

Analisis D-loop DNA Mitokondria untuk Memosisikan Ayam Hutan Merah dalam Domestikasi Ayam di Indonesia

Analysis of D-loop Mitochondrial DNA to Investigate the Position of Red Jungle Fowl in the Domestication Chicken in Indonesia

S. Sulandari * & M.S.A. Zein

Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Jln. Raya Jakarta Bogor Km 46 Cibinong 16911
(Diterima 03-12-2008; disetujui 12-03-2009)

ABSTRACT

The current poultry is a domesticated chickens used for both meat and egg production. Pedigree investigation is an important part to understand the process of chicken domestication in Indonesia. Molecular DNA approach using D-loop Mitochondrial DNA marker (hypervariable 1 segment) was used in this analysis. The objective of the study was to construct the pedigree analysis of Indonesian chicken. Four hundreds and eighty four (434) samples belonging to 15 breeds of Indonesian local chicken (Cemani, Kedu, Kedu Putih, Pelung, Sentul, Wareng, Merawang, Kapas, Kate, Arab Silver, Arab Gold, Gaok, Nunukan, Kalosi and Tolaki) and 9 samples of Red jungle fowls (*Gallus gallus gallus*) were extracted, PCR amplified and subsequently sequenced. Four sequence references from GeneBank, *Gallus gallus* (NCBI, accession number AB098668), *G. gallus* (GenBank accession number AB098668), *G. gallus spadiceus* (GenBank accession number AB007721), and *G. gallus bankiva* (GenBank accession number AB007718) were included in this analysis. The sequences of the first 397 nucleotides were used for analysis. The results show that 72 haplotypes were identified from 56 polymorphic sites. Phylogenetic analysis showed that Indonesian chicken have a close relationship with 2 subspecies of *Gallus gallus* (*G. gallus gallus* and *G. gallus spadiceus*). Our results suggest that D-loop region is highly variable in Indonesian chicken with large number of haplotypes.

Key words: Gallus gallus, Indonesian chicken, D-loop Mitochondrial DNA

PENDAHULUAN

Ayam hutan merah (red jungle fowl) di Indonesia adalah *Gallus gallus bankiva* yang penyebarannya meliputi Jawa, Sumatera bagian selatan, Bali dan *Gallus gallus spadiceus* yang penyebarannya di Sumatra bagian utara, China Selatan, Burma, Thailand, dan

* Korespondensi:
Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Widyasatwaloka Building, Jln. Raya Jakarta Bogor Km 46
Cibinong 16911
Telp. 021-8765056, Fax. 021-8765068,
e-mail: ssulanda@yahoo.co.id

semenanjung Malaysia. Selain itu, di Indonesia juga terdapat ayam hutan hijau (green jungle fowl), yaitu *Gallus varius* yang penyebarannya meliputi Nusa Tenggara Timur, Nusa Tenggara Barat, Bali dan Jawa (Sibley & Monroe, 1990), sedangkan ayam domestik (lokal) yang dikenal sekarang ini (*Gallus gallus domesticus*) berasal dari ayam hutan di Asia yang diperkirakan telah mengalami domestikasi lebih dari 3000 tahun yang lalu (Moreng & Avens, 1985; Sullivan, 1991; Siegel *et al.*, 1992; Fumihito *et al.*, 1994; Romanov & Weigend, 2001; Hillel *et al.*, 2003; Vaisanen *et al.*, 2005). Nataamijaya *et al.* (1996) dan Natamijaya (2000) mengemukakan bahwa ayam lokal Indonesia terdiri atas 31 galur yang memiliki keanekaragaman morfologi yang berbeda, sehingga sangat menarik untuk dipelajari mengingat komoditas ini paling banyak dipelihara oleh masyarakat Indonesia khususnya di pedesaan. Namun manfaat dan potensi ayam lokal Indonesia (ayam domestikasi) belum banyak yang diungkap terutama tentang hubungan antara ayam lokal dengan ayam hutan merah (red jungle fowl) yang ada di Indonesia.

Proses domestikasi mengakibatkan adanya beberapa perbedaan dan kesamaan antara ayam domestikasi dan ayam hutan merah sebagai nenek moyangnya (Lindqvist *et al.*, 2002; Vaisanen & Jensen, 2003; Vaisanen & Jensen, 2004; Weeks & Nicol, 2006). Selanjutnya Moiseyeva *et al.* (2003) menyelidiki hubungan kesamaan dan evolusioner antara *G. gallus* dan rumpun ayam yang berbeda. Crawford (1990) menyatakan adanya perdebatan tentang asal-usul ayam domestikasi apakah monofiletik atau polifiletik. Hasil studi dari berbagai penelitian (Moreng & Avens, 1985; Crawford, 1990; Sullivan, 1991; Siegel *et al.*, 1992; Fumihito *et al.*, 1994; Romanov & Weigend, 2001; Hillel *et al.*, 2003; Vaisanen, *et al.*, 2005; Columbia Encyclopedia, 2006) menyebutkan bahwa ayam hutan merah adalah nenek moyang langsung dari ayam domestikasi yang secara komersial untuk produksi daging dan telur. *Gallus gallus gallus* (ayam hutan merah) merupakan asal mula dari semua rumpun ayam domestikasi (Fumihito *et al.*, 1994 dan 1996)

dan kemungkinan sebagai nenek moyang tunggal dari ayam domestikasi (Collias & Collias, 1996).

Seiring dengan perkembangan teknologi DNA sebagai salah satu alat utama di dalam berbagai penelitian di bidang biologi secara luas, maka para ilmuwan mulai menelusur kembali asal-usul nenek moyang ayam dengan menggunakan analisis DNA. Pembuktian dengan DNA molekuler akan memberikan gambaran jelas dan membuka fenomena baru tentang perjalanan kebudayaan manusia di dalam memanfaatkan sumberdaya hayati ayam lokal untuk keperluan kehidupannya. Collias & Collias (1996) dan Hillel *et al.* (2003) membuktikan penggunaan genetika molekuler dan teknik mikrosatelit bahwa asal-usul dari ayam domestikasi adalah monofiletik.

Kajian keragaman genetik yang berdasarkan DNA mitokondria saat ini sangat berkembang karena DNA mitokondria mempunyai jumlah turunan yang tinggi (high copy number), mempunyai jumlah salinan sebesar 10^3 - 10^4 molekul DNA mitokondria/sel somatik. Ukuran DNA mitokondria kecil sehingga dapat dipelajari secara utuh. Genom DNA mitokondria mempunyai laju evolusi 5-10 kali lebih cepat dari DNA inti. Daerah D-loop DNA mitokondria adalah *control region*, yaitu daerah yang tidak mengkode protein. Dinamakan D-loop karena pada fragmen tersebut terdapat fragmen DNA dengan struktur 3-rantai (membentuk hairpin), terbentuk akibat terciptanya rantai berat (H-strand) yang menggantikan rantai induk dan membentuk struktur tripleks D-loop (3-strand). Daerah yang membentuk hairpin/D-loop berdekatan dengan gen tRNA^{phe} dan terdapat promotor (Heavy Strand Promotor/HSP dan Light Strand Promotor/LSP) yang berfungsi sebagai transkripsi genom mitokondria, juga terdapat daerah OH (Origin of Replication) untuk rantai berat yang berfungsi awal replikasi (Clayton, 1992).

Daerah D-loop yang hipervariabel (mempunyai variasi basa yang cukup tinggi) terletak di luar segmen yang mempunyai fungsi transkripsi dan replikasi tersebut (Wood & Phua, 1996). D-loop mitokondria unggas

dapat diamplifikasi dimulai dari gen tRNA^{Glu} dan berakhir pada gen tRNA^{phe} (5'→3'), pada ayam daerah D-loop teramplifikasi sebesar 1227pb (Desjardins & Morais, 1990). Daerah D-loop (displacement-loop) merupakan daerah yang paling hipervariabel, lebih polimorfik dibandingkan dengan daerah DNA mitokondria lainnya (Quinn & Wilson, 1993; Ishida *et al.*, 1994). Seperti pernyataan yang dikemukakan oleh Brown *et al.* (1982), Quinn dan Wilson (1993), Fumihito *et al.* (1994), bahwa daerah D-loop sering digunakan untuk analisis filogenetik baik didalam spesies maupun antar spesies. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memposisikan ayam hutan merah (*G. gallus*) dalam domestikasi ayam lokal di Indonesia dengan analisis D-loop DNA mitokondria.

MATERI DAN METODE

Sampel DNA

Material DNA yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 434 sampel rumpun (breed) ayam lokal Indonesia, yang terdiri atas: pelung (PL, n=47, Cianjur), cemani (CM, n=34, Temanggung), gaok (GA, n=7, Madura), kedu (KD, n=37, Temanggung), wareng (W, n=10, Tangerang), kedu putih (KP, n=21, Temanggung), sentul (ST, n=42, Ciamis), kate (KT, n=29, Yogyakarta), arab silver (ARS, n=30, Sembawa), arab golden (ARG, n=26, Sembawa), merawang (MR, n=28, Sembawa), kapas (KPS, n=21, Sembawa), nunukan (N, n=55, Tarakan), tolaki (KTO, n=17, Sulawesi Tenggara), dan kalosi (KAL, n=30, Sulawesi Selatan). Ayam hutan merah (*G. gallus gallus*) yang digunakan sebanyak 9 sampel yang terdiri atas 5 sampel koleksi dari Yogyakarta dan 4 sampel koleksi dari Sulawesi Tenggara. Empat (4) referensi sekuen yang diekstrak dari GenBank juga digunakan untuk analisis dalam penelitian ini, yaitu referensi sekuen segmen HV-I D-loop ayam hutan merah (*G. gallus*) (NCBI, accession number AB0986688), *G. gallus* (GenBank accession number AB098668), *G. gallus spadiceus* (GenBank accession num-

ber AB007721), *G. gallus bankiva* (GenBank accession number AB007718).

Isolasi DNA dan Amplifikasi Fragmen Hipervariabel-1 D-loop DNA Mitokondria

Material DNA berupa darah diawetkan dengan menggunakan alkohol absolut 96%. Isolasi DNA total dan amplifikasi PCR (polymerase chain reaction) dilakukan di Laboratorium Genetika, Bidang Zoologi, Puslit Biologi-LIPI. Metoda yang digunakan untuk isolasi DNA yaitu metoda yang dikembangkan oleh Sambrook *et al.* (1989). Hasil ekstraksi yang berupa DNA total diamati secara kualitatif dengan proses elektroforesis pada gel agarose 1%, sedangkan pemeriksaan secara kuantitatif dilakukan dengan cara menghitung konsentrasi DNA total menggunakan mesin spektrofotometer.

Amplifikasi segmen HV-1 (hypervariable-1) daerah kontrol dilakukan dengan metode PCR menggunakan Thermal Cycler Applied Biosystems Type 2700. Kondisi PCR yang digunakan adalah sebagai berikut: predenaturasi 94 °C selama 5 menit, denaturasi 94 °C selama 45 detik, *annealing* pada temperatur 60 °C selama 45 detik dan *elongasi* pada temperatur 72 °C selama 90 detik, dengan siklus sebanyak 30 kali, dan *final extension* 72 °C selama 10 menit. Pengecekan hasil PCR (visualisasi produk PCR) dilakukan dengan proses elektroforesis pada gel agarose 2%. Amplifikasi fragmen D-loop menggunakan primer universal seperti penelitian yang dilakukan oleh Mobegi (2005), dengan sekuen sebagai berikut:

L16750 (*Forward*):

5"AGGACTACGGCTTGAAAAGC3" dan
CR1b (*Reverse*):

5"CCATACACGCAAACCGTCTC3".

Sekuensing Fragmen HV-1 D-loop

Analisis sekuen HV-1 D-loop dari genom DNA mitokondria dilakukan di Laboratorium International Livestock Research Institute (ILRI), Nairobi, Kenya, menggunakan 3100 *genetic analyser* (ABI Prism). Produk PCR

yang telah dipurifikasi, disekuensi untuk mengetahui urutan nukleotida. Amplifikasi segmen HV-1 daerah kontrol dengan menggunakan 1 set internal primer sekuensing (Mobegi, 2005), yaitu CR-forward 5' TCT ATA TTC CAC ATT TCT C3' dan CR-reverse 5' GCG AGC ATA ACC AAA TGG3'. Kit sekuensing yang digunakan adalah *BigDye*Terminator* Version 3.1 (Applied Biosystems) dengan total volume 20 µl yang mengandung 20 ng produk PCR yang telah dipurifikasi sebagai *template* DNA dan 3.2 pmol primer. Setiap tabung reaksi PCR berisi 8 µl *Big Dye terminator ready reaction mix* (campuran dNTP, ddNTP, bufer, enzim, dan MgCl₂), 8 µl air milliQ, 2 µl masing-masing primer CR-*forward* atau CR-*reverse*, dan 2 µl *template* DNA. Sampel dihomogenasi sebentar dengan *vortex* dan disentrifugasi selama 10 detik. Selanjutnya dilakukan reaksi sekuen di mesin PCR (Thermal Cycler Applied Biosystems type 9700). Kondisi PCR untuk reaksi sekuen adalah 96 °C selama 10 detik, 50 °C selama 5 detik, dan 60 °C selama 4 menit sebanyak 25 siklus. Setelah proses selesai, reaksi sekuen disimpan pada temperatur 4 °C sampai siap dipurifikasi dengan menggunakan AMPure*PCR *purification kit* (Agencourt Bioscience Corporation, 500 Cummings Center, Beverly, MA). Purifikasi dilakukan untuk menghilangkan kelebihan primer, nukleotida, *dye-terminator*, garam dan enzim. Selanjutnya disekuensi menggunakan 3100 *genetic analyser* (ABI Prism).

Analisa Data Molekuler

Sekuen segmen HV-1 D-loop genom DNA mitokondria sepanjang 397 bp digunakan untuk analisis dalam penelitian ini. Data sekuen dianalisa menggunakan berbagai macam komputer software yang tersedia. Chromas digunakan untuk *viewing* dan *editing* hasil sekuen. Koreksi antara hasil sekuen *forward* dan *reverse* dilakukan menggunakan BioEdit Sequence Alignment Editor Versi 7.0.1. *Multiple alignment* sekuen digunakan program ClustalX 1.83 (Thompson *et al.*, 1997). Situs polimorfik dianalisa menggunakan DNA *sequence polymorphisme* (DNASP) versi 4.00 (Rozas *et al.*, 2003), sedangkan diversitas haplotipe diilustrasikan menggunakan *network analysis*, yaitu program NETWORK 4.1.0.8 (Bandelt *et al.*, 1999).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil amplifikasi PCR terhadap 443 sampel yang dianalisa (434 ayam lokal dan 9 sampel ayam hutan) menunjukkan bahwa semua sampel tersebut dapat diamplifikasi dengan sempurna (pita terlihat jelas). Ukuran pita hasil amplifikasi sesuai dengan ukuran produk PCR yang diharapkan yaitu 755 pasang basa. Selanjutnya empat ratus empat puluh tiga (443) produk PCR dipurifikasi, dan disekuensi untuk mengetahui urutan nukleotida. DNA mitokondria (DNAm) sepanjang 397 basa pertama daerah D-loop yang digunakan untuk analisis pada penelitian ini. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada ayam lokal (ayam domestikasi) yang digabung dengan ayam hutan merah (red jungle fowl) telah ditemukan 72 haplotipe yang teridentifikasi pada 56 tempat terjadinya polimorfik (*variable site*), dan 36% atau sekitar 26 haplotipe merupakan haplotipe yang unik/spesifik untuk ayam lokal Indonesia. Diversitas 72 haplotipe kemudian diilustrasikan dengan menggunakan *network analysis*, yaitu program NETWORK 4.1.0.8 (Bandelt *et al.*, 1999) dan hasil analisis terdapat pada Gambar 1.

Berdasar acuan referensi haplotipe ayam domestikasi yaitu *clade* I, II, IIIa, IIIb, IIIc, IIIId, IV (Mobegi, 2005), maka dapat dikatakan bahwa sebagian besar ayam lokal Indonesia didominasi oleh haplotipe yang berada di *clade* II yang diperlihatkan dengan warna biru (Gambar 1) yang meliputi 72% dari total ayam lokal yang digunakan dalam penelitian ini. Lima belas rumpun ayam yang digunakan dalam penelitian ini (T, PL, KD, KPS, ARS, MR, ST, KT, GA, CM, KDP, ARG, N, KAL, KTO) secara dominan mengelompok ke dalam *clade* II. *Clade* dibedakan menggunakan kode warna, yaitu: putih (*clade* 1), biru (*clade* II), hijau muda (*clade* IIIc), hijau tua (*clade* IIIId),

kuning (clade IV). Warna oranye menunjukkan haplotipe yang tidak bisa digolongkan ke referensi *clade*, sedangkan warna biru muda merupakan haplotipe yang dimiliki ayam hutan merah. Titik (lingkaran kecil) merah menggambarkan *median vector* (mv), sedangkan angka-angka di antara nodus haplotipe menunjukkan posisi terjadinya mutasi nukleotida yang dibandingkan dengan referensi sekuen (*GenBank accession number* AB098668).

Selanjutnya jika dilihat dari diagram median joining pada Gambar 1, nampak potongan pie (pie slices) pada haplotipe PLC2, PLC8 dan KAL2 dan ukuran potongan pie menggambarkan seberapa besar kontribusi pada haplotipe tersebut. Potongan pie pada haplotipe PLC2, PLC8 dan KAL2 memperlihatkan terjalannya hubungan kekerabatan yang jelas antara ayam domestikasi dengan ayam hutan merah, yaitu ayam hutan merah (ditandai dengan warna biru muda) berada di lingkaran besar berwarna biru (ayam domestikasi/ayam lokal). Hal ini menunjukkan bahwa ayam hutan merah (*G. gallus*) mempunyai hubungan kekeluargaan yang dekat dengan ayam domestikasi. Sub spesies ayam hutan merah yang digunakan untuk analisis adalah *G. gallus gallus*, *G. gallus spadiceus* dan *G. gallus Bankiva*.

Selain itu, hasil penelitian lain dapat menerangkan lebih detail tentang asal usul keberadaan domestikasi ayam di dunia yang dilakukan oleh Fumihito *et al.* (1996). Penelitian ini melakukan sekuen terhadap D-loop DNA mitokondria pada 21 ayam, terdiri atas tiga sub spesies ayam hutan merah (red jungle fowl), yaitu *G. gallus gallus*, *G. gallus spadiceus* dan *G. gallus bankiva*, dan *G. gallus domesticus*. Sekuen juga dilakukan terhadap empat ayam hutan hijau (green jungle fowl), yaitu *G. varius*, dua *Gallus lafayettii* (lafayettii's jungle fowl), dan satu ayam hutan abu-abu (grey jungle fowl) yaitu *Gallus sonneratii*. Hasil data sekuen DNA disusun dalam bentuk pohon filogenetik dan *japanese quail* (*Coturnix coturnix japonica*) sebagai *out group*. Hasil penelitian menunjukkan adanya *tandem duplication* pada *control region* sepanjang 60 pasang basa yang hanya ditemukan kelompok genus *Gallus*

saja, sedangkan jumlah salinannya bervariasi diantara spesies *Gallus* yang berbeda, misalnya lebih dari dua unit salinan ditemukan pada tiga dari empat spesies *Gallus*, *G. varius* mempunyai dua unit salinan, *G. lafayettii* dan *G. sonneratii* yang masing-masing mempunyai tiga salinan. Hal yang paling menarik yaitu semua domestikasi ayam (domestic fowl) mempunyai jumlah salinan yang sama dengan *G. gallus*.

Domestikasi ayam dapat dikatakan adalah keturunan dari *G. gallus*, dan duplikasi tandem sepanjang 60 pasang basa di dalam daerah D-loop merupakan *genus-specific trait of gallus*. Hubungan yang dekat antara ayam domestik dengan *G. gallus gallus* dari Thailand, menunjukkan kemungkinan bahwa pertama kali ayam-ayam didomestikasi di negara Asia Tenggara. Hasil analisis serupa dengan menggunakan D-loop DNA mitokondria dilaporkan oleh Niu *et al.* (2002), ternyata di antara 4 spesies genus *Gallus* (*G. gallus*, *Gallus sonneratii*, *G. varius* dan *Gallus lafayettii*) mempunyai perbedaan yang besar satu sama lain dan *Gallus domesticus* mempunyai hubungan yang paling dekat dengan ayam hutan merah di Thailand.

Sulandari *et al.* (2006) mendukung hasil penelitian ini, dengan membuat konstruksi pohon filogeni yang dibuat berdasarkan 43 sekuen ayam hutan (9 sekuen ayam hutan merah dan 34 sekuen ayam hutan hijau), kemudian dibandingkan dengan ayam hutan yang lain yang sekuenya diambil dari *GenBank*. Sekuen tersebut yaitu 2 individu *G. varius* (*GenBank accession number* D64163 dan D82912), 3 individu *G. gallus* (*G. gallus gallus*: *GenBank accession number* AB007720, *G. gallus bankiva*: *GenBank accession number* AB007718 dan *G. gallus spadiceus*: *GenBank accession number* AB007721), 1 individu *Gallus lafayettii* (*GenBank accession number* D66893) dan 1 individu *Gallus sonneratii* (*GenBank accession number* D66892). Selain itu, dibandingkan juga sekuen dari ayam domestikasi (*GenBank accession number* AB098668) untuk menggambarkan hubungan ayam domestikasi dengan ayam hutan. Pohon filogeni yang terbentuk menunjukkan hubungan yang dekat antara ayam domestikasi (ayam

lokal) dengan 2 sub spesies dari *G. gallus* (*G. gallus gallus* and *G. gallus spadiceus*).

Niu *et al.* (2002) menyarankan bahwa 2 sub spesies *G. gallus* dari Thailand, yaitu *G. gallus gallus* dan *G. gallus spadiceus* sebaiknya dijadikan satu sub spesies karena adanya kemiripan. Sebaliknya Bao *et al.* (2007) tidak mendukung hasil tersebut, dengan mengemukakan bahwa ayam hutan merah (*G. gallus spadiceus*) di China dan ayam hutan merah (*G. gallus gallus*) di Thailand mempunyai struktur dan perbedaan genetik yang nyata. Hasil penelitian dari Sulandari *et al.* (2007) adalah sub spesies *G. gallus bankiva* dengan ayam domestikasi mempunyai hubungan kekerabatan lebih jauh dibandingkan hubungan ayam domestikasi dengan 2 subspecies dari *G. gallus* (*G. gallus spadiceus* dan *G. gallus gallus*).

Seperti yang sudah diinformasikan sebelumnya (Sulandari *et al.*, 2006), bahwa haplotipe yang terbentuk pada ayam hutan hijau (*G. varius*) tidak bisa dikelompokkan dengan referensi *clade* ayam domestikasi, yaitu *clade* I, II, IIIa, IIIb, IIIc, IIIId, IV (Mobegi, 2005). Artinya haplotipe ayam hutan hijau tersebut mengelompok tersendiri, jadi tidak ada kontribusinya dalam domestikasi ayam lokal Indonesia. Ayam hutan lainnya yang mempunyai hubungan jauh dengan ayam domestikasi (ayam lokal) adalah *Gallus lafayetti* dan *Gallus sonneratii*.

Hasil penelitian ini diperkuat dengan hasil analisis Sulandari *et al.* (2006) yang melaporkan bahwa ayam lokal Indonesia secara dominan (sekitar 75%) mengelompok di *clade* II dan ternyata mempunyai hubungan yang dekat dengan ayam hutan merah yang hidup liar di beberapa pulau Indonesia. Secara strategis dari hasil penelitian ini telah teridentifikasi secara jelas posisi ayam hutan merah yang hidup di pulau Jawa, Sumatera dan Sulawesi merupakan moyang dari ayam domestikasi yang saat ini telah berkembang dan menyebar ke berbagai wilayah di nusantara. Ayam lokal Indonesia saat ini banyak memiliki keragaman dengan karakteristik morfologis yang berbeda dan telah teridentifikasi sebanyak 31 *breed* (rumpun) (Nataamijaya *et al.*, 1996;

Nataamijaya, 2000). Kepulauan Nusantara telah dikenal sebagai daerah mega diversitas nomor dua di dunia setelah Brazilia. Hal ini tentu menantang untuk membuka cakrawala kekayaan hayati Indonesia. Selain itu, diversitas genetik yang tinggi memberikan dasar populasi yang sangat bernilai bagi pengembangan ayam lokal Indonesia untuk dikembangkan dan dimanfaatkan secara berkesinambungan.

Hasil penelitian ini dapat menjelaskan bahwa ayam domestikasi berasal dari satu moyang (monofiletik), yaitu spesies ayam hutan merah, dan selaras dengan hasil penelitian yang lain (Crawford, 1990; Sullivan, 1991; Siegel *et al.*, 1992; Fumihito *et al.*, 1994; Romanov & Wigend, 2001; Hillel *et al.*, 2003; Vaisanen *et al.*, 2005). Perdebatan mengenai teori polifiletik atau monofiletik tentang asal-usul nenek moyang ayam domestikasi sudah tidak perlu didiskusikan lagi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ayam domestikasi (ayam lokal) Indonesia berasal dari satu moyang (monofiletik), yaitu spesies ayam hutan merah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kegiatan ini terlaksana karena mendapat dukungan dana dari Riset Kompetitif –LIPI Sub Program Domestikasi dan DIPA Puslit Biologi-LIPI Tahun 2006. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Olivier Hanotte dan Dr. Han Jianlin atas kesempatan yang diberikan dalam penggunaan fasilitas laboratorium molekuler di International Livestock Research Institute (ILRI), Nairobi, Kenya (sebagai “visiting scientist”).

DAFTAR PUSTAKA

- Bandelt, H.J., P. Forster & A. Rohl. 1999. Median-joining networks for inferring intra-specific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16: 37-38.
- Bao, W.B., G.H. Chen, X.S. Wu, Q. Xu, S.L. Wu, J.T. Shu & S. Weigend. 2007. Genetic

- diversity of red jungle fowl in China (*Gallus gallus spadiceus*) and red jungle fowl (*Gallus gallus gallus*) in Thailand. *Yi Chuan* (Article in Chinese) 29: 587-592.
- Brown, W.M., E.M. Prager, A. Wang & A.C. Wilson.** 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: Tempo and Mode Evolution. *J. Mol. Evol.* 18: 225-239.
- Collias, N.C. & E.C. Collias.** 1996. Social organization of a red jungle fowl, *Gallus gallus*, population related to evolution theory. *Anim. Behav.* 51:1337-1345.
- Columbia Encyclopedia.** 2006. Poultry. The Columbia Encyclopedia. 6th ed. Columbia University Press. Pp: 1-6, www.encyclopedia.com/html/p/poultry.asp
- Clayton, D.A.** 1992. Transcription and replication of animal mitochondrial DNAs. *Int. Rev. Cytol.* 141: 217-222.
- Crawford, R.D.** 1990. Poultry Biology: Origin and History of Poultry Species. In: R.D. Crawford (Edit.). *Poultry Breeding and Genetics.* Elsevier Science Publishing Company Amsterdam and New York, pp: 1-42.
- Desjardins, P & R. Morais.** 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome. A novel gene order in higher vertebrates. *J. Mol. Biol.* 212: 599-634.
- Fumihito, A., T. Miyake, S. Sumi, M. Takada, S. Ohno & N. Kondo.** 1994. One subspecies of the red jungle fowl (*Gallus gallus gallus*) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91: 12505-12509.
- Fumihito, A., T. Miyake, M. Takada, R. Shingu, T. Endo, T. Gojobori, N. Kondo & S. Ohno.** 1996. Monophyletic origin and unique dispersal patterns of domestic fowls. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93: 6792-6795.
- Hillel, J., M.A. Groonen, M. Tixier-Boichard, A.B. Korol, L. David, V.M. Kirzhner, T. Burke, A. Barre-Dirie, R.P. Crooijmans, K. Elo, M.W. Feldman, P.J. Freidlin, A. Maki-Tanila, M. Oortwijn, P. Thomson, A. Vignal, K. Wimmers & S. Weigend.** 2003. Biodiversity of 52 chickens populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genetics, Selection, Evolution* 35: 533-557.
- Ishida, N., T. Hasegawa, K. Takeda, M. Sukagami, A. Onishi, S. Inumaru, M. Komatsu & H. Mukoyama.** 1994. Polymorphic sequence in the D-loop region of equine mitochondrial DNA. *Anim. Genetic.* 25:215-221.
- Lindqvist, C.E.S., K.E. Schutz & P. Jensen.** 2002. Red jungle fowl have more contra freeloaders than white leghorn layers: effect of food deprivation and consequences for information gain. *Behaviour* 139: 1195-1209.
- Mobegi, V.A.** 2005. Genetic characterization of African chicken using mitochondrial DNA D-loop sequences. Thesis. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Nairobi, Nairobi, Kenya.
- Moiseyeva, I.G., M.N. Romanov, A.A. Sevastyanova & S.K. Semyanova.** 2003. Evolutionary relationships of red jungle fowl and chicken breeds. *Genetic, Selection, Evolution* 35: 403-423.
- Moreng, R. & J.S. Avens.** 1985. Classification, nomenclature, and showing of poultry. In: *Poultry Science and Production.* Reston Publishing Co., Inc. Prentice-Hall Company. Reston, Virginia 22090, pp: 16-45.
- Nataamijaya, A.G.** 2000. The native of chicken of Indonesia. *Buletin Plasma Nutfah* 6(1). Balitbang Pertanian, Departemen Pertanian.
- Nataamijaya, A.G., S.N. Jarmani & T. Sartika.** 1996. Konsep strategi penanganan pelestarian plasma nutfah pertanian secara ex-situ ternak ayam buras. *Proyek Pemanfaatan dan Pelestarian Plasma Nutfah Pertanian, Bogor.*
- Niu, D., Y. Fu, J. Luo, H. Ruan, X.P. Yu, G. Chen & Y.P. Zhang.** 2002. The origin and genetic diversity of Chinese native chicken breeds. *Biochem. Genet.* 40: 163-174.
- Quinn, T.W. & A.C. Wilson.** 1993. Sequence evolution in and around the mitochondrial control region in birds. *J. Mol. Evol.* 37: 417-425.
- Romanov, M.N. & S. Weigend.** 2001. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers. *Poult. Sci.* 80: 1057-1063.
- Rozas, J., J.C. Sanches-Del Barrio, X. Messeguer & R. Rozas.** 2003. DNASP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- Sambrook J, E.F. Fritsch & T. Maniatis.** 1989. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual.* 2nd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, United States of America.
- Sibley, C.G. & B.L. Monroe.** 1990. *Distribution and Taxonomy of Birds of the World.* Yale University Press. New Haven & London. P 1111.
- Siegel, P.B., A. Haberfeld, T.K. Mukherjee, L.C. Stallard, H.L. Marks, N.B. Anthony & E.A. Dunnington.** 1992. Jungle fowl-do-

- mestic fowl relationship: a use of DNA fingerprinting. *World Poultry Sci. J.* 48: 147-155.
- Sulandari, S., M.S.A. Zein, T. Sartika & S. Paryanti.** 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.
- Sulandari, S., M.S.A. Zein, S. Paryanti & T. Sartika.** 2007. Taksonomi dan asal usul ayam domestikasi. Dalam: K. Diwyanto & S.N. Prijono (Eds.). *Keragaman Sumber Daya Hayati Ayam Lokal Indonesia: Manfaat dan Potensi*. Pusat Penelitian Biologi, LIPI. ISBN 978-979-799-183-8. Edisi Pertama. Hal. 7-24.
- Sullivan, M.** 1991. Flock structure in red jungle fowl. *Appl. Anim. Behaviour Sci.* 30:381-386.
- Thompson, J. D., T.J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin & D.G. Higgins.** 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 25: 4876-4882.
- Vaisanen, J., J. Hakansson & P. Jensen.** 2005. Social interaction in red junglefowl (*Gallus gallus*) and white leghorn layers in stable groups and after re-grouping. *British Poult. Sci.* 46:156-168.
- Vaisanen, J. & P. Jensen.** 2003. Social versus exploration and foraging motivation in young red jungle fowl (*Gallus gallus*) and white leghorn layers. *Appl. Anim. Behaviour Sci.* 84: 139-158.
- Vaisanen, J. & P. Jensen.** 2004. Responses of young red jungle fowl (*Gallus gallus*) and white leghorn layers to familiar and unfamiliar social stimuli. *Poult. Sci.* 83: 335-343.
- Weeks, C.A. & C.J. Nicol.** 2006. Behavioural needs, priorities and preferences of laying hens. *World Poultry Sci. J.* 62: 296-307.
- Wood, N.J. & S.H. Phua.** 1996. Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. *Anim. Genet.* 27: 25-33.