

Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2014

Genotiping Gen Mx dengan SNP Analisis 7500 *Fast Real Time* PCR pada Ayam KUB

(Genotyping of Mx Gene Using SNP Analysis 7500 *Fast Real Time* PCR of KUB Chicken)

Tike Sartika

Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 16002
tikesartika@hotmail.com

ABSTRACT

Currently, molecular technology is rapidly developed and that is supported by modern equipment. Identification of a single point mutation technology (SNP analysis) to determine the genotype of individual chickens that are usually done by restriction enzyme to recognize nucleotides point mutations, currently can be done by Real Time PCR. A total of 69 DNA samples of KUB chicken consisting of 33 roosters and 36 hens were used in this study. Applied Biosystems 7500 *Fast Real Time* PCR was used to detect KUB chicken genotypes that are either resistant to AI (homozygote A/A), resistant or sensitive (heterozygote A/G) or sensitive to AI (homozygous G/G). Results showed that the genotyping of KUB chickens produce genotype frequency A/A, A/G and G/G respectively 34.78; 47.83 and 17.39%. Frequency of A allele was 58.70 and 41.30% for the G allele. Observed heterozygosity (HO) and expected heterozygosity (HE) was quite high respectively 0.4783 and 0.4848. Result of chi-square analysis of KUB chicken samples based on Mx gene genotype was still in the Hardy Weinberg Equilibrium (HWE).

Key Words: KUB Chicken, Mx Gene, SNP Analisis, RT-PCR

ABSTRAK

Teknologi molekuler saat ini cukup pesat perkembangannya dan didukung oleh peralatan yang semakin modern. Identifikasi mutasi satu titik (SNP analisis) dalam menentukan genotype individu ternak yang biasanya dilakukan dengan pemotongan enzim untuk mengenali titik mutasi nukleotida, saat ini dapat dilakukan dengan *real time* PCR. Sebanyak 69 sampel DNA ayam KUB (Kampung Unggulan Badan Litbang Pertanian) yang terdiri atas 33 sampel DNA ayam jantan dan 36 sampel DNA ayam betina digunakan dalam penelitian ini. *Applied biosystems 7500 fast real time* PCR digunakan untuk tujuan mendeteksi genotype ayam KUB yang tahan terhadap AI (homozigot A/A), bisa tahan dan bisa tidak (heterozigot A/G) dan tidak tahan AI (homozigot G/G). Hasil penelitian menunjukkan bahwa genotiping gen Mx pada ayam KUB menghasilkan frekuensi genotype A/A, A/G dan G/G masing-masing sebanyak 34,78; 47,83 dan 17,39%. Frekuensi alel A sebesar 58,70% dan alel G sebesar 41,30%. Heterozigositas pengamatan (HO) dan heterozigositas harapan (HE) cukup tinggi masing-masing sebesar 0,4783 dan 0,4848. Hasil analisis *chi-square* pada sampel ayam KUB berdasarkan genotype gen Mx masih berada pada keseimbangan Hardy-Weinberg (HWE/*Hardy Weinberg Equilibrium*).

Kata Kunci: Ayam KUB, Gen Mx, SNP Analisis, RT-PCR

PENDAHULUAN

Gen Mx (*myxovirus resistance gene*) telah banyak dipelajari karena merupakan protein Mx antiviral, bagian dari *innate immune system* yang dapat menghasilkan interferon/IFN yang menginduksi GTPase enzim (Praefcke & McMahon 2004). IFN akan bekerja apabila terdeteksi adanya RNA virus yang dikenali

oleh sel inang. IFN ini menginduksi ekspresi lebih dari 300 *interferon-stimulated genes* (ISGs) yang sangat efektif melawan virus karena mempunyai aktivitas antiviral yang tinggi seperti memblokir sintesis protein, mendegradasi genom RNA (Marzinger et al. 2013).

Ding et al. (2006) mengemukakan bahwa saat ini, gen Mx hanya satu-satunya gen

antivirus *Avian Influenza* (AI). Schumacher et al. (1994) mengemukakan gen Mx terdiri atas 14 *exon* dan translasi dimulai pada *start* kodon *exon* kedua. Bernasconi et al. (1995) pertama kali melaporkan gen Mx pada ayam White Leghorn Jerman, mengemukakan bahwa total panjang gen Mx yang mengkode asam amino ada 705 dan lokasi utama gen Mx terletak pada sitoplasmik, namun tidak terdapat aktivitas antiviral maupun *vesicular stomatitis viruses* (VSV). Selanjutnya, Ko et al. (2002) telah mengsekuen Mx cDNA pada beberapa *breed* ayam lokal Jepang mendapatkan 25 substitusi nukleotida pada fragmen gen Mx dan hanya 14 nukleotida menyebabkan perubahan asam amino, namun yang mempunyai efek aktivitas antiviral hanya pada satu nukleotida yaitu mutasi S-631-N, serin (G) *sensitive allele* dan asparagin (A) resisten alel. Nonsinonim G/A *polymorphism* pada posisi 2032 Mx cDNA ayam menghasilkan perubahan asam amino S-631-N dari protein Mx (Ko et al. 2002; 2004).

Seyama et al. (2006) sependapat dengan Ko et al. (2002) mempelajari lebih lanjut bahwa substitusi asam amino S-631-N berada pada daerah *GTPase effector domain* (GED) mengkode permulaan *exon* 14. Sebanyak 470 pb PCR produk disekuen untuk mengetahui mutasi nukleotida pada gen Mx ayam hutan Indonesia dan ayam hutan Laos, dan melaporkan terdapat enam mutasi nukleotida yaitu pada posisi 2032 (S-631-N), 2158 (Q-673-L), 2165 (D-675-Y), 2178 (N-680-Y), 2203 (R-688-K) dan 2231 (Q-697-H), sejalan dengan Ko et al. (2002) melaporkan bahwa posisi S-631-N merupakan satu-satunya nukleotida yang berkorelasi dengan aktivitas antiviral. Dari hasil tersebut, untuk mendeteksi nukleotida serin (alel G) ataupun asparagin (alel A) dalam menentukan individu ayam resisten atau sensitif virus AI telah dikembangkan metode *polimerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism* (PCR-RFLP).

Seyama et al. (2006) mengembangkan metode *mismatch* PCR-RFLP menggunakan enzim restriksi *RsaI* dan *SspI*. Sulandari et al. (2009) menggunakan metode PCR-RFLP dengan pemotongan enzim *HpaI* dan Sironi et al. (2010) mengembangkan metode PCR-RFLP dengan pemotongan enzim *Hpy81*. Dari keempat metodologi dengan menggunakan enzim restriksi yang berbeda mendapatkan

hasil genotipe yang tidak berbeda nyata (Sartika 2014). Namun demikian, metodologi genotyping dengan PCR-RFLP memerlukan pekerjaan laboratorium yang rumit (*laborious work*) dan masih adanya penggunaan zat-zat kimia berbahaya seperti *akrilamid*, *ethidium bromide*, perak nitrat dan lainnya yang limbahnya membahayakan.

Dengan adanya alat baru 7500 *real time* PCR yang dapat mendeteksi mutasi satu titik dengan pelabelan (*probe*) maka pada penelitian ini telah dikembangkan metode baru untuk mendeteksi mutasi satu titik dengan mendesain primer dan *probe* gen Mx pada ayam didasarkan pada sekuen yang telah dipelajari Seyama et al. (2006) berdasarkan sekuen ayam database NCBI *accession no* Z23168. Tujuan penelitian ini mengembangkan metode genotyping gen Mx dan mengetahui variasi genotipe gen Mx pada ayam KUB.

MATERI DAN METODE

Sebanyak 69 sampel DNA ayam KUB (Kampung Unggulan Badan Litbang Pertanian) digunakan dalam penelitian ini. Genotyping gen Mx untuk menentukan genotipe A/A (resisten AI), genotipe A/G (resisten/sensitif AI) dan genotipe G/G (sensitif AI) digunakan dengan metode mutasi satu titik (SNP analisis) dengan *Taqman real time* PCR. Mesin RT-PCR yang digunakan adalah *applied biosystems 7500 fast real time* PCR.

Analisis mutasi satu titik, dalam hal ini nukleotida A ditentukan oleh *probe* yang di label dengan pewarna 1-VIC-MGB berwarna hijau (gen Mx⁺) dan untuk menentukan mutasi titik nukleotida G menggunakan *probe* yang dilabel dengan pewarna 16-FAM-MGB berwarna biru (gen Mx⁻). Protokol RT PCR untuk gen Mx didesain dengan kondisi suhu 95°C, 20 detik untuk *hold* denaturasi, selanjutnya denaturasi pada suhu 95°C, 3 detik, dan *annealing-extension* pada suhu 60°C, 30 detik sebanyak 40 siklus. *Pre-read* dan *post read* pada suhu 60°C, 1 menit. *Cocktail* RT-PCR terdiri atas *taqman GTXpress Master Mix* (1x) 12,5 ul, Primer (F) 1 ul, primer (R) 1 ul, *Probe* 1 (FAM) 1 ul, *Probe* 2 (VIC) 1 ul, *PCR Grade water* 3,5 ul, *DNA template* 5 ul, sehingga total volume 25 ul.

Primer dan probe yang digunakan untuk amplifikasi genotipe gen Mx sebagai berikut:

Primer forward (F):

3'-CAGCCTGTTTTTCTCCTTTTAGG-5',

Primer reverse (R):

3'-AGTAGAGAGGATGATCAGAGGAATCTG-5'.

Probe-1 berwarna hijau untuk mendeteksi alel A dengan urutan nukleotida:

Vic-CTTGTAGGGAGCAAATA-MGB,

probe-2 berwarna biru untuk mendeteksi alel G dengan urutan nukleotida:

Fam-TAGGGAGCAAGTAA-MGB.

Hasil genotyping dapat langsung dibaca pada gambar berupa grafik dan data dapat ditransfer ke dalam file excel. Perhitungan dilakukan untuk frekuensi genotipe, frekuensi alel, nilai heterozigositas dan *hardy-weinberg equilibrium* (HWE). Data-data sifat kualitatif dilaporkan secara deskriptif dan analisis dengan menggunakan perhitungan frekuensi gen menurut formula HWE (Hartle & Clark 1997), dengan persamaan:

$$(p+q) = 1$$

$$(p^2+2pq+q^2) = 1$$

P : Frekuensi gen dominan

Q : Frekuensi gen resesif

p² : Jumlah individu yang homozigot dominan

2pq : Jumlah individu yang heterozigot

q² : Jumlah individu yang homozigot resesif

Perhitungan heterozigositas untuk menentukan keragaman $\bar{H} = 1-p^2$. Berdasarkan rumus yang disarankan oleh Nei (1987) dan Hartle & Clark (1997):

$$h = 1 - \sum q_i^2 \quad \bar{H} = \frac{\sum h}{r}$$

\bar{H} : Rata-rata heterozigositas per individu

H : Heterozigositas harapan individu

q_i : Frekuensi gen ke-i

r : Jumlah lokus

Perhitungan heterozigositas pengamatan (*observed*), dimana n adalah jumlah individu pada populasi dan a_{i1}, a_{i2} adalah individu alel ke-i pada target lokus.

$$H_o = \frac{\sum_{i=1}^n (1 \text{ if } a_{i1} \neq a_{i2})}{n}$$

Perhitungan simpangan baku heterozigositas {SE (h)} dan simpangan baku

rata-rata heterozigositas {SE (\bar{H})} berdasarkan rumus Nei (1987) sebagai berikut:

$$SE(h) = \frac{2}{\sqrt{2n(2n-1)}} \{2(2n-2)[\sum q_i^3 - (\sum q_i^2)^2] + \sum q_i^2 - (\sum q_i^2)^2\}$$

$$SE(\bar{H}) = \sqrt{\frac{\sum h_i^2 - rH^2}{r(r-1)}}$$

SE (h) : Simpangan baku heterozigositas

SE (\bar{H}) : Simpangan baku rata-rata heterozigositas

\bar{H} : Rata-rata heterozigositas per individu

H : Heterozigositas harapan individu

q_i : Frekuensi gen ke-i

R : Jumlah lokus

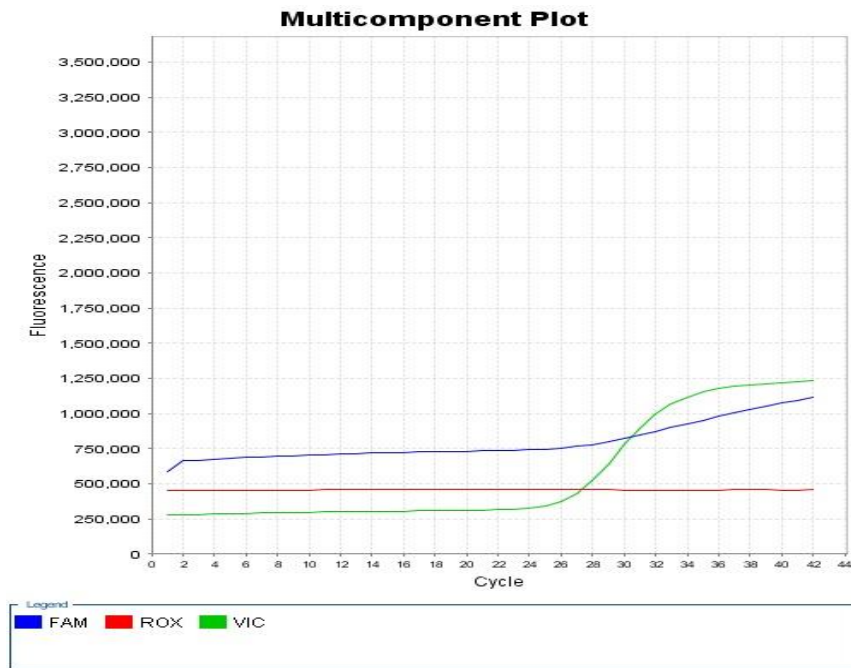
HASIL DAN PEMBAHASAN

Genotyping gen Mx dengan RT-PCR

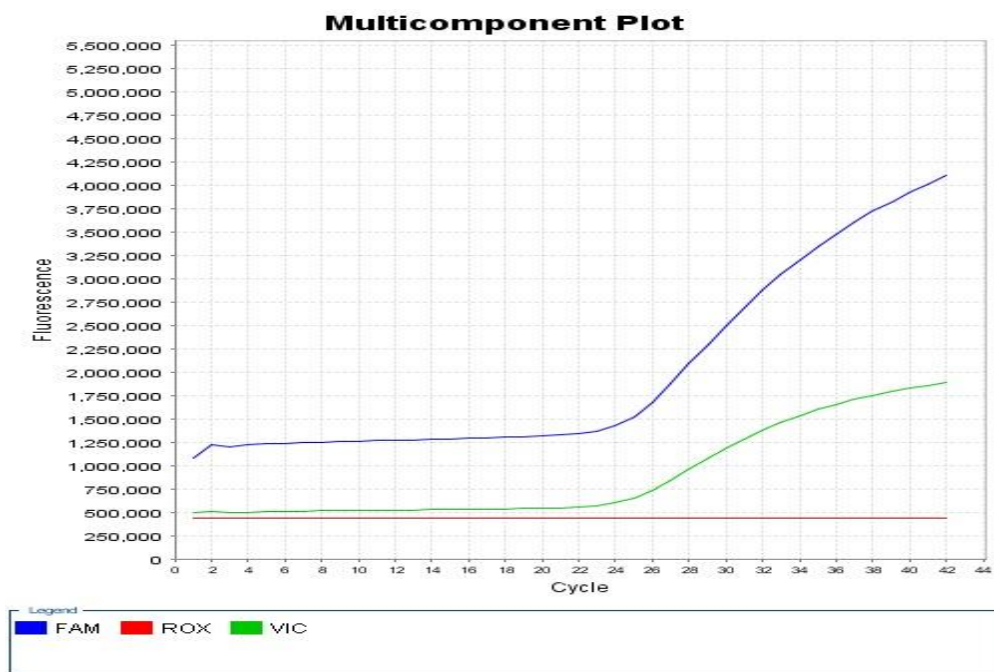
Genotyping gen Mx dengan RT-PCR menghasilkan data yang langsung mudah dibaca dan digambarkan dalam bentuk grafik. Penggunaan probe dengan pewarnaan *Fam* dan *Vic* dapat mendeteksi mutasi satu titik, dalam hal ini mengenali nukleotida A menyebabkan perubahan urutan nukleotida menjadi asam amino *Asn* (A) yang menandakan ayam tahan/resisten terhadap AI atau nukleotida G menyebabkan perubahan urutan nukleotida menjadi asam amino serin (G) tidak tahan/sensitif terhadap AI.

Hasil penelitian menunjukkan *single nucleotide polymorphism* (SNP) analisis dengan RT-PCR dapat mendeteksi genotipe A/A, A/G dan G/G seperti terlihat pada Gambar 1, 2 dan 3. Gambar 1 menunjukkan genotipe homozigot A/A dengan meningkatnya satu garis kurva berbentuk sigmoid berwarna hijau yang melebihi garis ambang batas (*threshold*) dilabel dengan probe *Vic*, menandakan ayam tahan/resisten terhadap AI, gen Mx⁺⁺. Pada Gambar 2 menunjukkan genotipe heterozigot A/G dengan meningkatnya dua garis kurva berbentuk sigmoid berwarna hijau dan biru yang melebihi garis ambang batas (*threshold*) dilabel dengan probe *Vic* dan *Fam*, menandakan ayam bisa tahan dan bisa sensitif, gen Mx⁺.

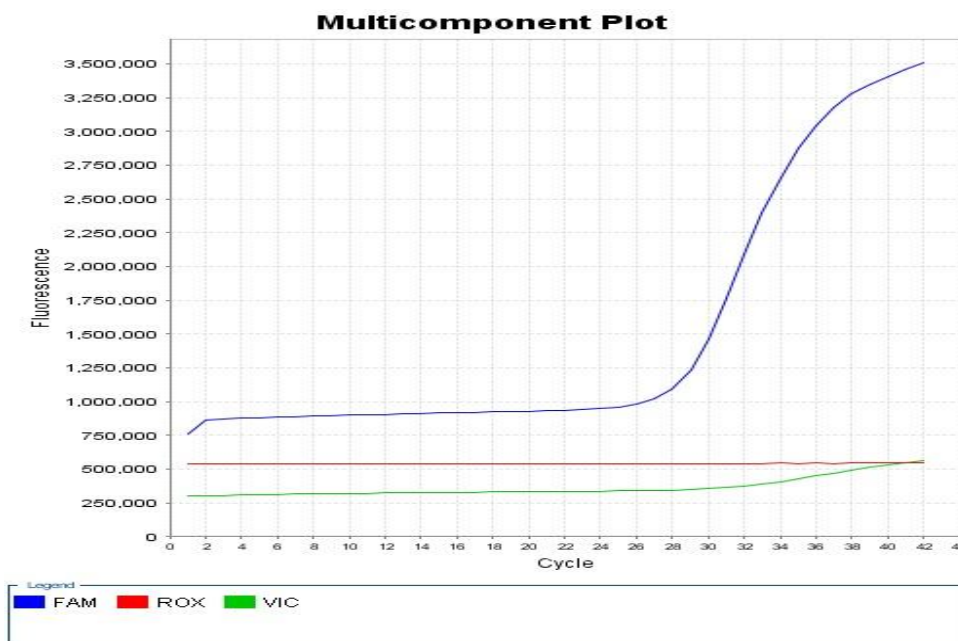
Hasil genotyping dengan RT-PCR pada Gambar 3 menunjukkan genotipe homozigot G/G dengan meningkatnya satu garis kurva berbentuk sigmoid berwarna biru yang



Gambar 1. Hasil genotyping RT-PCR dengan *probe* mutasi satu titik SNP analisis menunjukkan genotipe homozigot A/A



Gambar 2. Hasil genotyping RT-PCR dengan *probe* mutasi satu titik SNP analisis menunjukkan genotipe heterozigot A/G



Gambar 3. Hasil genotyping RT-PCR dengan probe mutasi satu titik menunjukkan genotipe homozigot G/G

melebihi garis ambang batas (*threshold*) dilabel dengan pewarna *probe Fam*, menunjukkan ayam sensitif terhadap AI, gen Mx.

Hasil genotyping dengan SNP menghasilkan genotipe yang sama dengan hasil PCR-RFLP baik dengan pematangan enzim *RsaI*, *SspI* (Seyama et al. 2006; Sartika et al. 2011; Sartika 2013), enzim restriksi *HpaI* (Sulandari et al. 2009) maupun enzim restriksi *Hpy81* (Sironi et al. 2010; Pagala 2014), namun penggunaan SNP analisis dengan RT-PCR hasilnya lebih jelas dan akurat.

Hasil genotyping secara kumulatif dari SNP analisis dengan RT-PCR dapat digambarkan distribusi genotipe berdasarkan kluster genotipe A/A, A/G dan G/G atau Mx^{++} , Mx^{+} dan Mx^{-} seperti Gambar 4. Plot berwarna merah menunjukkan kumpulan genotipe homozigot A/A atau Mx^{++} (tahan/resisten), plot berwarna hijau menunjukkan kumpulan genotipe heterozigot A/G atau Mx^{+} (bisa tahan atau bisa sensitif) dan plot berwarna biru menunjukkan kumpulan genotipe homozigot G/G atau Mx^{-} (sensitif).

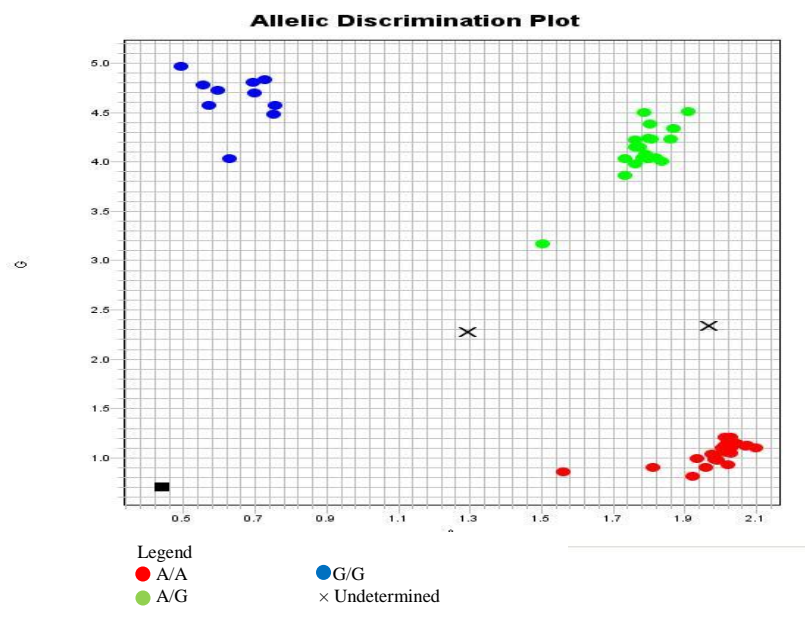
Frekuensi genotipe

Hasil perhitungan frekuensi genotipe dan alelik gen Mx ayam KUB hasil genotyping RT-

PCR dengan SNP analisis disajikan pada Tabel 1.

Pada ayam KUB jantan menghasilkan frekuensi genotipe A/A dan A/G masing-masing sebesar 36,36% dan frekuensi genotipe G/G sebesar 27,28%; sedangkan untuk ayam betina menghasilkan frekuensi genotipe A/A sebesar 33,33%; frekuensi genotipe A/G sebesar 58,33% dan frekuensi genotipe G/G sebesar 8,34%. Hasil ini sama dengan yang diperoleh Sartika et al. (2011) bahwa pada ayam lokal umumnya menghasilkan frekuensi genotipe A/G tertinggi, kemudian genotipe A/A dan yang terendah adalah genotipe G/G, sehingga diperoleh hasil frekuensi alel A lebih tinggi dibandingkan dengan alel G, pada penelitian ini dihasilkan frekuensi alel A sebesar 58,7% dan alel G sebesar 41,43% yang dihitung dari total sampel (Tabel 1).

Hasil ini sesuai dengan Li et al. (2006) dan Seyama et al. (2006) yang menyatakan bahwa pada ayam lokal umumnya frekuensi alel A diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan alel G. Berbeda dengan hasil Quan et al. (2010) dan Luan et al. (2010) pada ayam lokal China mendapatkan alel G (sensitif) lebih tinggi dari alel A (resisten) namun pada ayam hutan China diperoleh alel A yang lebih tinggi dibandingkan dengan alel G. Balkissoon et al. (2007) mendapatkan frekuensi alel A sangat



Gambar 4. Distribusi genotipe berdasarkan *clustering* genotipe A/A, A/G dan G/G hasil SNP analisis RT-PCR

Table 1. Frekuensi genotipe dan frekuensi alel gen Mx ayam KUB hasil genotyping RT-PCR

Sampel (n) ayam KUB	Genotipe			Frekuensi genotipe (%)			Frekuensi alel (%)	
	AA	AG	GG	AA	AG	GG	A	G
Jantan (33)	12	12	9	36,36	36,36	27,28	54,55	45,45
Betina (36)	12	21	3	33,33	58,33	8,34	62,50	37,50
Total (69)	24	33	12	34,78	47,83	17,39	58,70	41,30

rendah pada ayam tipe pedaging seperti broiler (0,021) dan cukup tinggi pada ayam tipe petelur White Leghorn (0,779) sehingga dinyatakan bahwa pada ayam ras frekuensi genotipe gen Mx tergantung pada sifat produksinya.

Heterozigositas gen Mx

Nilai heterozigositas menunjukkan keragaman dari suatu populasi, semakin tinggi nilai heterozigositas semakin beragam suatu populasi. Heterozigositas dihitung dari frekuensi alel suatu gen, dalam hal ini perhitungan berdasarkan frekuensi alel gen Mx dan heterozigositas yang dihitung adalah nilai *observed* dan *expected heterozygosity*. Di dalam suatu populasi seringkali nilai heterozigositas menjadi acuan dalam keseimbangan HWE. Apabila nilai

heterozigositas yang diamati (*observed*) lebih rendah dari yang diharapkan (*expected*) artinya telah terjadi *inbreeding* dan apabila terjadi sebaliknya yang diharapkan lebih rendah dari yang diamati artinya diduga terjadi efek pemisahan *isolate* dari suatu populasi (Hartle & Clark 1997).

Pada penelitian ini, perhitungan heterozigositas yang diharapkan (*expected heterozygosity*) dan yang *observed* disajikan pada Tabel 2. Hasil SNP analisis RT-PCR menunjukkan bahwa walaupun pada ayam jantan nilai heterozigositas yang diharapkan (H_e) lebih rendah dari heterozigositas yang diamati (H_o), namun secara keseluruhan mempunyai nilai heterozigositas antara H_e dan H_o yang seimbang dan berdasarkan nilai χ^2 *chi-square* menunjukkan pada sampel ayam KUB yang diamati masih dalam keseimbangan HWE, dalam hal ini walaupun ayam KUB

Tabel 2. Heterozigositas pengamatan (Ho) dan heterozigositas harapan (He) gen Mx ayam KUB hasil genotiping RT-PCR

Sampel (n) ayam KUB	Heterozigositas gen Mx ayam KUB			
	Heterozigositas pengamatan (Ho)	Heterozigositas harapan (He)	SE	χ^2
Jantan (33)	0,3636	0,4958	0,0122	0,0353
Betina (36)	0,5833	0,4687	0,0183	0,0280
Total (69)	0,4783	0,4848	0,0092	0,0001

telah dilakukan seleksi ke arah produksi telur, namun distribusi genotipe gen Mx masih *random* belum dilakukan seleksi. Hal ini sejalan dengan hasil Quan et al. (2010) yang menganalisis polimorfisme genetik pada ayam lokal China mengemukakan bahwa sampel ayam lokal China masih dalam keseimbangan HWE.

Rata-rata nilai heterozigositas hasil SNP analisis disajikan pada Tabel 2 menunjukkan nilai heterozigositas cukup tinggi yaitu mendapatkan nilai heterozigositas pengamatan (*observed heterozygosity*) dan heterozigositas yang diharapkan (*expected heterozygosity*) pada total sampel masing masing sebesar 0,4783 dan 0,4848. Nilai heterozigositas ini dapat menjadi acuan untuk dilakukannya seleksi ke arah yang lebih homogen, dalam hal ini seleksi diarahkan untuk sifat resistensi atau ketahanan terhadap virus AI yaitu pada individu yang mempunyai genotipe A/A.

KESIMPULAN

Hasil genotiping gen Mx dengan SNP analisis RT-PCR mendapatkan genotipe A/A, A/G dan G/G yang lebih jelas dan mudah dibaca. Genotiping gen Mx pada ayam KUB menghasilkan frekuensi genotipe A/A, A/G dan G/G masing-masing sebanyak 34,78; 47,83 dan 17,39%. Frekuensi alel A lebih tinggi dibandingkan dengan alel G sehingga proporsi ayam KUB yang tahan AI lebih tinggi dibandingkan dengan yang sensitif. Keragaman genetik gen Mx cukup tinggi yang diperlihatkan oleh nilai heterozigositas baik pengamatan (*observed*) maupun yang diharapkan (*expected*) masing-masing sebesar 0,4783 dan 0,4848. Berdasarkan genotipe gen Mx, ayam KUB masih berada pada keseimbangan HWE.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Penelitian Ternak, Puslitbangnak dan Badan Litbang Pertanian yang telah membiayai penelitian ini. Penelitian ini adalah bagian kegiatan penelitian Balitnak dengan no ROPP: 1806.010.003/P-03/NR/Breed/2013. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdr. Anne Sukmara, SPt dan Layla Zulqoyah sebagai teknisi Litkayasa yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Balkissoon D, Staines K, McCauley J, Wood J, Young J, Kaufman J, Butter C. 2007. Low frequency of the Mx allele for viral resistance predates recent intensive selection in domestic chickens. *Immunogenetics*. 59:687-691.
- Bernasconi D, Schultz U, Staeheli P. 1995. The interferon-induced Mx protein of chickens lacks antiviral activity. *J Interferon Cytokine Res*. 15:47-53.
- Ding ZZ, Miao XY, Sun SD. 2006. The advance of study on anti-avian influenza in transgenic chicken. *Chinese Anim Husbandry Vet Med*. 33:41-43.
- Hartle DL, Clark AG. 1997. Principles of population genetics. 3rd ed. Massachusetts (US): Sinauer Associates Inc. Publisher.
- Ko JH, Jin HK, Asano A, Takada A, Ninomiya A, Kida H, Hokiya H, Ohara M, Tsuzuki M, Nishibori M, et al. 2002. Polymorphisms and the differential antiviral activity of the chicken Mx gene. *Genome Res*. 12:595-601.
- Ko JH, Takada A, Mitsushashi T, Agui T, Watanabe T. 2004. Native antiviral specificity of chicken Mx protein depends on amino acid variation at position 631. *Anim Genet*. 35:119-122.
- Li J., Melenhorst J., Hensel N., Rezvani K. et al. 2006. T-cell responses to peptide fragments of

- the BK virus T antigen: implications for cross-reactivity of immune response to JC virus. *J Gen Virol.* 87:2951-2960.
- Luan DQ, Chang GB, Sheng ZW, Liu YA, Chen GH. 2010. Analysis on the polymorphism and genetic effect on some economic traits of Mx gene S 631 N mutation site in chicken. *Thai J Vet Med.* 40:303-310.
- Marzinger SR, Carol TD, Dutra JC, Ma ZM, Miller CJ. 2013. Myxovirus resistance gen A (Mx A) expression supresses influenza A virus replication in alpha interferon treated primate cell. *J Virol.* 87:1150-1158.
- Nei M. 1987. *Molecular evolutionary genetics.* New York (US): Columbian University Press.
- Pagala MA. 2014. Identifikasi sifat ketahanan penyakit viral menggunakan gen Mx sebagai marka genetik pada ayam Tolaki [Disertasi]. [Bogor (Indonesia)]: Institut Pertanian Bogor.
- Praefcke GJK, McMahon HT. 2004. The dynamin superfamily: Universal membrane tubulation and fission molecules? *Nat Rev Mol Cell Biol.* 5:133-147.
- Quan TZ, Wei WX, Min S, Yan YH, Bing CG, Wei RL, Chun LB. 2010. The genetic distribution and polymorphism analysis of antiviral resistant Mx gene locus in fifteen Chinese indigenous chicken breeds. *J Anim Vet Adv.* 9:402-405.
- Sartika T, Sulandari S, Zein MSA. 2011. Selection of Mx gene genotype as genetic marker for Avian Influenza resistance in Indonesian native chicken. In: *Proceedings International Symposium on Animal Genomics for Animal Health (AGAH 2010) Vol 5 (Suppl 4)* [Internet]. Paris, 31 May-2 June 2010. Paris (France): BMC Proceedings. p. S37. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1753-6561/5/S4/S37>.
- Sartika T. 2013. Identifikasi gen Mx sebagai penanda resistensi flu burung pada ayam KUB. Dalam: Abbas H, Husmaini, Rusdimansyah, Rahmiwati, penyunting. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan Padang (Indonesia): Fakultas Peternakan Universitas Andalas.* hlm. 177-188.
- Sartika T. 2014. Identification of Avian Influenza resistance using 3 primers Mx gene at Merawang chicken from South Sumatera Island, Indonesia. In: *Proceeding 16th AAAP Congr.* Yogyakarta, 10-14 November 2014. Yogyakarta (Indonesia): Indonesian Society of Animal Science.
- Schumacher B, Bernasconi D, Schultz U, Staeheli P. 1994. The chicken Mx promoter contains an ISRE motif and confers interferon inducibility to a reporter gene in chick and monkey cells. *Virology.* 203:144-148.
- Seyama T, Ko JH, Ohe M, Sasaoka N, Okada A, Gomi H, Yoneda A, Ueda J, Nishibori M, Okamoto S, et al. 2006. Population research of genetic polymorphism at amino acid position 631 in chicken Mx protein with differential antiviral activity. *Biochem Genet.* 44:437-448.
- Sironi L, Ramelli P, Williams JL, Mariani P. 2010. PCR-RFLP genotyping protocol for chicken Mx gene G/A polymorphism associated with the S631N mutation. *Genet Mol Res.* 9:1104-1108.
- Sulandari S, Zein MSA, Astuti D, Sartika T. 2009. Genetic polymorphisms of the chicken antiviral Mx gene in a variety of Indonesian indigenous chicken breeds. *Indonesian Vet J.* 10:50-56.