

**IDENTIFIKASI *SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM* (SNP) PADA
GEN *HEAT SHOCK PROTEIN 70* (HSP70) AYAM KATE**

SKRIPSI

diajukan untuk memenuhi sebagian dari persyaratan untuk mendapatkan gelar
Sarjana Sains Program Studi Biologi



oleh:

Hilma Durotul Fatimah
NIM. 1909893

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA
BANDUNG
2023**

**IDENTIFIKASI *SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM* (SNP) PADA
GEN *HEAT SHOCK PROTEIN 70* (HSP70) AYAM KATE**

Oleh

Hilma Durotul Fatimah

NIM. 1909893

Sebuah skripsi yang diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains Program Studi Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam

© Hilma Durotul Fatimah 2023
Universitas Pendidikan Indonesia
Agustus 2023

Hak cipta dilindungi undang-undang

Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya atau sebagian, dengan dicetak
ulang, fotokopi, atau cara lainnya tanpa izin dari penulis.

LEMBAR PENGESAHAN

HILMA DUROTUL FATIMAH

**IDENTIFIKASI *SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM* (SNP) PADA
GEN *HEAT SHOCK PROTEIN 70* (HSP70) AYAM KATE**

Disetujui dan disahkan oleh pembimbing

Pembimbing I



Dr. Any Aryani, M.Si.

NIP. 197105302001122001

Pembimbing II



Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si.

NIP. 197008112001122001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi FPMIPA UPI



Dr. Wahyu Surakusumah, M.T.

NIP. 197212301999031001

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Identifikasi *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) pada Gen *Heat Shock Protein 70* (HSP70) Ayam Kate” ini beserta seluruh isinya adalah benar-benar karya saya sendiri. Saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika ilmu yang berlaku dalam masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini, saya siap menanggung sanksi apabila dikemudian hari ditemukan adanya pelanggaran etika keilmuan atau ada klaim dari pihak lain terhadap keaslian karya saya ini.

Bandung, Agustus 2023

Yang membuat pernyataan,

Hilma Durotul Fatimah
NIM. 1909893

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala yang senantiasa menganugerahkan rahmat, taufik, hidayah serta nikmat kesehatan dan kekuatan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan tepat pada waktunya. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan ke hadapan manusia terbaik, panutan terbaik yang diciptakan Allah Subhanahu Wa Ta'ala, yakni baginda Rasulullah Shalallahu 'Alaihi wa Salaam yang senantiasa penulis nantikan syafaatnya.

Skripsi yang berjudul “Identifikasi *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) pada Gen *Heat Shock Protein 70* (HSP70) Ayam Kate” ini penulis susun untuk melengkapi salah satu syarat dalam menempuh ujian sidang Sarjana Sains Program Studi Biologi Universitas Pendidikan Indonesia. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi kesempurnaan penulisan karya ilmiah berikutnya. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya.

Bandung, Agustus 2023

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan kata terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini, maka dengan segala hormat dan ketulusan hati penulis ucapan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Any Aryani, M.Si selaku dosen pembimbing akademik dan dosen pembimbing I serta Ibu Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si., selaku dosen pembimbing II atas segala bimbingan, dukungan, meluangkan waktu untuk mengarahkan, memberi saran dan motivasi kepada penulis selama penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.
2. Bapak Dr. Wahyu Surakusumah, M. T., selaku Ketua Program Studi Biologi FPMIPA UPI.
3. Bapak Dr. Didik Priyandoko, M.Si dan Bapak Rahadian D. Juansah, S.Pd., selaku ketua dan penanggung jawab laboratorium riset FPMIPA UPI, yang selalu membantu dan memberi arahan selama penelitian.
4. Bapak dan ibu dosen Prodi Biologi FPMIPA UPI yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat, pengalaman, serta arahan selama perkuliahan berlangsung hingga terselesaikannya perkuliahan.
5. Seluruh staf Prodi Biologi FPMIPA UPI yang telah membantu dalam menyelesaikan administrasi perkuliahan.
6. Kedua orang tua, Ayah Dadan Hermawan dan Ibu Komariah, yang dengan tulus dan penuh kasih sayang, serta selalu mendoakan dan memberi dukungan baik secara moral maupun materi kepada penulis selama menempuh pendidikan, sehingga terselesaikannya skripsi ini.
7. Adik tersayang, Siti Iyana Rotul Hudah dan Hania Mutmainah yang telah memberi dukungan kepada penulis.
8. Keluarga Dr. Halimah, M.Pd yang sangat berjasa karena telah memberikan motivasi, materi, serta doa hingga akhir perkuliahan.
9. Seluruh keluarga besar yang telah mendukung dan mendoakan selama perkuliahan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

10. Rekan seperjuangan dari awal penelitian, Ridhwan Ahmad Karyana dan Shevira Arista Achmanda yang selalu menyertai, memberi motivasi, memahami keluh kesah penulis, memberi semangat ,sehingga dapat berjuang bersama hingga terselesaikannya skripsi ini.
11. Sahabat-sahabat penulis Adilla Hafidzha Nur Sabrina, Annisa Nurallya Imannida, Asty Seren Monica Butar Butar, Aulia Rachmah, Drania Aaliyah Salsabiil Wirakarta, Febby Nurfadilah, Hanna Yustianisa, Wasni Az-Zahra, Zahra Auliana yang selalu menemani, memberi motivasi selama menjalani perkuliahan hingga penyusunan skripsi.
12. Sahabat terbaik Annisa Three Handayani Putri Pratiwi, Shandini Apriliany dan Bella Nurul Aini yang telah memberikan dorongan, mendengarkan keluh kesah penulis, serta semangat, sehingga terselesaikannya skripsi ini.
13. Teman-teman kelas Biologi C 2019 yang telah menjadi keluarga terbaik penulis selama menempuh pendidikan di bangku perkuliahan.
14. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas motivasi dan segala bantuannya.

Identifikasi *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) Pada Gen *Heat Shock Protein 70* (HSP70) Ayam Kate

ABSTRAK

Gen HSP70 dapat dijadikan sebagai penanda genetik pada ayam yang berpotensi dalam pertahanan tubuh terhadap cekaman panas. Ayam lokal Indonesia merupakan ayam yang resisten terhadap cekaman panas, salah satunya ayam kate yang memiliki karakteristik postur tubuh yang kecil. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi mengenai variasi *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) pada gen HSP70 ayam kate. Variasi SNP dapat diketahui dengan cara molekuler yaitu amplifikasi PCR menggunakan tiga pasangan primer, yang kemudian dilanjutkan dengan elektroforesis gel agarosa dan metode *sequencing*. Secara keseluruhan hasil *sequencing* identik $\geq 97,00\%$ terhadap gen HSP70 *Gallus gallus* di GenBank dengan no akses J02579, AY143691, AY143692, AY143693. Dari penelitian ini keanekaragaman gen HSP70 pada ayam kate yang telah teramplifikasi tiga pasangan primer terdapat 15 variasi SNP dengan 10 SNP transversasi, sedangkan 5 SNP transisi. Penelitian ini menunjukkan urutan sekuens gen HSP70 ayam kate yang identik dengan gen HSP70 *Gallus gallus*, dan didapatkan variasi SNP gen HSP70 ayam kate di antaranya pada titik 258A>G, 276C>G, 421G>C, 425C>A, 501G>C, 693A>G, 717C>A, 728G>A, 748G>C, 767A>T, 821G>A, 1044G>A, 1748C>G, 2194T>A, dan 2195A>T, sehingga data ini dapat melengkapi database sekuens lengkap gen HSP70 ayam lokal yang resisten terhadap cekaman panas.

Kata kunci: Ayam kate, Gen HSP70, PCR, *Sequencing*, Polimorfisme

Identification Of Single Nucleotide Polymorphism (SNP) In Bantam Chicken Heat Shock Protein 70 Gene (HSP70)

ABSTRACT

The HSP70 gene can be used as a genetic marker in chickens involved in the body's defense mechanism against heat stress. Local Indonesian chickens are resistant to heat stress, one of which is the bantam chickens which has a small body size characteristic. This research aims to obtain information about Single Nucleotide Polymorphism variations (SNPs) in the HSP70 gene of bantam chickens. Variations SNPs can be determined through molecular methods, specifically PCR amplification using three sets of primers, followed by agarose gel electrophoresis and sequencing methods. Overall, the sequencing results are at least 97.00% identical to the HSP70 gene of Gallus gallus in the GenBank with accession numbers J02579, AY143691, AY143692, AY143693. From this study, the genetic diversity of the HSP70 gene in bantam chickens that were amplified using the three sets of primers revealed 15 SNP variations, including 10 transversion SNPs and 5 transition SNPs. This research shows that the sequence of the HSP70 gene in bantam chickens is identical to the HSP70 gene in Gallus gallus. Various SNP variations were found in the HSP70 gene of bantam chickens, including at positions 258A>G, 276C>G, 421G>C, 425C>A, 501G>C, 693A>G, 717C>A, 728G>A, 748G>C, 767A>T, 821G>A, 1044G>A, 1748C>G, 2194T>A, and 2195A>T. This data can contribute to the database of the HSP70 gene in local Indonesian chickens that are resistant to heat stress.

Keywords: *Bantam chicken, HSP70 Gene, PCR, Sequencing, Polymorphism*

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Pertanyaan Penelitian	5
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Batasan Penelitian	5
1.6 Manfaat Peneltian.....	5
1.7 Struktur Organisasi Skripsi	5
BAB II IDENTIFIKASI POLIMORFISME GEN HSP70 AYAM KATE DENGAN PCR- SEQUENCING	7
2.1 Ayam Lokal (<i>Gallus gallus domesticus</i>).....	7
2.2 Cekaman Panas.....	10
2.3 Gen <i>Heat Shock Protein 70</i> (HSP70)	12
2.4 Polimorfisme pada Gen HSP70 Ayam	14
2.5 <i>Single Nucleotid Polymorphism</i> (SNP)	15
2.6 Isolasi DNA	16
2.7 Teknik <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	18
2.8 Elektroforesis.....	20

2.9 Sequencing	22
BAB III METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Jenis Penelitian	24
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	24
3.3 Populasi dan Sampel	24
3.4 Alat dan Bahan	26
3.5 Prosedur Penelitian.....	27
3.5.1 Persiapan Alat dan Bahan	27
3.5.2 Desain Primer	27
3.5.3 Amplifikasi PCR Ayam Kate	27
3.5.4 Elektroforesis	28
3.5.5 Sequencing	29
3.6 Analisis Data	29
3.6.1 Bioedit.....	29
3.6.2 <i>Basic Local Alignment Search Tool</i> (BLAST)	30
3.6.3 <i>Molecular Evolutionary Genetics Analysis</i> (MEGA).....	30
3.7 Alur Penelitian.....	30
BAB IV TEMUAN DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Uji Kualitatif DNA	32
4.2 Amplifikasi PCR	34
4.3 Holomogi Sekuens Gen HSP70 Ayam Kate	39
4.4 Pengurutan Sekuens Gen HSP70 Ayam Kate	43
4.5 Polimorfisme gen HSP70 Ayam Kate.....	48
BAB V SIMPULAN DAN REKOMENDASI.....	54
5.1 Simpulan.....	54
5.5 Implikasi.....	54
5.3 Rekomendasi	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Ayam Kate.....	8
Gambar 2. 2 Gel Agarosa.....	21
Gambar 3. 1 Amplifikasi Gen HSP70 Ayam Lokal Indonesia Berdasarkan Sekuens <i>Gallus gallus</i> J02579 dengan Primer 1, 2 dan 3.....	25
Gambar 3. 2 Diagram Program PCR	28
Gambar 3. 3 Diagram Alur Penelitian.....	31
Gambar 4. 1 Visualisasi Uji Kualitatif DNA 10 Sampel Ayam Kate.....	32
Gambar 4. 2 Visualisasi Hasil Isolasi DNA Sampel H4.....	33
Gambar 4. 3 Visualisasi Amplifikasi PCR Gen HSP70 Ayam Kate	35
Gambar 4. 4 Visualisasi Kualitatif DNA Primer 1, Primer 2 dan Primer 3.....	36
Gambar 4. 5 Kromatogram Hasil <i>Sequencing</i> Data <i>Forward</i> dan <i>Reverse</i> AB1..	40
Gambar 4. 6 Hasil <i>Contig</i> dari <i>Forward</i> dan <i>Reverse</i> Sampel Primer 1.....	40
Gambar 4. 7 Contoh Hasil <i>Aligment</i> Sekuens Sampel Ayam Kate.....	42
Gambar 4. 8 Primer 1 Hasil <i>Alignment</i> Gen HSP70 Ayam Kate.....	44
Gambar 4. 9 Primer 2 Hasil <i>Alignment</i> Gen HSP70 Ayam Kate.....	46
Gambar 4. 10 Primer 3 Hasil <i>Alignment</i> gen HSP70 Ayam Kate.....	48

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Karakteristik Ukuran Tubuh Ayam Kate.....	9
Tabel 3. 1 Alat yang Digunakan.....	26
Tabel 3. 2 Bahan yang Digunakan.....	26
Tabel 3. 3 Pasangan Primer dan Suhu <i>Annealing</i>	27
Tabel 4. 1 Hasil Uji Kuantitatif Konsentrasi Tiga Sampel DNA Ayam Kate	37
Tabel 4. 2 Hasil BLAST Sampel H6 Primer 1	41
Tabel 4. 3 Hasil BLAST Sampel H6 Primer 2.....	41
Tabel 4. 4 Hasil BLAST Sampel H6 Primer 3.....	41
Tabel 4. 5 Perbandingan Perubahan Basa Gen HSP70 di Daerah <i>Coding</i> pada <i>Gallus gallus</i> dan Ayam Kate.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pembuatan Larutan dan Bahan.....	64
Lampiran 2. Hasil <i>Sequencing</i>	65
Lampiran 3. Hasil <i>Alignment</i> MEGA.....	67

DAFTAR PUSTAKA

- Aengwanich, W. & O. Chinrasri. (2002). Effect of heat stress on body temperature and hematological parameters in male layers. *Thai. J. Physiol. Sci.* 15:27-33.
- Al-Zhgoul, M. B., Abd Elhafeed, S. D., Ababneh, M. M., Jawasreh, K. I., Al Busadah, K. A., & Ismail, Z. B. (2013). Thermal manipulation during chicken embryogenesis results in enhanced Hsp70 gene expression and the acquisition of thermotolerance. *Research in veterinary Science*, 95(2), 502-507.
- Amizar R, Suharti S, Jakaria, & Mutia R. (2017). The expression of heat shock protein 70 gene with organic selenium supplementation and its effect on productivity of broilers in tropical environment. *J Indones Trop Anim Agric.* 42:279–287.
- Anam, K. (2010). *Isolasi DNA Genom*. Bioteknologi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Archana PR, Aleena I, Pragua P, Vidya MK, Niyas APA, Bagath M, Krishnan G, Manimaran A, Beena V, Kurien EK, Sejian V, & Bhatta R. (2017). Role of heat shock proteins in livestock adaptation to heat stress. *Journal of Dairy, Veterinary and Animal Research.* 5(1): 00127.
- Aryani, A., Solihin, D D., Sumantri, C., Afnan, R., & Sartika, T. (2019). Genetic Diversity of the Structure of HSP70 gene in Kampung Unggung Balitbangtan (KUB), Walik, and Kate walik Chickens. *Tropicall Animal Science Journal*, 42(3):180-188. DOI:<https://doi.org/10.5398/tasj.2019.422.3.180>
- Azizah A. (2009). Perbandingan Pola Pita Amplifikasi DNA Daun, Bunga, dan Buah Kelapa Sawit Normal dan Abnormal. [Skripsi]. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Baker, S. S. (2018). Using DNA barcoding to identify duckweed species as part of an undergraduate ecology course. In *Environmental chemistry: undergraduate and graduate classroom, laboratory, and local community learning experiences* (pp. 67-79). American Chemical Society.
- Bangol, I., Momuat, L. I., & Kumaunang, M. (2014). Barcode DNA tumbuhan pangi (*Pangium edule* R.) berdasarkan gen matK. *Jurnal MIPA*, 3(2), 113-119.
- Basiricò, L., Morera, P., Primi, V., Lacetera, N., Nardone, A., & Bernabucci, U. (2011). Cellular thermotolerance is associated with heat shock protein 70.1 genetic polymorphisms in Holstein lactating cows. *Cell stress and Chaperones*, 16, 441-448.
- Beveridge, J. R., & Riseman, E. M. (1997). How easy is matching 2D line models using local search?. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 19(6), 564-579.

- Blecha, F. (2000). Immune system response to stress. In *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. (pp. 111-121). Wallingford UK: CABI Publishing.
- BMKG. (2022). *Perubahan Iklim*. [Online]. Diakses dari: <https://www.bmkg.go.id/iklim/?p=ekstrem-perubahan-iklim#:~:text=Anomali%20Suhu%20Udara%20Rata%2DRata%20Bulan%20September%202022&text=Anomali%20suhu%20udara%20rata%2Drata%20per%2Dstasiun%20pada%20bulan%20September,di%20hampir%20seluruh%20wilayah%20Indonesia> Pada tanggal 2 November 2022
- Borges, S.A., F.A.V. da Silva, A. Maiorka, D.M. Hooge, & K.R. Cummings. (2004). Effects of diet and cyclic daily heat stress on electrolyte, nitrogen and water intake, excretion and retention by colostomized male broiler chickens. *Int. J. Poult. Sci.* 3: 313-321
- Bouchama, A., & Knochel, J. P. (2002). Heat stroke. *New England journal of medicine*, 346(25), 1978-1988.
- Brenu EW, Staines DR, Tajouri L, Huth T, Ashton KJ, & Marshal-Gradisnik SM. (2013). Heat shock proteins and regulatory T cells. *Autoimmune Diseases*. 1-9.
- Brewer, J. M. (1993). *Electrophoresis and Densitometry*. In : Larry E. S. & Robert H. W (Ed). Principle of Laboratory Instrumen. Library of Congress Cataloging. United State of America.
- Brookes, M. (2006). *GENETIKA*. Jakarta: Penerbit Erlangga. 150-160.
- Budiarto, B.R. (2015). Polymerase Chain Reaction (PCR): Perkembangan dan Perannya dalam Diagnostik Kesehatan. *BioTrends*. 6 (1). 29-38.
- Budiarto, E. (2020). *Studi Keragaman Gen Heat Shock Protein 70 (HSP70) Pada Kambing Kacang Dan Kambing Senduro*. Doctoral dissertation. Universitas Brawijaya.
- Bukau, B., & Horwich, A. L. (1998). The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell*, 92(3), 351-366.
- Cheng YJ, Guo WW, Yi HL, Pang XM & Deng X. (2003). An efficient protocol for genomic DNA extraction from citrus species. *Plant Molecular Biology Reporter* 21: 177a-177g.
- Corkill, G., & Rapley, R. (2008). The manipulation of nucleic acids: Basic tools and techniques. *Molecular Biomethods Handbook*, 3-15.
- Crawford D.C & Nickerson D.A. (2005). Definisi dan kepentingan klinis dari haplotipe. *Ann Rev Med*. 56:302-20.

- Damane MM, Barazandeh A, Mokhtari MS, Esmaeilipour O, & Badakhshan Y. (2018). Evaluation of body surface temperature in broiler chickens during the rearing period based on age, air temperature and feather condition. *Iran J Appl Anim Sci.* 8:499–504.
- Dayyani N, & Bakhtiari H. (2013). Heat stress in poultry: Background and affective factors. *Int J Adv Biol Biomed Res.* 1:1409–1413.
- Djego, Y., Kihe, J. N., & Pangestuti, H. T. (2019). Efek komposisi genotip dari ayam ras petelur, kate dan lokal sabu terhadap sifat-sifat pada bobot badan dan ukuran tubuh. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 6(1), 20-25.
- Etches RJ, John TM & Verrinder Gibbins AM. (2008). Behavioural, Physiological, Neuroendocrine and Molecular Responses to Heat Stress. In: Nuhad J. Daghir (ed.). *Poultry Production in Hot Climates*. Pp: 49-69.
- Exercise Physiologist. (2012). *Heat Shock Protein Form and Function*. Quick Review. Homepage on Internet.
- Faatih, M. (2009). Isolasi dan Digesti DNA Kromosom. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* 10(1): 61 – 67.
- Fatchiyah. (2005). PCR: dasar Teknik Amplifikasi DNA dan Aplikasinya. *Molecular Genetics*. Brawijaya University
- Fauziyah, N. F. (2022). *Keragaman Genetik Struktur Gen HSP70 Ayam Leher Gundul (Legund)*. S1 Skripsi, Universitas Pendidikan Indonesia.
- Favatier, F., Bornman, L., Hightower, L. E., Günther, E., & Polla, B. S. (1997). Variation in hsp gene expression and Hsp polymorphism: do they contribute to differential disease susceptibility and stress tolerance?. *Cell stress & chaperones*, 2(3), 141.
- Gan, J K., Jiang, L Y., Kong, L N., Zhang, X Q., & Luo, Q B. (2015). Analysis of Genetic Diversity of the Heat Shock Protein 70 Gene on the Basis of Abundant Sequence Polymorphisms in Chicken Breeds. *Genet. Mol. Res.*14:1538-1545. DOI <http://dx.doi.org/10.4238/2015.March.6.1>
- Glick, B. R., & Patten, C. L. (2022). *Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA*. John Wiley & Sons.
- Gong, W. J., & Golic, K. G. (2006). Loss of Hsp70 in Drosophila is pleiotropic, with effects on thermotolerance, recovery from heat shock and neurodegeneration. *Genetics*, 172(1), 275-286.
- Guertin, M. J., Petesch, S. J., Zobeck, K. L., Min, I. M., & Lis, J. T. (2010). Drosophila heat shock system as a general model to investigate transcriptional regulation. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* (Vol. 75, pp. 1-9). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Gužvić, M. (2013). The history of DNA sequencing. *Journal of medical biochemistry*, 32(4), 301-312.
- Hanifa, T. S. (2022). *Perancangan Primer Spesifik Untuk Amplifikasi Daerah Coding dan 3'UTR Gen HSP70 Ayam Walik*. S1 Skripsi, Universitas Pendidikan Indonesia.
- Harahap, M. R. (2018). Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*. Vol (2): 21-26
- Harahap. (2017). Uji Kualitas dan Kuantitas DNA Beberapa Populasi Pohon Kapur Sumatera. *J. Anim. Sci. Agron*. Panca Budi, vol. 2, no. 2, pp. 1–6
- Huang Z, Rose AH, & Hoffmann PR. (2012). The role of selenium in inflammation and immunity: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants Redox Signal*. 16:705–743.
- International Human Genome Sequencing Consortium. (2001). *Initial sequencing and analysis of the human genome*. *Nature*, 409, 860-921.
- Jaiswal SK, Raza M, Uniyal S, Chaturvedani A, Sahu V, & Dilliwar L. (2017). Heat stress and its relation with expression of heat shock proteins in poultry. *Int J Sci Env Tech*. 6:159–166.
- Jehan, T., & Lakhanpaul, S. (2006). Single Nucleotide Polymorphism (SNP)-Methods and Applications in Plant Genetics: A review. *Indian Journal of Biotechnology*. 5(4): 435-459.
- Jennings, W. B. (2017). *Phylogenomic Data Acquisition: Principles and Practice*. CRC Press.
- Jull, M. A. (1938). Poultry husbandry. *Poultry husbandry*., (2nd Ed).
- Khan AZ, Kumbhar S, Hamid M, Afzal S, Parveen F, Liu Y, Shu H, Mengistu BM, & Huang K. (2016). Effects of selenium-enriched probiotics on heart lesions by influencing the mRNA expressions of selenoproteins and heat shock proteins in heat stressed broiler chickens. *Pak Vet J*. 36:460–464.
- Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, Edwards SV, Paabo S, Villablanca FX, & AC Wilson. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 86: 6196-6200
- Komalasari L. (2014). *Dampak suhu tinggi terhadap respons fisiologi, profil darah dan performa produksi dua bangsa ayam berbeda*. [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- LaFramboise, T. (2009). Single nucleotide polymorphism arrays: a decade of biological, computational and technological advances. *Nucleic acids research*, 37(13), 4181-4193.

- Lara LR, & Rostagno MH. (2013). Impact of heat stress on poultry production. *Animals*, 3, 356-369
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y., & Kim, Y. H. (2012). Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (62), e3923.
- Lewis, M. E. (2007). *The bioarchaeology of children: perspectives from biological and forensic anthropology (Vol. 50)*. Cambridge University Press.
- Lindquist, S., & Craig, E.A. (1988). The heat-shock proteins. *Annual Review of Genetics*. 22: 631-677.
- Liu, S.S., Li, H.A.O., YI, C. Y., Wang, F., Zhou, J. I. E., XIA, X. J., & YU, J. Q. (2014). Hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced HSP 70 accumulation and heat tolerance in grafted cucumber plants. *Plant, Cell & Environment*, 37(12), 2768-2780.
- Lonetti, A., Fontana, M. C., Martinelli, G., & Iacobucci, I. (2016). Single nucleotide polymorphisms as genomic markers for high-throughput pharmacogenomic studies. *Microarray Technology: Methods and Applications*, 143-159.
- Lusiastuti, A. M., Seeger, H., Sugiani, D., Mufidah, T., & Novita, H. (2015). Deteksi polimorfisme dengan substitusi nukleotida tunggal pada *Streptococcus agalactiae* isolat lokal Indonesia. *Media Akuakultur*, 10(2), 91-95.
- Mack LA, Felver-Gant JN, Dennis RL, & Cheng HW. (2013). Genetic variations alter production and behavioral responses following heat stress in 2 strains of laying hens. *Poult Sci*. 92:285–294
- Mazzi, C.M., Ferro, J.A., Ferro, M.I.T., Savino, V.J.M., Coelho, A.A.D., & Macari, M. (2003). Polymorphism analysis of the HSP70 stress gene in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*) of different breeds. *Genetics and Molecular Biology*. 26: 275-281.
- Mejia, M.L., & Hernandez, T.J. (2009). Electron Density Analysis of Tautomeric Mechanisms of Adenine, Thymine and Guanine and The Pairs of Thymine With Adenine or Guanine. *Chemical Physics Letters*, 482(1-3), 24-29
- Morimoto, R. I., WU B.J., & Kingston R.E. (1986). Human HSP70 Contains et last two distinct regulatory domains. *Biochemistry. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 83, 6629-633
- Najafi, M., Rouhi, M. A., Mokhtari, R., & Kazemi, H. (2018). Genetic analysis of a novel polymorphism in coding region of HSP70 gene and its association with some productive and reproductive traits in Mazandaran native breeder hens. *J. Genet. Disord. Genet. Med*, 2(1), 1-5.

- Nataamijaya, A. G. (2010). Pengembangan Potensi Ayam Lokal Untuk Menunjang Peningkatan Kesejahteraan Petani. *Jurnal Litbang Pertanian*, 29(4), 131-138.
- Nataamijaya, A.G. (2000). The native chickens of Indonesia. *Bul. Plasma Nutfah* 6(1): 1–6.
- National Research Council. (1993). *Managing global genetic resources: agricultural crop issues and policies*. National Academies Press.
- Nazir. (1988). *Metode Penelitian*. Jakarta : Ghalia Indonesia
- Newsmaster SG, & Ragupathy S. (2009). Testing plant barcoding in a sister complex of Pantropical acacia (Mimosoidea, Fabaceae). *Molecular Ecology Resources* 9:172-182.
- Noor RR, & Seminar KB. (2009). *Rahasia dan Hikmah Pewarisan Sifat (Ilmu Genetika dalam Al-Qur'an)*. Bogor. Penerbit IPB Press. Hal:109.
- North, M. O., & Bell, D. D. (1990). *Commercial chicken production manual* (No. Ed. 4). Van Nostrand Reinhold.
- Nugroho, K., Terryana, R. T., Rijzaani, H., & Lestari, P. (2016). Metode ekstraksi DNA pada *Jatropha* spp. tanpa menggunakan nitrogen cair/DNA extraction method of *Jatropha* spp. Without liquid nitrogen. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 22(4) 159-166.
- Paula-Lopes FF, Chase Jr CC, Al-Katanani YM, Krininger CE, Rivera R M, Tekin S, Majewski AC, Ocon OM, Olson TA, & Hansen PJ. (2003). Genetic divergence in cellular resistance to heat shock in cattle: differences between breeds developed in temperate versus hot climates in responses of preimplantation embryos, reproductive tract tissues and lymphocytes to increased culture temperatures. *Reproduction* 125: 285–294.
- Pearson, W.R. (2013). *An Introduction to Sequence Similarity (“Homology”) Searching*. Curr prot ect Bioinformatics Volume42, Issue1
- Pei-Yu, L., & Kelvin, H.L. (2010). From SNPs to Functional Polymorphism-The Insight Into Biotechnology Application. Elsevier. *Biochemical Engineering Journal* 49: 149–158
- Purnami, S., Syaifudin, M., & Giyatami (2009). Penandaan Dna Dengan 32p Untuk Deteksi Resistensi Mycobacterium Tuberculosis Terhadap Isoniazid. *Jurnal Forum Nuklir*, 3(1): 12-18.
- Puspitaningrum R., Adhiyanto C, Solihin. 2018. *Genetika molekuler dan aplikasinya*. Yogyakarta: Deepublish.
- Putra, A. P., Simanjuntak, P., & Suwarno, T. (2019). Pengaruh metoda ekstraksi simplisia multi herbal dan multi ekstrak daun sukun, seledri dan daun salam

- terhadap aktivitas antikolesterol secara in-vitro. *Medika Tadulako: Jurnal Ilmiah Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan*, 6(2), 78-87.
- Rapley, R. (2000). *The Nucleic Acid Protocols Handbook*. Humara Press. NJ, USA.
- Ristossa, F. (1962). A new puffing pattern induced by heat shock and DNP in drosophila. *Experientia*. 18: 571-573.
- Rogers, K. (2010). *New thinking about genetics*. Britannica Educational Publishing.
- San M & Gao B. (2014). Cytokine function of heat shock proteins. *AJP Cell Physiol*. 286(4):739-44.
- Sanbrook J., & D.W. Russel. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York: Cold-Spring Harbor Laboratory Pr.
- Sartika T, & Iskandar S. (2007). *Mengenal Plasma Nutfah Ayam Indonesia dan Pemanfaatannya*. Balai Penelitian Ternak. Bogor. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Bogor.
- Sartika, T. (2000). *Studi Keragaman Fenotipik dan genetik ayam Kampung (Gallus-gallus domesticus) pada populasi Dasar Seleksi*. Tesis. Program Pascasarjana IPB, Bogor.
- Sartika, T., Iskandar, S., & Tiesnamurti, B. (2016). *Sumber Daya Genetik Ayam Lokal Indonesia Dan Prospek Pengembangannya*. Jakarta: IAARD PRESS.
- Saunders JA, S Mischke, & Hemeida AA. (2001). The use of AFLP techniques for DNA fingerprinting in plants. *Beckman Coulter, Inc. Fullerton*. 9 hlm.
- Sidadolog, J.H.P. (2007). *Pemanfaatan dan Kegunaan Ayam Lokal Indonesia dalam buku Keragaman Sumber Daya Hayati Ayam Lokal Indonesia: Manfaat dan Potensi*. Editor: Diwyanto, K. dan S.N. Prijono. Pusat Penelitian Biologi, LIPI. Edisi Pertama. Hal. 27-42
- Singh, V. K., Singh, A. K., Chand, R., & Kushwaha, C. (2011). Role of bioinformatics in agriculture and sustainable development. *Int J Bioinforma Res*, 3(2), 221-226.
- Singh R, Kolvraa S, Bross P, Jensen UB, Gregersen N, Tan Q, Knudsen C, & Rattan SIS. (2006). Reduced heat shock response in human mononuclear cells during aging and its association with polymorphisms in HSP70 genes. *Cell Stress Chaperones* 11: 208–215.
- Singh RK, Jaishankar J, Muthamilarasan M, Shweta S, Dangi A, & Prasad M. (2016). Genome-wide analysis of heat shock proteins in C 4 model, foxtail millet identifies potential candidates for crop improvement under abiotic stress. *Sci Rep*. 6:32641.

- Sjafaraenan, S., Lolodatu, H., Johannes, E., Agus, R., & Sabran, A. (2018). Profil Dna Gen Follicle Stimulating Hormone Reseptor (Fshr) pada Wanita Akne dengan Teknik Pcr dan Sekuensing Dna. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*, 3(1), 1-11.
- Steward, K. (2022). Polyacrylamide Gel Electrophoresis, How It Works. *Technique Variants and Its Applications Article*
- Sugiyono. (2019). *Statistika untuk Penelitian*. Bandung : CV Alfabeta.
- Sulandari, S., M.S.A. Zein, S. Paryanti, & T. Sartika. (2007). *Taksonomi dan asal-usul ayam domestikasi*. hlm. 5–25. Dalam K. Diwyanto dan S.N. Prijono (Ed.). *Keanekaragaman Sumber Daya Hayati Ayam Lokal Indonesia: Manfaat dan Potensi*. Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor
- Sulandari, S., Zein, M.S.A., Sartika T, & Paryanti S. (2006). *Karakterisasi molekuler ayam lokal Indonesia*. Laporan Akhir Program penelitian dan Pengembangan IPTEK Riset Kompetitif LIPI tahun anggaran 2005-2006. DIPA Biro perencanaan dan keuangan LIPI dan Puslit Biologi, LIPI.
- Supendi, Deni. (2021). *Mengenal Jenis Ayam Kate yang Mungil dan Lucu*. [Online]. Diakses dari: <https://www.harapanrakyat.com/2021/12/jenis-ayam-kate/> Pada tanggal 30 Juli 2023
- Surzycki S. (2000). General aspects of DNA isolation and purification. *Basic Techniques in Molecular Biology*. 1-32.
- Syafaruddin & T.J. Santoso. (2011). Optimasi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNAYang Efisien dan Efektif pada Kemiri Sunan {Reutalis trisperma (Blanco) Airy Shaw}. *Jurnal Littri*. Vol. 17. No. 1. PP. 11-17.
- Tallei, T & Kolondam BJ. (2015). DNA Barcoding of Sangihe Nutmeg (*Myristica fragrans*) using matK Gene. *Hayati Journal of Biosciences* 22(1): 41-47.
- Tamzil, M. H., Noor, R. R., Hardjosworo, P. S., Manalu, W., & Sumantri, C. (2013). Acute heat stress responses of three lines of chickens with different heat shock protein (HSP)-70 genotypes. *Intern J Poult Sci*. 12(5), 264-272.
- Tamzil, M. H. (2014). Stres panas pada unggas: metabolisme, akibat dan upaya penanggulangannya. *Wartazoa*, 24(2), 57-66.
- Tkáčová J & Angelovičová M. (2012). Heat shock protein (HSPs): a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 45(1): 349-353.
- Twyman RM. (2005). *Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Genotyping Techniques-An Overview*. *Encyclopedia of Diagnostic Genomic*.

- Wang DG, Fan JB, Siao CJ, & Berno A. (1998). Identifikasi skala besar, pemetaan, dan genotipe tunggal polimorfisme nukleotida dalam genom manusia. *Sains* 280: 1077-1082.
- Warmadewi, D. A. (2017). *Mutasi genetik*. Universitas Udayana, Denpasar
- Whittow, G. C. (1986). Regulation of body temperature. In *Avian physiology* (pp. 221-252). New York, NY: Springer New York.
- Wilkerson, R. C., Parsons, T. J., Albright, D. G., Klein, T. A., & Braun, M. J. (1993). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers readily distinguish cryptic mosquito species (Diptera: Culicidae: Anopheles). *Insect Molecular Biology*, 1(4), 205-211.
- Wintari, N., Pharmawati, M., & Wiratmini, N. I. (2019). Keragaman Genetik dan Hubungan Kekerbatan Ayam Lokal Berdasarkan Penanda RAPD. *Metamorfosa Journal of Biological Sciences*, 6 (2). ISSN eISSN: 2655-8122
- Xia, M., Gan, J., Luo, Q., Zhang, X., & Yang, G. (2013). Identification of duck HSP70 gene, polymorphism analysis and tissue expression under control and heat stress conditions. *British Poult. Sci*: 54(5):562-566.
- Yusuf, A. K. (2010). Polymerase Chain Reaction (PCR). *Saintek* 5 (6): 1–6
- Zhen, F.S., Du, H.L., Xu, H.P., Luo, Q.B., & Zhang, X.Q. (2006). Tissue and allelic-specific expression of HSP70 gene in chickens: basal and heat-stress-induced mRNA level quantified with real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction. *British Poult. Sci*. 47: 449-455