkan Produk Amplifikasi ada beberapa bahan materi namun sebelum proses amplifikasi DNA dengan tahap optimasi PCR dilakukan terlebih dahulu metode ekstraksi DNA pada darah sapi pogasi kemudian di elektroforesis dan divisualisasi untuk mengetahui bahwa DNA pada sapi pogasi sudah terekstrak dengan sempurna.

Pada tahap ekstraksi DNA diperlukan beberapa materi bahan antara lain proteinase kalium, etanol 96%, wash buffer, W1 buffer, GSB buffer, aquadest, dan elution buffer. Pada tahap elektroforesis diperlukan beberapa materi bahan antara lain agarose 1,5%, flourosafe DNA stain, loading dye blue, hyperladder 100bp, TBE 10x yang diencerkan menjadi TBE 1x, parafilm, dan aquadest. Pada tahap amplifikasi DNA dengan optimasi PCR diperlukan bahan berupa sepasang primer gen PIT1 dengan primer forward 5'CCC TGG TTC TTT CCT TTG GC-3' dan primer reverse 5'ACA GGA AGG ATA AGC AGA GGG-3', RNase free water dan Mytaq HS Red MIX 2x 200 reaction.

Alat – alat yang digunakan pada penelitian Optimasi Polymarease Chain Reaction Fragmen 784 Pb Gen Pituitary Transcription Factor-1 pada Sapi Pogasi untuk Meningkatkan Produk Amplifikasi meliputi neraca analitik, vortex, sentrifuge, mesin *polymerase chain reaction*, *beaker glass*, gelas ukur, mikropipet, incubator, elektroforesis unit, UV transilluminator atau gelldoc, white tip 10 µl, yellow tip 200 µl, blue tip 1000 µl, *tube* 1,5 ml, *tube eppendoft* 0,2 ml, Erlenmeyer, *microwave*, mikropipet dengan ukuran 10 µl; 200 µl; 1000 µl, rak tip, dan rak tube 0,2 ml.

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Ekstraksi DNA darah sapi Pogasi

Prinsip ekstraksi DNA dibagi menjadi beberapa bagian diantaranya proses penghancuran, kemudian memisahkan DNA dari protein dan selulosa, dan yang terakhir proses pengikatan DNA [6]. Proses ekstraksi DNA dapat menggunakan gSYNCTM DNA Extraction dari Genetika Science dengan proses pertama memipet sebanyak 200 µl darah sapi pogasi dari tube EDTA dimasukan ke tube eppendorf 1,5 ml dengan ditambahkan 20 µl Proteinase Kalium kemudian dilakukan inkubasi selama 5 menit dengan suhu 60°C. Proses selanjutnya penghancuran dengan ditambahkan Buffer GSB sebanyak 200µl yang diinkubasi selama 5 menit dengan suhu 60°C selanjutnya penambahan etanol 96% sebanyak 200 µl dan dihomogenkan dengan cara divortex hingga tercampur dengan sempurna. Kemudian sampel ekstraksi dipindahkan ke GS Columns dan disentrifuge selama 2 menit pada suhu 25°C dengan kecepatan 12.000 rpm. Proses selanjutnya memisahkan DNA dengan penambahan Buffer W1 sebanyak 400 µl dan dilakukan sentrifuge selama 30 detik pada suhu 25°C dengan kecepatan 12.000 rpm. Kemudian ditambahkan Wash Buffer sebanyak 600 µl ditambahkan dan dilakukan sentrifuge selama 30 detik pada suhu 25°C dengan kecepatan 12.000 rpm. Kemudian disentrifuge ulang selama 3 menit pada suhu 25°C dengan kecepatan 12.000 rpm untuk memastikan tidak ada pengotor yang tertinggal. Isolat pada GS column ditaruh diatas eppendorf 1,5 ml kemudian ditambahkan elution buffer sebanyak 150 µl yang diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 menit dan tahap akhir dilakukan sentrifuge dengan selama 30 detik dengan suhu 25°C pada kecepatan 12.000 rpm.

2.3.2 Amplifikasi gen PIT

Gen PIT1 diamplifikasi menggunakan gen PIT1 dengan primer forward 5'CCC TGG TTC TTT CCT TTG GC-3' dan primer reverse 5'ACA GGA AGG ATA AGC AGA GGG-3'. Tahapan amplifikasi dengan metode optimasi PCR dilakukan dengan menambahkan MytaqHS Redmix sebanyak 7,5 µl kedalam tube ependorf 1,5 ml yang dicampurkan dengan RNase free water sebanyak 5,4 µl, DNA sebanyak 1,5 µl, primer *rivers* gen PIT1 sebanyak 0,3 µl, dan ditambahkan primer *forward* gen PIT1 sebanyak 0,3 dengan total 15 µl. Tahapan amplifikasi gen PIT1 dengan proses optimasi PCR dilakukan dengan beberapa tahapan seperti *pra denaturasi* selama waktu 1 menit dengan suhu 94 °C, tahapan *denaturasi* selama 15 detik dengan suhu 95 °C, tahapan *annealing* selama 15 detik dengan suhu 54 °C sampai 61 °C, tahapan *extension* selama 10 detik dengan suhu 72 °C dan tahapan *post-extension* selama 5 menit dengan suhu 72 °C dan tahapan terakhir dengan suhu 12 °C. Tahapan *denaturasi* sampai *extension* menggunakan siklus 35x.

2.3.3 Proses elektroforesis

Proses elektroforesis dilakukan dengan membuat gel agarose 1,5 % terlebih dahulu dengan cara menimbang 1,000 gram agarose yang dicampur dengan 40 ml TBE1x dan ditambahkan 2 µl florouSAFE DNASTAIN kemudian dimasukan kedalam microwave selama 1 menit. Gel agarose dengan kondisi hangat dituang ke tray elektroforesis dan memasang sisir cetakan. Masukan kurang lebih 300 ml TBE1x kedalam wadah elektroforesis unit dan gel agarose dimasukan ke elektroforesis. Kemudian produk amplifikasi optimasi PCR dimasukan kedalam gel agarose dan menambahkan campuran loading dye sebanyak 1 µl dan hyperladder 100 bp sebanyak 5 µl dengan tegangan 100 volt selama 30 menit pada mesin elektroforesis. Hasil amplifikasi optimasi PCR pada proses elektroforesis divisualisasi menggunakan UV Transiluminator.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Ekstraksi DNA pada Sapi Pogasi

Sampel berupa darah sapi pogasi yang diambil dari sapi Pogasi di wilayah Kecamatan Grati Kabupaten Pasuruan yang kemudian dilakukan ekstraksi untuk mendapatkan DNA, Adapun sampel yang digunakan ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Daftar ekstraksi DNA

Nomor Tube	Kode Sampel	Jenis Kelamin	Bangsa Sapi
1	PO 15.138	Betina	Pogasi
2	PO 15/139	Betina	Pogasi
3	PO 15/39	Betina	Pogasi
4	PO 14/27	Betina	Pogasi
5	PO 14.4.11	Betina	Pogasi
6	PO 14/15	Betina	Pogasi
7	PO 15/34	Betina	Pogasi
8	PO 15/68	Betina	Pogasi

Delapan sampel darah sapi pogasi diatas diekstraksi untuk medapatkan DNA murninya dengan menggunakan DNA Extraction KIT gSYNCTM dari PT. genetika science kemudian dilakukan proses elektroforesis dengan menambahkan larutan TBE1x buffer di alat elektroforesis unit dengan tegangan sebesar 100 volt selama 30 menit dan hasilnya divisualisasi menggunakan UV transilluminator. Dari hasil ekstraksi DNA didapatkan bahwa sampel darah sapi pogasi telah terekstraksi DNA nya dengan sempurna yang ditandai dengan munculnya band pita DNA tebal dan terang pada gel agarose 1,5%.

3.2. Amplifikasi Gen PIT1 dengan Metode Optimasi PCR

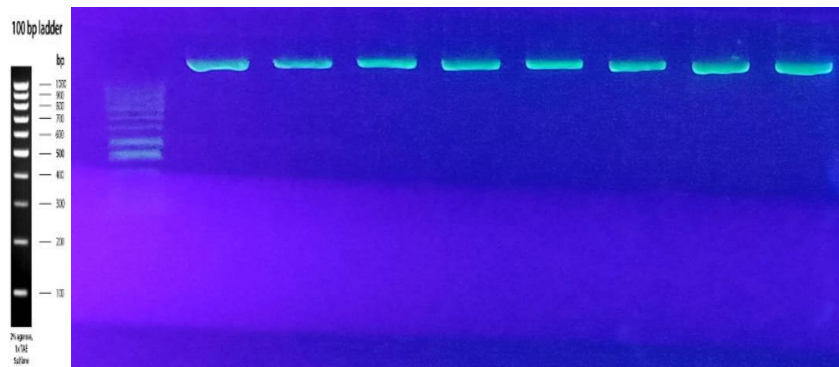
Proses optimasi PCR gen PIT1 pada sapi pogasi menggunakan primer gen yang dapat mengamplifikasikan gen PIT1 untuk mendapatkan hasil suhu annealing dan konsentrasi primer yang sesuai dan optimal. Hasil optimasi gen PIT1 dari ekstraksi DNA sapi pogasi dengan teknik optimasi PCR dan elektroforesis 1,5% dengan rentan suhu masing-masing 54 °C, 55 °C, 56 °C, 57, °C, 58 °C, 59 °C, 60 °C dan 61 °C. pada waktu annealing 10 detik dengan volume DNA sebanyak 1,5 µl.

Pada proses *annealing* pemilihan suhu merupakan hal yang penting dalam amplifikasi sehingga diperlukan optimasi PCR untuk mengetahui suhu *annealing* yang optimal dan sesuai dengan targetnya. Mispriming dapat menyebabkan sensitifitas antara primer dan template DNA sehingga dapat memengaruhi hasil PCR [7]. Pada kendala tersebut bisa diselesaikan dengan menurunkan suhu *annealing* pada setiap 1°C secara bertahap sehingga mendapatkan target bp yang sesuai [8]. Pemilihan suhu *annealing* dilakukan dengan memperhatikan Tm (suhu leleh) dari primer [9]. Suhu Tm pada gen PIT1 primer *forward* 56,4 °C dan primer *reverse* 57,7 °C sehingga suhu *annealing* bisa optimasi dengan reantan suhu 54 °C sampai 61 °C. optimasi suhu *annealing* yang digunakan diantaranya pada 54 °C, 55 °C, 56 °C, 57, °C, 58 °C, 59 °C, 60 °C dan 61 °C.

3.3 Hasil Elektroforesis

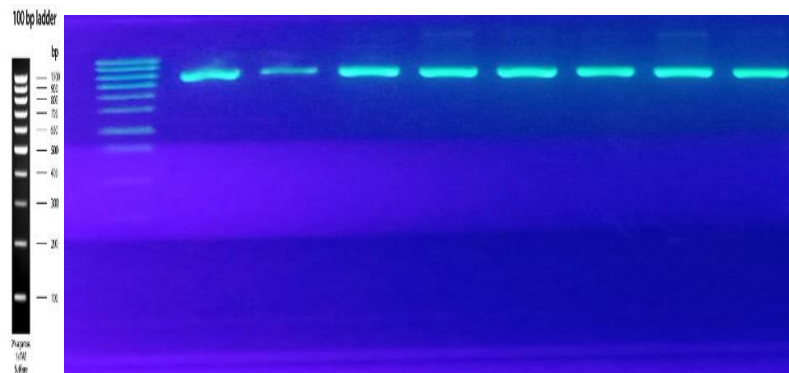
Amplifikasi pada optimasi PCR dapat dilihat dari teknik elektroforesis yang kemudian divisualisasikan dengan UV transilluminator sehingga didapatkan hasil amplifikasi yang sesuai. Pada proses elektroforesis merupakan proses untuk memisahkan molekul dalam gel agarose dengan menggunakan medan listrik. Gel agarose yang dielektrofosis di visualisasi dengan prinsip kerja UV transilluminator yang dapat memancarkan flourosafe DNastain yang menempel didalam DNA pada gel agarose. Adapun hasil ekstraksi DNA dari delapan sapi bangsa pogasi pada Gambar 1.

Pada gambar 1 hasil ekstraksi DNA menunjukkan bahwa dari 8 sampel DNA sapi pogasi dapat diekstraksi DNAnya dengan baik dan sesuai target hal tersebut dapat terlihat dengan munculnya pita DNA yang terang, jelas, tebal dan sesuai dengan target diatas marker pada keseluruhan sampel. Seperti yang dinyatakan bahwa hasil isolasi DNA yang menampilkan pita DNA yang terang dan tebal secara kualitatif menunjukkan konsentrasi hasil ekstraksi DNA yang baik dan tinggi, sedangkan hasil isolasi DNA yang menampilkan pita DNA yang tipis secara kualitatif menunjukkan konsentrasi DNA yang kurang maksimal dan rendah sehingga perlu dilakukan pengulangan proses ekstraksi DNA [10].



Gambar 1. Hasil Ekstraksi DNA sapi pogasi (sesuai urutan dari kiri marker dan sampel nomor 1 sampai 8)

Pada proses optimasi PCR menggunakan sampel berupa hasil ekstraksi DNA atau ekstrak dna yang memiliki pita DNA tebal, terang dan sesuai target. Sampel ekstrak DNA yang digunakan sesuai dengan nomor urut pada tabel 1 yang kemudian dilakukan optimasi PCR dengan mesin PCR dengan suhu *annealing*nya pada sampel nomor tube 1 dengan suhu 54°C, ekstrak DNA nomor tube 2 dengan suhu 55 °C, ekstrak DNA nomor tube 3 dengan suhu 56 °C, ekstrak DNA nomor tube 4 dengan suhu 57 °C, ekstrak DNA nomor tube 5 dengan suhu 58 °C, ekstrak DNA nomor tube 6 dengan suhu 59 °C, ekstrak DNA nomor tube 7 dengan suhu 60 °C, dan ekstrak DNA nomor tube 8 dengan suhu 61 °C, dari hasil optimasi PCR gen PIT1 dapat dilihat pada gambar 2 sebagai berikut:



Gambar 2. Hasil optimasi (sesuai urutan dari kiri marker dan sampel nomor 1 sampai 8)

Pada gambar 2 hasil visualisasi elektroforesis pada optimasi PCR dapat menunjukkan bahwa keseluruhan sampel dapat teramplifikasi gen PIT1 pada ukuran target 784bp namun pada sampel tube nomor 4 dengan suhu *annealing* 57 °C terlihat bahwa pita DNA yang terang, tebal, jeas dan sesuai dengan target 784 bp dan sesuai dengan Tm primer gen PIT1 sehingga suhu *annealing* sebesar 57 °C dapat digunakan sebagai suhu *annealing* yang optimum dan sesuai dan bisa digunakan untuk proses polymarease chain reaction.

Hasil visualisasi elektroforesis tersebut menunjukkan seluruh sampel dapat mengamplifikasi gen PIT1 pada ukuran 784 bp. Pada sampel nomor 3 dengan suhu *annealing* 57 °C menunjukkan pita yang sangat tebal dan jelas jika dibandingkan dengan yang lainnya dan sesuai dengan Tm primer sehingga dapat digunakan sebagai suhu *annealing* yang optimum.

4. Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian optimasi polymarease chain reaction fragmen 784 pb gen pituitary transcription factor-1 pada sapi pogasi untuk Meningkatkan Produk Amplifikasi bahwasanya semua sampel sapi pogasi telah terisolasi atau ekstraksi dengan optimal dan baik yang ditandai pada gel agarose

menunjukkan pita DNA tebal, terang, jelas dan sesuai target diatas marker. Dan pada metode optimasi PCR gen PIT1 pada DNA darah sapi pogasi pada proses annealing untuk mendapatkan suhu yang optimal sangatlah penting untuk meningkatkan produk amplifikasi dan sesuai dengan target yang diharapkan. Pada proses optimasi suhu annealing pada delapan sampel DNA darah sapi potong didapatkan hasil bahwa keseluruhan sampel dapar mengamplifikasi gen PIT1 dengan target 784 bp dan diantara semua sampel yang sesuai dengan Tm primer gen PIT1 dan sesuai target 784 bp yaitu sampel nomor kode tube 4 yang memiliki suhu annealing 57 °C, hal ini menunjukkan bahawasannya pada proses optimasi PCR didapatkan suhu *annealing* yang optimum pada suhu 57 °C untuk mengidentifikasi gen PIT1 pada sapi lokal pogasi yang memiliki produktivitas yang baik dengan ditandai dengan sifat produksi susu yang optimal untuk menyusui pedet.

5. Ucapan Terima Kasih

Penulis berterimakasih kepada Pusat Riset Peternakan, Organisasi Riset Pertanian Pangan, dan Direktorat Pengelolaan Laboratorium Fasilitas Riset Kawasan Sain dan Teknologi, Badan Riset dan Inovasi Nasional atas dukungan, motivasi, dan bantuan yang diberikan sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar dan baik.

6. Daftar Pustaka

- [1] Ibrahim, A., Affandhy, L., Luthfi, M., Sari, A.P.Z.N.L., Prihandini, P.W., Chanafi., Robba, D.K., Aryogi. 2024. Performance and growth hormone gene polymorphism of the second generation POGASI Agrinak cattle. Beni suef University Journal of Basic and Applied Sciences (Accepted)
- [2] Cohen, L.E., Wondisford, F.E., Radovick, S., 1996. Role of Pit-1 in The Gene Expression of Growth Hormone, Prolactin, and Thyrotropin. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 25, 523–540. [https://doi.org/10.1016/S0889-8529\(05\)70339-X](https://doi.org/10.1016/S0889-8529(05)70339-X)
- [3] Senger, P.L., 2005. *Pathway to Pregnancy and Parturition*, 2nd ed. Pullman, Washington
- [4] National Library of Medicine – National Center For Biotechnology Information www.ncbi.nlm.nih.gov akses pada tanggal 24 Juni 2024
- [5] Dybus, A., Szatkowska, I., Czerniawska- Piątkowska, E., Grzesiak, W., Wójcik, W., Rzewucka, E., Zych, S., 2004. PIT1-HinfI Gene Polymorphism and Its Associations with Milk Production Traits in Polish Black-and-White Cattle. *Arch. Anim. Breed.* 47, 557–563. <https://doi.org/10.5194/aab-47-557-2004>
- [6] Yuwono. 2015. *Teori dan Aplikasi PCR*. Yogyakarta: Erlangga.
- [7] Prayogo, F.A., Anto, B., Kusumaningrum, H.P., Wijanarka, W., Agung, S., Nurhayati, N. 2020. Metagenomic applications in exploration and development of novel enzymes from nature: a review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology.* 18:39.
- [8] Deniariasih, N.W., Ratnayani, K., Yowani, S.C. 2013. Optimasi PCR (polymerase chain reaction) fragmen 724 pb Gen katG Multi Drug Resistance Tuberculosis untuk Meningkatkan Produk Amplifikasi. *Jurnal Farmasi Udayana.* 110-115
- [9] Robba, D.K., Ramsiati, D., Wulansari., Chanafi, M., Asepriyadi., Ariyanto, A., Nihaya, U. 2024. Optimasi Suhu Annealing Proses PCR Amplifikasi Gen ATP1A1 Sapi Jabres dan Galekan. *Jurnal Wahana Peternakan.* Volume 4. Maret 2024. Halaman 10-19.
- [10] Hidayati, H., Saleh, E., & Aulawi, T. (2016). Identifikasi keragaman gen bmpr-1b (bone morphogenetic protein receptor ib) pada ayam arab, ayam kampung dan ayam ras petelur menggunakan pcr-rflp. *Jurnal Peternakan,* 13(1), 1. <https://doi.org/10.24014/jupet.v13i1.2383>