

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ayam lokal pedaging (Alope) merupakan hasil pengembangan dari ayam buras yang telah melalui proses pemurnian, yaitu seleksi berulang untuk memperoleh individu dengan performa unggul dan sifat yang seragam. Ayam hasil seleksi tersebut kemudian dikembangkan menggunakan teknologi *in ovo feeding*, yaitu pemberian nutrisi melalui injeksi ke dalam telur untuk mendukung pertumbuhan embrio, meningkatkan berat tetas, serta memperbaiki perkembangan jaringan usus halus setelah penetasan (Fiqri, 2024). Ayam Alope dari generasi pertama hingga sekarang dikembangkan melalui tahap penyeleksian, dimana pada penyeleksian ini memilih performa yang terbaik. Penggunaan teknik ini diharapkan menghasilkan ayam dengan performa yang lebih baik, sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai salah satu sumber daya genetik unggul. Meskipun ayam Alope telah diperkenalkan sebagai hasil pengembangan teknologi nutrisi embrional, hingga saat ini belum tersedia informasi ilmiah mengenai kekerabatan genetik ayam Alope dengan ayam lainnya.

Kekerabatan genetik adalah istilah yang merujuk pada hubungan evolusi antara individu atau spesies berdasarkan kesamaan genetik yang dimiliki. Menganalisis kekerabatan genetik sangat penting untuk mengidentifikasi potensi dan kontribusi genetik suatu spesies dalam program pemuliaan dan konservasi. Dengan mengetahui hubungan kekerabatan ini, strategi pengelolaan sumber daya genetik dapat dirumuskan secara lebih efektif. Selain itu, identifikasi kekerabatan genetik antar populasi berperan dalam memberikan gambaran yang lebih lengkap mengenai posisi dan kontribusi ayam di antara populasi, sehingga dapat membantu menjaga dan mengatur penggunaan sumber daya genetik dengan baik (Oldenbroek, 2021).

Marker DNA mitokondria, khususnya gen *Cytochrome B*, memiliki peran penting dalam penelitian kekerabatan genetik karena gen ini menunjukkan tingkat variasi antar individu dalam populasi. Karena sifat ini, gen *Cytochrome B* sering digunakan dalam analisis filogenetik untuk membantu mengelompokkan organisme berdasarkan hubungan evolusioner serta menentukan tingkat kedekatan genetik antar spesies dalam satu genus atau famili. Selain itu, analisis terhadap sekuens gen ini dapat memberikan informasi mengenai struktur populasi dan asal-usul domestikasi suatu spesies. Dalam penelitian ini, penggunaan marker DNA mitokondria *Cytochrome B* bertujuan untuk mengidentifikasi hubungan genetik antar populasi ayam secara molekuler (Phromnoi et al., 2022). Hal inilah yang melatarbelakangi dilakukannya penelitian mengenai identifikasi kekerabatan genetik ayam Alope dengan ayam lainnya berbasis marker DNA mitokondria *Cytochrome B*.

1.2 Landasan Teori

1.2.1 Ayam Lokal Secara Umum

Ayam lokal merupakan ayam yang berasal dari hasil domestikasi ayam hutan (*Gallus gallus*) dan dapat dikelompokkan menjadi beberapa tipe seperti pedaging, petelur,

diguna atau sebagai ayam hias (Alfauzi dan Hidayah, 2020). Ayam lokal juga merupakan salah satu kekayaan hayati yang telah lama dibudidayakan sehingga mampu beradaptasi dengan lingkungan alam di sekitarnya. Ayam lokal cukup adaptif terhadap iklim tropis dan juga tahan terhadap pengelolaan dan lingkungan yang buruk. Di Indonesia pemeliharaan ayam lokal sangat mempunyai keuntungan yang lebih besar sebab daya tahan dari penyakit lebih cenderung kebal (Nuraini et al., 2018).



Gambar 1. Ayam Alope

Di Sulawesi Selatan, ayam Alope merupakan salah satu jenis ayam yang dikembangkan di Laboratorium Produksi Ternak Unggas, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin. Untuk menjadikan ayam Alope sebagai ayam lokal pedaging dengan melakukan injeksi asam amino kedalam embrio diumur 8 hari masa inkubasi. Ayam Alope adalah jenis ayam buras hasil seleksi yang pada generasi pertama dengan menggunakan sistem *in ovo feeding* yang diberikan asam amino *L-Arginine*. Ayam hasil *in ovo feeding* (IOF) merupakan ayam yang mengalami pemberian nutrisi oksigen kedalam telur pada periode inkubasi (Azhar et al., 2019). Ayam Alope bersumber dari ayam lokal sulawesi yang dikumpulkan dan dikembangkan di Laikang, Kabupaten Gowa dengan menerapkan treatment *in ovo feeding* selama 2 generasi. Setelah tahap awal penelitian selesai, pengembangan ayam Alope kemudian dilanjutkan di Laboratorium Ternak Unggas dengan pendanaan BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional) yang dilakukan seleksi pemurnian berdasarkan performa dengan mengawinkan calon induk dengan performa terbaik.

1.2.2 Kekerabatan Genetik Ayam Lokal

Kekerabatan genetik pada ayam merupakan aspek penting dalam memahami hubungan genetiknya dengan ayam lainnya. Proses domestikasi pada unggas, telah menyebabkan terbentuknya berbagai jenis atau subpopulasi yang berbeda secara genetik. Adaptasi terhadap lingkungan lokal serta kebutuhan peternak setempat turut memengaruhi proses ini. Keragaman genetik dapat terjadi antarpopulasi maupun di dalam populasi, yang tercermin dari variasi fenotipik dan performa ayam (Wintari et al., 2019).

Secara umum, kekerabatan genetik dapat diidentifikasi melalui analisis filogeni, seperti yang dilakukan dalam studi berbasis marker DNA. Pendekatan genetik ini memberikan pemahaman yang lebih mendalam tentang struktur populasi dan juga membantu dalam upaya pelestarian sumber daya genetik unggas. Identifikasi

kekerabatan genetik juga dapat mendukung pengembangan program pembiakan yang bertujuan untuk meningkatkan kualitas dan ketahanan ayam terhadap penyakit (Pagala dan Nafiu, 2020).

Kekerabatan genetik ayam lokal dapat dianalisis melalui kekerabatan molekuler menggunakan gen *Cytochrome B* sebagai penanda. Gen ini telah digunakan untuk mengidentifikasi hubungan genetik antara ayam lokal dan nenek moyangnya, seperti ayam hutan merah. Pandi et al. (2017) menunjukkan bahwa sebagian sekuens gen *Cytochrome B* pada ayam hutan merah dari Minahasa memiliki kesamaan urutan DNA dengan ayam lokal. Temuan ini mengindikasikan adanya hubungan genetik antara keduanya dan mendukung hipotesis bahwa ayam lokal Indonesia memiliki keterkaitan asal-usul dengan ayam hutan melalui proses domestikasi. Penggunaan gen *Cytochrome B* dalam analisis ini membuktikan bahwa marker tersebut dapat dijadikan dasar untuk mengetahui kekerabatan genetik dan menyusun strategi pelestarian sumber daya genetik unggas lokal.

1.2.3 Marker DNA Mitokondria *Cytochrome B*

Cytochrome B merupakan salah satu gen yang paling sering digunakan untuk analisis taksonomi dan filogenetik di tingkat spesies dan famili. Gen ini terbukti bermanfaat untuk memperkirakan divergensi takso hingga tingkat ordo pada berbagai kelompok hewan (Phromnoi et al., 2022). Gen *Cytochrome B* memiliki sifat yang stabil di antara spesies yang sama namun menunjukkan variasi yang cukup jelas antar spesies yang berbeda, sehingga sangat sesuai digunakan dalam analisis filogenetik untuk mengelompokkan dan menentukan hubungan kekerabatan antar jenis ayam. Penggunaan gen *Cytochrome B* sebagai penanda genetik pada ayam dapat menghasilkan pengelompokan yang lebih akurat karena adanya daerah yang hampir identik di seluruh spesies ayam, tetapi juga terdapat variasi spesifik untuk masing-masing jenis. Hal ini menjadikan *Cytochrome B* sebagai penanda yang efektif dalam penelitian kekerabatan genetik ayam (Pandi et al., 2017).

Penelitian yang menggunakan gen *Cytochrome B* pada ayam juga menunjukkan bahwa variasi urutan DNA dalam gen *Cytochrome B* dapat digunakan untuk membedakan jenis ayam yang berbeda, baik secara morfologi maupun genetik. Analisis terhadap gen *Cytochrome B* mempermudah proses analisis hubungan kekerabatan antar jenis ayam melalui identifikasi daerah konservatif yakni bagian sekuens yang tetap stabil dalam spesies dan daerah yang menunjukkan variasi spesifik pada setiap jenis ayam (Pandi et al., 2017). Penggunaan gen *Cytochrome B* telah banyak diterapkan untuk memahami hubungan filogenetik dan pengelompokan jenis ayam lokal yang telah lama dipelihara di berbagai wilayah, termasuk dalam aspek domestikasi (Phromnoi et al., 2022).

Metode analisis berbasis DNA mitokondria, seperti penggunaan gen *Cytochrome B*, memiliki beberapa keunggulan dalam studi kekerabatan genetik ayam. DNA mitokondria berevolusi lebih cepat dibandingkan DNA inti, dan sifat maternalnya membuatnya lebih konsisten dalam analisis genetik. Selain itu, DNA mitokondria berukuran relatif kecil (16.000-20.000 pasang basa), memudahkan proses analisis dan pengelompokan berdasarkan marker genetik (Arsana dan Juliasih, 2023). Amplifikasi

gen *Cytochrome B* menggunakan PCR memungkinkan deteksi sampel yang telah mengalami degradasi atau dalam jumlah yang sangat kecil, yang sering terjadi dalam penelitian genetik pada spesies lokal. Hal ini menjadikan metode ini sangat efektif untuk mengidentifikasi hubungan kekerabatan (Kamagi, 2018).

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kekerabatan genetik ayam Alope dengan ayam lainnya berdasarkan analisis sekuens gen mitokondria *Cytochrome B*, guna mengetahui tingkat kedekatan hubungan genetik ayam Alope dengan data referensi ayam dari berbagai wilayah yang diperoleh melalui GenBank.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2024 - Maret 2025. Pengambilan sampel darah Ayam Alope dilakukan di Laboratorium Produksi Ternak Unggas, Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, dan uji kekerabatan genetik dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Terpadu, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin.

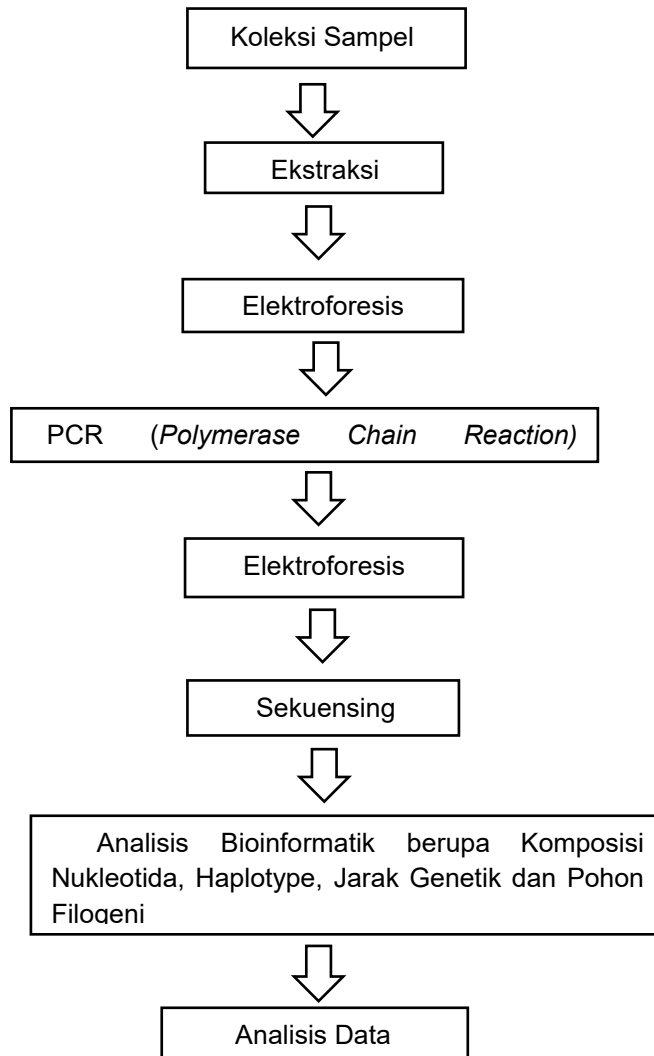
2.2 Materi Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikrotube, spoit 3 ml, pipet tip, mikropipet, *centrifuge*, *vortex mixer*, spatula, timbangan, *lab coat*, *hot plate stirrer* (untuk melarutkan agarosa), *gel casting tray* (mencetak gel agarosa), *water bath* atau *dry bath incubator* (untuk inkubasi reaksi), *PCR machine* (Termal siklus), unit elektroforesis gel, *UV transilluminator* (Gel documentation), *freezer* (-20°C untuk penyimpanan DNA dan *reagen*), serta komputer dengan perangkat lunak analisis sekuen (MEGA 11), serta alat tulis dan kertas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah ayam jantan Alope sebanyak 10 sampel, primer (*Forward dan reverse*), masker, handscoon, kit ekstraksi DNA, GS kolom, *master mix* PCR, buffer TBE (untuk elektroforesis gel agarosa), agarosa (untuk pembuatan gel elektroforesis), *flourosen* (untuk pewarnaan DNA pada gel), *loading dye* (untuk memuat sampel ke dalam gel), DNA ladder (sebagai penanda berat molekul), *Nuclease-free water/DH2O* (air bebas nuklease untuk reaksi PCR), *reagen sekuensing*, *buffer TE* (Tris-EDTA untuk penyimpanan DNA), etanol (untuk presipitasi DNA).

2.3 Metode Penelitian

Metode penelitian disajikan pada diagram alir prosedur penelitian yang ada pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram Alir Prosedur Penelitian

2.3.1 Koleksi Sampel Darah

Sampel darah diambil dari 10 ekor ayam jantan Alope melalui sayap (*vena branchialis*) sebanyak 1,5 ml menggunakan jarum *venoject* yang dilakukan pada tiap ekor ayam yang ditampung pada mikrotube yang telah berisi bubuk antikogulan EDTA untuk mencegah penggumpalan darah. setelah proses pengambilan darah selesai, sampel dibawa ke laboratorium dan disimpan di dalam freezer dengan suhu -20°C guna menjaga kestabilan kualitas DNA. Penyimpanan ini dilakukan karena proses ekstraksi DNA belum dapat segera dilakukan, disebabkan oleh belum tersedianya reagen secara lengkap.

Penyimpanan dalam freezer bertujuan untuk mencegah kerusakan DNA hingga proses analisis dapat dilaksanakan.

2.3.2 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Terpadu Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin. Sebelum tahap isolasi, sampel darah beku dicairkan terlebih dahulu pada suhu ruang hingga homogen. DNA diisolasi dan dimurnikan menggunakan Genomic DNA Mini Kit (Geneaid) dengan mengikuti protokol standar sesuai petunjuk kit. Tahap awal diawali dengan menyiapkan tabung mikrotube 1,5 mL yang telah diberi kode sesuai nama sampel. Sebanyak 10 μ L sampel darah dicampur dengan 30 μ L larutan RBC, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang. Campuran disentrifugasi pada kecepatan $3.000 \times g$ selama 5 menit, dan supernatan dibuang. Setelah itu, ditambahkan 90 μ L PBS ke dalam tabung sebagai bagian dari proses pembersihan seluler awal.

Tahapan dilanjutkan dengan penambahan 100 μ L RBC buffer dan pencampuran menggunakan vortex, kemudian ditambahkan 200 μ L GB buffer dan dicampur kembali hingga homogen. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 60°C selama 1 jam untuk proses lisis, disertai penambahan elution buffer. Setelah inkubasi, ditambahkan 200 μ L etanol 96% untuk mengendapkan DNA, lalu larutan dicampur secara merata. Selanjutnya, campuran dimasukkan ke dalam kolom GS yang telah disiapkan dan diberi kode. Proses sentrifugasi dilakukan selama 5 menit pada kecepatan $14.000 \times g$ untuk memisahkan DNA, kemudian supernatan dibuang.

Langkah pencucian dilakukan dengan penambahan 400 μ L W1 buffer yang diikuti sentrifugasi selama 30 detik, lalu supernatan dibuang. Setelah itu, ditambahkan 600 μ L wash buffer dan kembali disentrifugasi selama 30 detik. Untuk mengeringkan kolom, dilakukan sentrifugasi kering selama 3 menit. Tahap akhir berupa pemindahan kolom ke tabung baru, penambahan 200 μ L elution buffer yang telah dipanaskan, inkubasi selama 3 menit, dan sentrifugasi akhir selama 30 detik pada $14.000 \times g$ untuk memperoleh larutan DNA. Hasil ekstraksi ditandai dengan larutan jernih, dan keberhasilannya dikonfirmasi melalui elektroforesis gel agarosa yang menunjukkan pita DNA tajam dan jelas, menandakan DNA berada dalam kondisi baik dan siap untuk analisis amplifikasi PCR.

2.3.3 Amplifikasi PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Amplifikasi hasil ekstraksi DNA dilakukan menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) dengan menggunakan primer *Cytochrome B*. Primer untuk amplifikasi gen *Cytochrome B* yaitu Forward 5' - CTA GGC GAC CCA GAA AAC TT - 3' dan Reverse 5' - TCA GTT TTT GGT TTA CAA GAC - 3'. Komposisi reaksi PCR diatur dengan volume reaksi 25 μ L yang terdiri atas 2 μ L DNA, 12,5 μ L maxter mix, 1 μ L primer forward dan reverse, dan 8,5 μ L DH20 kemudian di vortex hingga homogen lalu di spindown. Setelah itu sampel dimasukkan ke dalam mesin PCR selama 2 jam 47 menit.

Reaksi PCR diawali dengan tahap denaturasi awal pada suhu 95°C selama 10 menit untuk memisahkan untai ganda DNA menjadi untai tunggal. Selanjutnya, proses dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri dari tiga tahapan utama. Tahap pertama adalah

denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit untuk memastikan DNA tetap dalam keadaan terpisah. Tahap kedua adalah annealing, di mana primer menempel pada DNA target, dilakukan pada suhu 57°C selama 1 menit 15 detik. Tahap ketiga adalah ekstensi, yaitu proses perpanjangan untai DNA oleh enzim Taq polymerase, yang berlangsung pada suhu 72°C selama 1 menit 30 detik. Setelah siklus PCR selesai, tahap terakhir adalah ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit untuk memastikan seluruh fragmen DNA telah tersintesis dengan sempurna. Hasil PCR dapat dilihat melalui elektroforesis gel agarosa, yang menunjukkan adanya pita DNA target berukuran sekitar 415 bp pada sampel. Kemunculan pita tersebut menandakan bahwa proses amplifikasi berhasil dan produk PCR layak untuk dianalisis lebih lanjut melalui tahapan sekuensing.

2.3.4 Elektroforesis Produk Ekstraksi dan PCR

Elektroforesis dilakukan untuk melihat keberhasilan proses ekstraksi DNA dan amplifikasi PCR. Proses ini menggunakan gel agarosa 1,5% yang dibuat dengan melarutkan 0,75 g agarose dalam 50 mL larutan TBE. Gel kemudian dipanaskan dalam microwave selama 3 menit. Setelah itu, ditambahkan flourosen sebanyak 2, 1 µl, kemudian gel dihomogenkan. Selanjutnya, agarose dituangkan ke dalam cetakan elektroforesis, dan comb dipasang untuk membentuk sumur. Setelah gel mengeras, dituangkan larutan TBE sebanyak 40-50 ml hingga seluruh permukaan gel terendam. Sampel sebanyak 2 µl dicampur dengan loading dye secukupnya, kemudian dihomogenkan sebelum dimasukkan ke dalam sumur gel. Selain itu, marker (pewarna tanpa DNA) juga ditambahkan ke salah satu sumur sebagai pembanding. Proses elektroforesis dijalankan selama 47 menit hingga pemisahan berlangsung dengan baik. Setelah selesai, gel dipindahkan ke *UV transiluminator* (gel documentation system) untuk divisualisasi. Keberhasilan amplifikasi PCR ditandai dengan munculnya pita tunggal yang jelas dan tegas.

2.3.5 Sekuensing

Sekuensing dilakukan untuk mengetahui urutan basa nukleotida secara lengkap pada gen *Cytochrome B* hasil amplifikasi PCR. Teknik PCR hanya menunjukkan keberadaan dan ukuran fragmen DNA, namun belum memberikan informasi rinci mengenai variasi urutan basa. Oleh karena itu, tahap sekuensing diperlukan untuk memperoleh data genetik yang dapat digunakan dalam analisis molekuler lebih lanjut. Produk PCR yang menunjukkan pita tunggal, jelas, dan tajam pada elektroforesis gel agarosa dipilih sebagai sampel karena menandakan bahwa proses amplifikasi berhasil dengan baik dan hasilnya layak dianalisis lebih lanjut untuk perhitungan jarak genetik, penyusunan pohon filogeni, *haplotype* dan perhitungan komposisi nukleotida. Proses sekuensing dilakukan menggunakan mesin sequencer di Laboratorium Research and Development Centre PT Genetika Science, Banten.

2.3.6 Analisis Bioinformatik (MEGA 11.0)

Urutan basa DNA yang diperoleh dari hasil sekuensing gen *Cytochrome B* diedit terlebih dahulu oleh peneliti menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolutionary Genetic*

Analysis (MEGA 11.0) untuk menghilangkan bagian awal dan akhir yang tidak terbaca dengan baik, serta memastikan tidak terdapat kesalahan pembacaan basa (*base calling error*). Setelah proses pengeditan selesai, data sekuen disimpan dalam format FASTA dan disejajarkan (*alignment*) menggunakan fitur ClustalW dalam MEGA 11.0. pensejajaran ini dilakukan agar posisi setiap basa dari seluruh sampel berada dalam baris yang sejajar, sehingga variasi urutan dapat dianalisis secara akurat. Proses ini penting dalam analisis bioinformatika yang dilakukan yaitu jarak genetik, penyusunan pohon filogeni, analisis *haplotype*, serta komposisi nukleotida.

Jarak genetik merupakan tingkat perbedaan gen (perbedaan genom) di antara suatu populasi atau spesies yang dapat diukur dengan berbagai parameter di mana jarak genetik yang kecil menunjukkan hubungan genetik yang dekat dan sebaliknya (Mariandayani dkk., 2013). Dalam analisis jarak genetik menggunakan metode *compute pairwise distance* pada aplikasi MEGA, nilai jarak genetik ditampilkan dalam rentang dari nol hingga satu. Nilai nol menunjukkan bahwa organisme berasal dari keturunan yang sama, sementara nilai satu mengindikasikan bahwa tidak ada hubungan genetik antara organisme tersebut.

Pohon filogeni adalah suatu bentuk gambaran dari silsilah makhluk hidup yang bercabang-cabang seperti pohon yang disebut pohon filogenetik. Salah satu tujuan dari penyusunan filogenetika adalah untuk mengkonstruksi dengan tepat hubungan antara organisme dan mengestimasi perbedaan yang terjadi dari satu nenek moyang kepada keturunannya (Lubis, 2014). Analisis filogeni dengan menggunakan data molekuler seperti DNA atau protein dapat menggambarkan hubungan evolusi antar spesies. Penyusunan pohon filogenetik dilakukan dengan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*), yaitu metode klastering yang didasarkan pada jarak genetik antar individu.

Haplotype adalah urutan DNA dari organisme tertentu dalam kromosom yang diwariskan dari leluhur. Keragaman haplotype sangat penting bagi kelangsungan hidup suatu kelompok organisme, karena memungkinkan spesies untuk beradaptasi dan bertahan menghadapi perubahan lingkungan (Garg, 2021). Untuk mengetahui keragaman haplotype, peneliti dapat menganalisis urutan DNA individu menggunakan teknik *sequencing* atau PCR untuk mengidentifikasi variasi genetik antar individu dalam populasi.

Komposisi nukleotida adalah salah satu bentuk karakterisasi gen atau keunikan suatu gen, di mana basa nukleotida, seperti sitosin, guanin, adenin, dan timin (disingkat C, G, A, dan T), merupakan bagian dari DNA yang terlibat dalam pemasangan basa. Dalam genetika, basa-basa nukleotida ini sering disebut sebagai basa N, karena memiliki gugus amina yang mengandung nitrogen. Komposisi basa tersebut sesuai dengan hasil sekuensing yang dilakukan (Hamida dan Taher, 2019). Untuk mengetahui komposisi nukleotida, peneliti melakukan sekuensing DNA, yang menghasilkan urutan basa nukleotida yang dapat dianalisis untuk menentukan perbandingan atau variasi komposisi nukleotida dalam gen tertentu.

2.4 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif, yaitu menganalisis hubungan kekerabatan ayam Alope dengan ayam lain berdasarkan sekuens gen *Cytochrome B*. Analisis dilakukan dengan menghitung komposisi nukleotida (persentase basa T, C, A dan G), mengidentifikasi variasi haplotype berdasarkan posisi substitusi basa, menghitung jarak genetik, serta menyusun pohon filogeni untuk menggambarkan hubungan kekerabatan antar ayam. Data sekuens ayam Alope yang diperoleh dari hasil sekuensing disandingkan dengan data ayam lain dari GenBank yang telah dikelompokkan berdasarkan haplogroup. Seluruh tahapan analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolutionary Genetic Analysis* (MEGA 11.0), dengan metode pensejajaran (alignment) berdasarkan urutan (Clustal W). Beberapa rumpun ayam lain diperoleh dari GenBank dan digunakan sebagai pembanding, dapat disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rumpun Ayam Lain sebagai Pembanding (*Reference Genome*)

Rumpun ayam	Haplogroup	Tempat Pengambilan Sampel	Nomor Akses GenBank	Sumber Genbank NCBI
G. gallus (Chunky broiler)	A	Japan	AF195628	Shen and Nakamura, 1999
G. gallus (Chunky broiler)	B	Japan	AF153499	Shen and Nakamura, 1999
G. gallus spedijs (Red Junglefowl)	C	Myanmar	NC040902	Miao et al., 2013
G. gallus murghi (Red Junglefowl)	C	India	GU261707	Miao et al., 2013
<i>G. gallus</i> (Huaiyang)	C	China	GU261701	Miao et al., 2013
<i>G. gallus</i> (Genomic DNA)	D	Manado	KY039428	Herrera et al., 2016
<i>G. gallus</i> (Genomic DNA)	D	Lombok	KY039426	Herrera et al., 2016
<i>G. gallus</i> (Genomic DNA)	D	Nunukan	KY039422	Herrera et al., 2016
<i>G. gallus</i> (Red Junglefowl)	D	Thailand	MG605671	Suwannapoom et al., 2017
Gallus gallus (Tulufan)	D	China	GU261683	Miao et al., 2013
G. gallus (Autochthonic chicken)	D	Laos	GU261687	Miao et al., 2013
G. gallus (Black strain)	E	Saudi Arabia	KF650598	Yacoub et al., 2013
G. gallus (Autochthonic chicken)	E	China	GU261694	Miao et al., 2013
G. lafayetii (Ceylon Junglefowl)	Outgroup	Japan	AP003325	Nishibori et al., 2021
G. Sonneratii (Gray Junglefowl)	Outgroup	Japan	AB044989	Nakaki Et al., 2000