

Keragaman Genetik Ayam Lombok Berdasarkan Sekuen D-LOOP DNA Mitokondria

M. SYAMSUL ARIFIN ZEIN dan SRI SULANDARI

*Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Center, Jalan Raya Jakarta Bogor KM.46. Cibinong 16911
E-mail: zein_genetic@yahoo.com*

(Diterima Dewan Redaksi 18 Oktober 2008)

ABSTRACT

ZEIN, A.M.S. and S. SULANDARI. Genetic diversity of Lombok chickens based on D-loop mitochondrial DNA sequences. *JITV* 13(4): 307-314.

Mitochondrial DNA (mtDNA) displacement (D)-loop sequences were used to study the genetic diversity and relationship of Lombok chickens. A total of 45 individuals were sampled. The D-loop segment was PCR amplified and subsequently sequenced. The sequences of the 785 nucleotides were used for analysis. Twelve haplotypes were identified from 25 polymorphic sites with polymorphism between nucleotides 200 and 400 contributing to 80% of the variation. Fu's F_s value was -8.768 (all samples, $P = 0$), indicating high genetic diversity and population expansion, a conclusion supported by a neighbor-joining analysis of the haplotypes. Nucleotides diversity of the Lombok chicken were 0.00221 and haplotype diversity were $0.654 + 0.08$. The dominant haplotype found among the Lombok chickens was haplotype B (62%) and genetic distances value ranged from 0.001 to 0.017.

Key Words: Mtdna, D-Loop, Genetic Diversity, Haplotype, Lombok Chicken

ABSTRAK

ZEIN, A.M.S. dan S. SULANDARI. Keragaman genetik ayam Lombok berdasarkan sekuen d-loop DNA mitokondria. *JITV* 13(4): 307-314.

Penelitian dilakukan untuk mengetahui keragaman genetik dan hubungan kekerabatan ayam Lombok berdasarkan sekuen *displacement (D)-loop* dari DNA mitokondria. Sebanyak 45 sampel dari 45 individu ayam di ekstrak, diamplifikasi dengan PCR dan dilanjutkan dengan sekuen. Sekuen sepanjang 785 nukleotida digunakan untuk analisis. Hasil analisis ditemukan 12 haplotipe yang diidentifikasi dari 25 situs polimorfik, dimana variasi tertinggi (80%) terdapat diantara urutan nukleotida 200 dan 400. Nilai F_s -8,768 (semua sampel, $P = 0$) mengindikasikan terdapat keragaman genetik dan ekspansi populasi tinggi. Analisis Neighbor-joining dari haplotipe disajikan untuk melihat kekerabatan ayam Lombok. Keragaman nukleotida ayam Lombok adalah 0,00221 dan keragaman haplotipe adalah $0,654 \pm 0,08$. Haplotipe dominan dari ayam Lombok diketahui adalah haplotipe B (62%) dan nilai jarak genetik antara 0,001-0,017.

Kata Kunci: DNA Mitokondria, D-Loop, Keragaman Genetik, Haplotipe, Ayam Lombok

PENDAHULUAN

Di Indonesia terdapat 31 breed ayam lokal yang tersebar diberbagai tempat di kepulauan nusantara (NATAAMJAYA, 1996, 2000) termasuk ayam kampung yang banyak dipelihara secara tradisional di seluruh wilayah pedesaan. Ayam Lombok banyak dipelihara di hampir setiap keluarga di pedesaan pulau Lombok dan mempunyai ukuran tubuh relatif kecil, rataan bobot hidup ayam betina dewasa (7,4 bulan) 885 g (PRASETYO *et al.*, 1992). Seperti ciri ayam kampung di Indonesia bahwa warna bulu dari ayam Lombok adalah beraneka ragam dan warna yang menonjol yaitu warna hitam, putih, kuning, coklat, dan kombinasi hitam-putih. Ayam Lombok dipelihara secara tradisional, petang hari ayam pulang ke "rumah", tidur di dahan-dahan pohon,

pagi hari ayam dibiarkan berkeliaran mencari makan. Sebetulnya jenis ayam kampung ini mempunyai potensi ekonomis yang cukup besar yaitu dibuat "ayam goreng Taliwang" dan sangat digemari masyarakat. Namun sayangnya dalam 10 tahun terakhir terjadi penurunan populasi yang menyolok karena tidak adanya keseimbangan antara permintaan dan penyediaan ayam Lombok (PRASETYO, 2004). Hal dari uraian diatas menunjukkan bahwa ayam Lombok mempunyai ciri khas tersendiri dan perlu mendapat perhatian sebagai bagian dari kekayaan sumber daya hayati ayam asli Indonesia.

Sebagai salah satu pusat domestikasi ayam (SULANDARI *et al.*, 2007) sudah selayaknya berbagai informasi ayam asli Indonesia yang tersebar di seluruh nusantara mendapat perhatian dan ditelaah berbagai

aspek secara mendalam. Pulau Lombok merupakan bagian kepulauan nusantara sehingga juga merupakan bagian perkembangan ayam asli Indonesia. Hasil kajian molekuler sudah saatnya digunakan mendukung program revitalisasi peternakan ayam asli Indonesia untuk memenuhi kebutuhan protein hewani masyarakat dan mengurangi ketergantungan terhadap ayam ras yang semakin tinggi.

Dalam usaha pengembangan populasi ayam kampung, faktor manajemen diperlukan untuk mempertahankan keberadaan populasi melalui program pengkayaan genetik, dimana dasar informasi dapat diidentifikasi melalui rekonstruksi filogenetik (MORITZ *et al.*, 1996). Variabilitas genetik yang tinggi dapat mengatasi tekanan akibat perubahan lingkungan (AVISE, 1994; HARTL, 2000). Selain itu heterozigositas yang tinggi dari suatu populasi merupakan dasar yang baik untuk pengembangan populasi selanjutnya. Penanda molekuler yang sesuai untuk merekonstruksi filogenetik populasi adalah variasi urutan DNA mitokondria. Kelebihan dari DNA mitokondria adalah kecepatan evolusi yang relatif tinggi, pewarisan secara maternal, dan ukurannya yang relatif kecil sehingga mudah diteliti (LI dan GRAUR, 1991; TABERLET, 1996). Genom DNA mitokondria berbentuk sirkuler, berisi 13 gen penyandi protein, 22 gen transfer RNA (tRNA), 2 gen ribosoma (rRNA), dan daerah kontrol (*control region/D-Loop*) dengan panjang sekitar 16.775 pasang basa (DESJARDIN dan MORAIS, 1990).

Kajian keragaman genetik ayam Lombok dilakukan dengan menggunakan D-Loop DNA mitokondria. Keragaman sekuen D-Loop DNA mitokondria dapat memberikan gambaran yang jelas dan akurat untuk memprediksi perkembangan populasi ayam Lombok. Informasi diversitas genetik merupakan dasar penting dalam program pengkayaan genetik populasi ayam di suatu kawasan. Selain itu dapat membantu menentukan kebijakan pengembangan, pemanfaatan, dan konservasi ayam Lombok khususnya dan ayam asli Indonesia pada umumnya.

MATERI DAN METODE

Material DNA

Material genetik yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 45 ekor ayam kampung yang dikoleksi secara acak di daerah Lombok Barat, Lombok Tengah, dan Lombok Timur. Material DNA diekstrak dari sampel darah yang diawetkan dengan menggunakan alkohol absolut (96%). Ekstraksi DNA total dan amplifikasi PCR dilakukan di Laboratorium Genetika, Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong. Metoda yang digunakan untuk ekstraksi DNA yaitu metode yang dikembangkan oleh SAMBROOK *et al.* (1989). Hasil ekstraksi berupa DNA

total, kemudian diamati secara kualitatif dengan proses elektroforesis pada gel agarose 1%. Sementara itu, pemeriksaan secara kuantitatif dilakukan dengan cara menghitung konsentrasi DNA total dengan menggunakan mesin spektrofotometer.

Amplifikasi PCR (Polymerase Chain Reaction)

Amplifikasi segmen hypervariable-1 D-loop DNA mitokondria dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan Thermal Cycler Applied Biosystems Type 2700. PCR dilakukan dengan menggunakan campuran reaksi sebanyak 30 ul yang terdiri dari 50 ng sampel DNA, PCR Bufer 1 x, 200 uM dNTP, 2 mM MgCl₂ dan 1 unit *Tag* DNA polymerase (Fermentes, Native with BSA). Sedangkan sekuen primer universal yang digunakan adalah 0,2 pmol/ul masing-masing primer L16750 (forward): 5''AGGACTACGGCTTGAAAAGC3'' dan CR1b (Reverse): 5''CCATACACGCAAACCGTCTC3''. Kondisi PCR sebagai berikut: pre denaturasi 94°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan denaturasi 94°C selama 45 detik, annealing pada temperatur 60°C selama 45 detik, dan extension pada temperatur 72°C selama 90 detik, siklus sebanyak 30 kali, kemudian diakhiri dengan final extension pada 72°C selama 10 menit. Pengecekan hasil PCR dilakukan dengan proses elektroforesis pada gel agarose 2%.

Sekuensing fragmen D-loop DNA mitokondria

Analisis sekuen untuk mengetahui urutan nukleotida dengan tepat, dilakukan di Laboratorium International Livestock Research Institute (ILRI), Nairobi, Kenya dengan menggunakan ABI 3100 genetic analyser (ABI Prism). *Direct sequencing* terhadap fragmen D-loop DNA mitokondria dilakukan dengan menggunakan primer forward dan reverse dan sebelum di sekuen produk PCR harus terlebih dahulu dipurifikasi. Kit cycle sekuensing yang digunakan adalah Big Dye*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.

Pada 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 forward atau reverse, dan 2 µl *template* DNA. Kemudian tabung divortex sebentar, disentrifugasi selama 10 detik dan 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, produk PCR (reaksi sekuen) di purifikasi 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. Proses terakhir yaitu melakukan sekuen pada produk yang telah dipurifikasi, dengan menggunakan mesin DNA sekuenser kapiler (ABI 3100).

Analisis data molekuler

Sekuen D-Loop genom DNA mitokondria secara parsial digunakan untuk analisis dalam penelitian ini. Data sekuen dianalisis dengan menggunakan berbagai macam komputer software. Chromas versi 1.45 digunakan untuk *viewing* dan *editing* hasil sekuen. Penselarasan hasil sekuen *forward* dan *reverse* dilakukan dengan menggunakan BioEdit Versi 7.0.1. Analisis situs polimorfik, diversitas nukleotida, diversitas haplotipe, dan Fu & Li's test menggunakan *software* DnaSP versi 4,0 (ROZAS *et al.*, 2003). FU dan LI (1993) menghasilkan nilai FU (1997) merupakan nilai statistik dari data sekuen DNA dan ditunjukkan dengan nilai negatif yang tinggi dan merupakan indikator sangat sensitif terhadap ekspansi populasi secara demografi yang umumnya digunakan untuk memberikan informasi terjadi inbreeding. Pohon filogeni dibangun menggunakan metoda neighbor-joining, dimana kalkulasi matrik jarak genetik dengan model Kimura-2 parameter yang diimplementasikan pada *pairwise distance calculation* dalam program MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) software Versi 3.1 (KUMAR *et al.*, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Polimorfisme DNA mitokondria

Sebanyak 45 sampel DNA ayam Lombok yang dikoleksi secara acak di daerah Kabupaten Lombok Barat, Lombok Tengah, dan Lombok Timur telah berhasil disekuen dengan sempurna. Analisis terhadap 45 sekuen HV1 D-loop dilakukan secara parsial sepanjang 785 pasang basa dan menghasilkan 12 haplotipe (tipe sekuen) yaitu haplotipe A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, dan L. Semua haplotipe yang ada ditemukan 25 situs polimorfik pada posisi no. urut 174, 193, 199, 212, 217, 238, 243, 246, 247, 256, 261, 281, 296, 304, 306, 308, 309, 310, 315, 322, 330, 342, 391, 447 dan 620 (Tabel 1). Situs polimorfik hanya terdiri dari dua varian, dengan demikian jumlah total mutasi pada sekuen D-loop ayam Lombok terdapat 25 situs polimorfik. Hasil penelitian yang dilaporkan oleh SULANDARI *et al.* (2007) yang mengamati 15 breed ayam lokal Indonesia menghasilkan 434 sekuen, selanjutnya analisis yang dilakukan terhadap 434

sekuen tersebut diperoleh 69 haplotipe (tipe sekuen) dan ditemukan 49 situs polimorfik ($n = 434$).

Frekuensi haplotipe dari populasi ayam Lombok dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil tersebut menunjukkan bahwa frekuensi haplotipe tertinggi terdapat pada haplotipe B (0,62), kemudian diikuti haplotipe F (0,08), A (0,06), H (0,04), sedangkan haplotipe C, D, E, G, I, J, K, dan L (0,02). Haplotipe B sangat dominan pada populasi ayam Kampung Lombok (62%).

Gambar 1 dapat dilihat distribusi situs polimorfik sekuen D-Loop DNA mitokondria yang dihasilkan dari penelitian ini, yaitu pada urutan basa antara 0-100 tidak terdapat situs polimorfik (0%), 101-200 terdapat tiga situs polimorfik (12%), 201-300 terdapat 10 situs polimorfik (40%), 301-400 terdapat 10 situs polimorfik (40%), 401-500 terdapat satu situs polimorfik (4%), 501-600 tidak terdapat situs polimorfik (0%), 601-700 terdapat satu situs polimorfik (4%), dan 701-785 tidak terdapat situs polimorfik (0%). Presentase dihitung dari total situs polimorfik yang terdapat pada ayam Lombok sebanyak 25.

Hasil sekuen ayam Lombok mempunyai variabilitas tinggi pada urutan nukleotida 200-400, yaitu 20 situs polimorfik (80%). Posisi ini sama dengan hasil analisis yang dilakukan terhadap 15 breed ayam lokal Indonesia (SULANDARI *et al.*, 2007). Berarti sekuen D-loop DNA mitokondria mempunyai variasi genetik tinggi berada pada segmen hypervariable-1 (397 basa) yang terletak pada bagian pertama dari segmen D-Loop, oleh sebab itu analisis keragaman genetik ayam sebaiknya cukup menggunakan segmen hypervariable-1 dari D-loop DNA mitokondria.

Keragaman nukleotida merupakan parameter yang akurat untuk menggambarkan keragaman genetik. Unsur positif dengan menggunakan keragaman nukleotida tidak tergantung besarnya sampel dan panjangnya DNA (NEI, 1987; HARTL dan CLARK, 1989). Hal ini memberikan peluang bahwa sampel kecil dapat memberikan informasi yang baik sehingga dapat memberikan gambaran yang lebih luas terhadap kondisi populasi yang sebenarnya. Jumlah sampel sering menjadi kendala dalam analisis karena berhubungan erat dengan dana yang tersedia. Selain itu, panjangnya fragmen DNA yang dianalisis dengan memilih marker yang tepat dapat memberi informasi yang baik. Analisis sekuen D-Loop DNA mitokondria pada penelitian dilakukan sepanjang 785 urutan basa, ternyata hanya 397 sekuen pertama dari D-Loop (segmen hypervariable-1) yang polimorfik

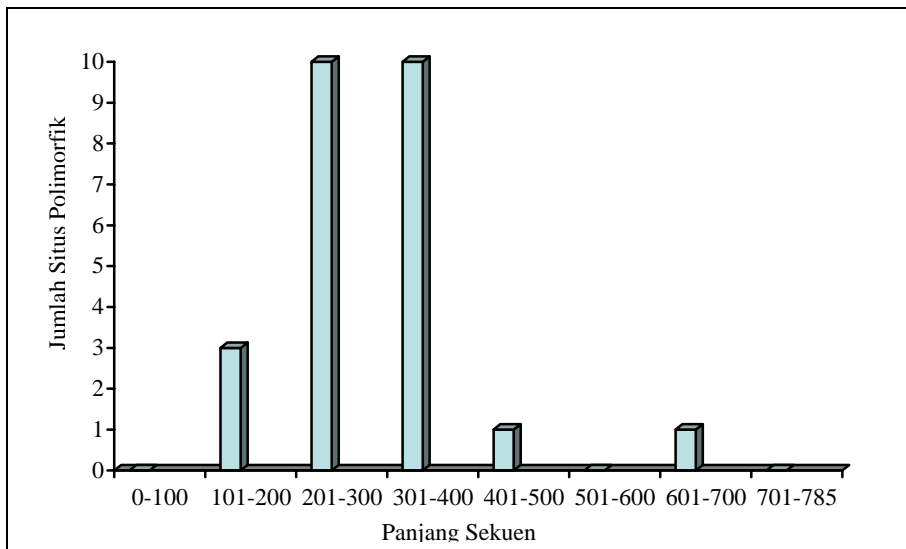
Prinsip diatas memperjelas keunggulan analisis DNA dan kaidah ini digunakan dalam pembahasan hasil penelitian keragaman genetik ayam Lombok dengan tidak memperhatikan jumlah sampel dari pembandingnya. Keragaman nukleotida dari populasi ayam Lombok adalah 0,00221, lebih tinggi dari populasi ayam Jepang 0,001020-0,001623 (OKA *et al.*,

Tabel 1. Polimorfisme nukleotida yang di analisa pada segmen D-loop DNA mitokondria, dan diselaraskan dengan referensi GenBank (kode/nomer akses AB098668) pada populasi ayam Lombok

Haplotype	No. urut sekuen daerah Kontrol dari DNA mitokondria																								
	174	193	199	212	217	238	243	246	247	256	261	281	296	304	306	308	309	310	315	322	330	342	391	447	620
Ref	T	C	A	T	G	T	T	A	T	C	A	T	T	T	C	T	C	T	T	C	A	C	C	C	G
A	.	.	G	.	.	C	C	.	C	T	G	C	.	C	.	.	T	C	.	.	G	.	-	.	T
B	.	.	G	.	.	C	C	.	C	T	G	C	.	C	.	.	T	C	-	.	T
C	.	.	G	.	.	C	C	.	C	T	.	C	.	C	.	.	T	C	-	.	T
D	.	.	G	.	A	C	C	.	C	T	G	C	.	C	.	.	T	C	-	.	T
E	.	A	G	C	.	C	C	.	C	T	G	C	T	C	-	T	T
F	.	.	G	.	.	C	C	.	C	T	G	C	.	C	.	C	T	C	-	.	T
G	.	.	G	.	.	C	C	.	C	T	G	.	.	C	.	.	T	C	.	.	.	T	-	.	T
H	.	.	G	.	.	C	C	.	C	T	G	C	C	C	.	.	T	C	-	.	T
I	.	.	G	.	.	C	C	.	C	T	G	C	.	C	.	.	T	C	.	.	G	T	-	.	T
J	.	.	G	C	.	C	C	.	C	T	.	C	.	.	T	.	T	C	.	T	.	.	-	T	T
K	.	.	G	.	.	C	C	G	C	T	G	C	.	C	.	.	T	C	C	.	.	.	-	.	T
L	C	.	G	.	.	C	C	.	C	T	G	C	.	C	.	.	T	C	-	.	T

Tabel 2. Frekuensi haplotipe dari sekuen D-loop DNA mitokondria ayam Lombok

Lokasi	Haplotype											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
Lombok	0,06	0,62	0,02	0,02	0,02	0,08	0,02	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02



Gambar 1. Distribusi situs polimorfik sekuen fragmen D-loop DNA mitokondria

2007). Lebih lanjut dikatakan bahwa ayam Type F dari breed ayam Shamo (Okinawa) diduga berasal dari ayam asli Indonesia, karena hasil penelitian tersebut berbeda dengan ayam asli Jepang lainnya yang berasal dari China, Korea, dan Asia Tenggara. Oleh sebab itu tidak heran jika rata-rata dasar keragaman genetik yang dimiliki ayam Jepang lebih rendah dari ayam Lombok karena sebagian dari ayam Jepang berasal dari Indonesia. Selain itu, hal ini sebagai indikasi bahwa ayam Indonesia berbeda dengan ayam Asia lainnya. Hasil analisis sekuen segmen hypervariable-1 D-loop DNA mitokondria yang dilaporkan SULANDARI *et al.* (2007) berkisar antara 0,00264-0,01231 pada 15 breed ayam lokal Indonesia, keragaman nukleotida populasi ayam Lombok lebih rendah. Jika keragaman nukleotida dibandingkan dengan populasi ayam di China, Asia Tenggara, Timur Tengah, dan Eropa berkisar antara 0,00184-0,00404 (LIU *et al.*, 2006) maka diversitas nukleotida dari populasi ayam Lombok berada dikisarnya. Hal ini menunjukkan bahwa keragaman nukleotida ayam Lombok mempunyai dasar keragaman genetik yang baik, sedangkan keragaman ayam lokal Indonesia secara lebih luas dapat dikatakan sangat baik.

Keragaman haplotipe dari populasi ayam Lombok adalah $0,654 \pm 0,08$, sedangkan keragaman haplotipe 15 breed ayam lokal Indonesia berkisar antara 0,45538-0,98332. Dalam hal ini diversitas haplotipe ayam Lombok masih berada di kisaran dari breed ayam lokal Indonesia. Analisis untuk determinasi ekspansi demografi dari populasi ayam Lombok, maka dilakukan Fu dan Li's test dengan menggunakan DnaSP versi 4.0 (ROZAS *et al.*, 2003). Hasil test menunjukkan bahwa nilai Fu's Fs (1987) adalah -9,770 dengan probabilitas = 0. Hasil negatif tinggi merupakan indikator belum terjadi inbreeding. Hal ini dapat diartikan keragaman genetik (*genetic diversity*) dan ekspansi populasi pada ayam Lombok tinggi. Perkawinan antar individu masih terjadi secara acak dan terbuka, dengan demikian dasar dari populasi ayam Lombok masih mempunyai keragaman genetik yang baik dan lebih baik dari dasar keragaman genetik ayam Jepang.

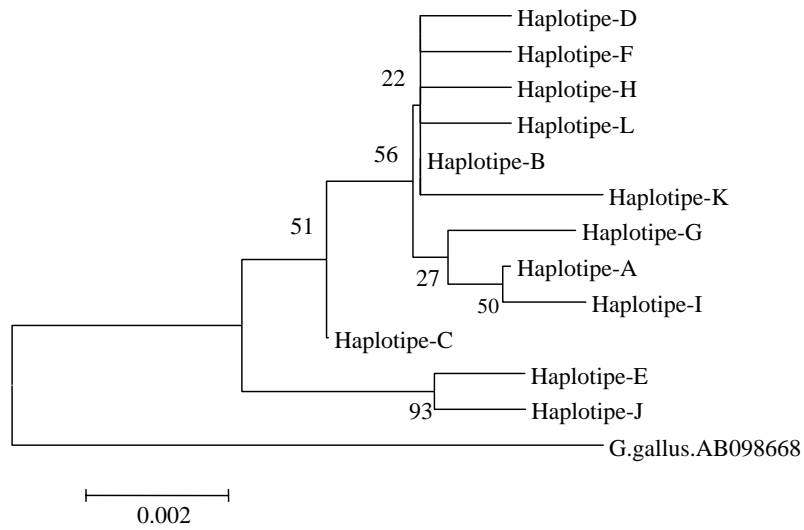
Program penangkaran yang baik adalah yang dapat mengurangi resiko terjadinya penurunan variasi genetik (LACY *et al.*, 1995). Dilain pihak pemeliharaan ayam kampung masih secara tradisional dengan dilepas dan pulang di sore hari, ada yang dikandangkan dan ada pula yang tidak dikandangkan. Umumnya daerah jelajah ayam tidak jauh, oleh sebab itu perkawinan cenderung terjadi diantara populasi di sekitarnya. Informasi keragaman genetik menjadi sangat penting sebagai indikator awal dalam mengambil keputusan para pemegang kebijakan dalam rangka revitalisasi peternakan ayam kampung.

Hubungan kekerabatan

Rekonstruksi pohon filogeni populasi ayam Lombok dilakukan berdasarkan urutan nukleotida daerah kontrol dari genom DNA mitokondria yang dianalisis secara parsial. Segmen ini memiliki kecepatan evolusi yang tinggi dibandingkan dengan daerah lainnya (TABERLET, 1996), sehingga segmen ini lebih banyak situs polimorfik yang berguna dalam rekonstruksi pohon filogeni intraspesifik. Pohon filogeni ini dibentuk dengan menggunakan metoda Neighbor-joining yang termasuk dalam metoda jarak dengan prinsip pengelompokkan taksa berdasarkan nilai jarak evolusioner pasangan-pasangan *operational taxonomy unit* dimana setiap percabangan yang terdapat dalam pohon filogeni berevolusi pada kecepatan yang tidak sama (HARTL, 2000).

Jarak genetik sebagai dasar rekonstruksi pohon filogeni yang dihasilkan dalam penelitian ini berdasarkan 12 haplotipe yang berhasil diidentifikasi dari populasi ayam Lombok, yaitu berkisar antara 0,001-0,017 (Tabel 3) dan pohon filogeni dianalisis menggunakan program Mega (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) software Versi 3.1 (KUMAR *et al.*, 2004). Hasil penelitian 15 breed ayam lokal Indonesia menunjukkan jarak genetik berkisar antara 0,002-0,877 (SULANDARI *et al.*, 2007). Berarti jarak genetik populasi ayam kampung di pulau Lombok lebih rendah dari kisaran jarak genetik ayam lokal Indonesia.

Hubungan kekerabatan diantara 12 haplotipe ayam Lombok dapat dilihat bahwa haplotipe E dan J ditunjukkan dengan nilai bootstrap tinggi (93%), sedangkan pada nodus lain nilai bootstrap berada dibawah 56%. Nilai bootstrap menjadi tolak ukur penentu tingkat kepercayaan pohon filogeni. Penggunaan metode *bootstrap* dalam menentukan tingkat kepercayaan pohon didasari pada kenyataan bahwa distribusi karakter dalam data dipengaruhi oleh efek acak (*stochastic*). Dengan sejumlah replikasi set data yang dihasilkan oleh metode *bootstrap*, dimungkinkan dilakukan penaksiran tentang seberapa besar efek acak tersebut berpengaruh terhadap pohon, terutama terhadap topologinya. Berdasarkan hal tersebut, nilai persentase hasil replikasi metode *bootstrap* disebut juga nilai *bootstrap* dijadikan tolak ukur penentu tingkat kepercayaan pohon. Semakin besar nilai *bootstrap*, maka semakin tinggi pula tingkat kepercayaan topologi pohon hasil rekonstruksi tersebut (HILLIS *et al.*, 1996; NEI dan KUMAR, 2000; HALL, 2001). Rekonstruksi pohon filogeni ayam Lombok menggunakan metode Neighbor-joining dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rekonstruksi pohon filogeni ayam Lombok berdasarkan haplotipe A-L dan *Gallus gallus* (AB098668) sebagai *out group*, dibuat dengan metoda *Neighbor-joining* berdasarkan software Mega versi 3.1

Tabel 3. Estimasi matrik jarak genetik 12 haplotipe dari populasi ayam Kampung Lombok dengan Mega Versi 3.1.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
Ref.												
A	0,016											
B	0,014	0,001										
C	0,013	0,003	0,001									
D	0,016	0,003	0,001	0,003								
E	0,015	0,008	0,006	0,005	0,008							
F	0,016	0,003	0,001	0,003	0,003	0,008						
G	0,014	0,004	0,003	0,004	0,004	0,009	0,004					
H	0,016	0,003	0,001	0,003	0,003	0,008	0,003	0,004				
I	0,017	0,001	0,003	0,004	0,004	0,009	0,004	0,003	0,004			
J	0,016	0,008	0,006	0,005	0,008	0,003	0,008	0,009	0,008	0,009		
K	0,017	0,004	0,003	0,004	0,004	0,009	0,004	0,005	0,004	0,005	0,009	
L	0,016	0,003	0,001	0,003	0,003	0,008	0,003	0,004	0,003	0,004	0,008	0,04

KESIMPULAN

Penurunan populasi ayam Lombok akibat pemanfaatan yang tidak seimbang dengan produksi, sampai saat ini belum mengakibatkan terjadinya inbreeding. Hal ini ditunjukkan dengan diversitas genetik dan ekspansi populasi yang cukup tinggi dari

populasi ayam Lombok. Namun demikian program penangkaran yang baik adalah yang dapat mengurangi resiko terjadinya penurunan variasi genetik. Faktor manajemen diperlukan untuk mempertahankan keberadaan populasi melalui program pengkayaan genetik dengan menggunakan indikator keragaman genetik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saya ucapkan terima kasih kepada Bapak Ir. Maskur, M.Si dan Ibu Ir. Lestari, M.Si. dosen Fakultas Peternakan Universitas Mataram, Bapak Agus Kundarmasno (Teknisi Laboratorium Genetika Bidang Zoologi, Puslit Biologi-LIPI) atas semua bantuannya dalam mengkoleksi material DNA di pulau Lombok.

DAFTAR PUSTAKA

- AVISE, J.C. 1994. Molecular markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York.
- DESJARDINS, P. dan 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
- FU, Y.X. and LI, W.H. 1993. Statistical test of neutrality of mutations. *Genetics.* 133: 693-709.
- FU Y.X., 1997. Statistical tests of neutrality of mutation against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics.* 147: 915-925.
- HALL, B.G. 2001. Phylogenetic trees made easy: A how-to manual for molecular biologists. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- HARTL, D. 2000. A primer of population genetics. 3rd ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- HARTL, D.L. and A.G. CLARK. 1989. Principles of Population Genetics, 2nd ed. Sinauer Associates, Massachusetts.
- HILLIS, D.M., B.K. MARBLE and C. MORITZ. 1996. Applications of molecular systematics: The state of the field and a look to the future. In: Hillis, D.M.C. MORITZ and B.K. MABLE (Eds.). 1996. *Molecular systematics. 2nd Ed.* Sinauer Associates, Inc., Sunderland. pp. 515-543.
- KUMAR, S., K. TAMARA and M. NEI. 2004. Mega3: Integrated software for molecular Evolutionar genetics analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinform.* 5: 150-163.
- LACY, R.C., J.D. BALLOU, F. PRINCEE, A. STARFIELD and E.A. THOMPSON. 1995. Pedigree analysis for populations of wild animal species. In: The Natural History of Inbreeding and Outbreeding (Eds. N.W. THORNHILL). University of Chicago Press, Chicago. pp. 352-374.
- LIU, Y.P, G.S, WU, Y.G. YAO, Y.W. MIAO, G. LUIKART, M. BAIG, A.B. PREIRA, Z.L. DING, M.G. PALANICHAMY and Y.P. ZHANG. 2006. Multiple maternal origin of chickens: Out of the Asian jungle. *Mol. Phylogen. Evol.* 38: 12-19.
- LI, W. and D. GRAUR. 1991. Fundamental of molecular evolution. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- MORITZ, C., J.W. WILMER, L. POPE, W.B. SHERWIN, A.C. TAYLOR and C.J. LIMPUS. 1996. Applications of genetics to the conservation and management of Australian fauna: Four case studies from Queensland. In: SMITH, T.B. and R.K. WAYNE. 1996. *Molecular genetic approaches in conservation.* Oxford University Press, New York: pp. 442-456.
- NATAAMJAYA, A.G, 2000. The native of chicken of Indonesia. *Bul. Plasma Nutfah* 6: 1-6.
- NATAAMJAYA, A.G., S.N. JARMANI dan T. SARTIKA. 1996. Konsep strategi penanganan pelestarian plasma nutfah pertanian secara ex-situ ternak ayam buras. Proyek Pemanfaatan dan Pelestarian Plasma Nutfah Pertanian, Bogor.
- NEI, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York.
- NEI, M. and S. KUMAR. 2000. Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press, Inc., Oxford: xiv + 333 p.
- OKA, T.Y. INO, K. NOMURA, S. KAWASHIMA, T. KUWAYAMA, H. HANADA, T. AMANO, M. TAKADA, N. TAKAHAKA, Y.HAYASHI, and F. AKISHINOMIYA, 2007. Analysis of mtDNA sequences shows Japanese native chickens have multiple origins. *Inter. Soc. Anim. Gen.* 38: 287-293.
- PRASETYO, S., M. IHSAN, S. WIDHIHARTI dan LESTARI. 1992. Studi Variasi Sifat-sifat Fenotipik Ayam Kampung di Pulau Lombok. Laporan Penelitian. Pusat Penelitian. Unram.
- PRASETYO, S., 2004. Peningkatan produksi ayam lokal Lombok lewat perbaikan mutu genetik dan tatalaksana untuk meningkatkan pendapatan petani di lahan marginal. Seminar Nasional Pemberdayaan Petani Miskin di Lahan Marginal Melalui Inovasi Teknologi Tepat Guna. Mataram, 31 Agustus - 1 September 2004. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Deptan.
- ROZAS, J., S.D. BARRIO, J.C., MESSEGUER and R. ROZAS. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics.* 19: 2496-2497.
- SACCHERI, I.J., P.M. BRAKEFIELD and R.A. NICHOLS. 1996. Severe inbreeding depression and rapid fitness rebound in the butterfly *Bicyclus anyana* (Satyridae). *Evolution.* 50: 2000-2013.
- SAMBROOK, J., E.F. FRITSCH and T. MANIATIS. 1989. Molecular Cloning, A Laboratory Manual. 2nd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- SULANDARI, S., M.S.A. ZEIN, S. PARYANTI dan T. SARTIKA. 2007. Taxonomi dan asal usul ayam domestikasi. Dalam buku: Keanekaragaman Sumber Daya Hayati Ayam Lokal Indonesia: Manfaat dan Potensi. K. DIWYANTO dan S.N. PRIJONO (Eds.). LIPI Press. hlm. 7-42.
- TABERLET, P. 1996. The use of mitochondrial DNA control region sequencing in conservation genetics. In: SMITH, T.B. and R.K. WAYNE (Eds). 1996. Molecular Genetic Approaches in Conservation. Oxford University Press, New York. pp. 125-142.