

KERAGAMAN GENETIK BURUNG MALEO (*Macrocephalon maleo*) BERDASARKAN POLIMORFISME PROTEIN DARAH

Rini Hastarina

Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Tadulako, Palu
E-mail: rinnihastarina@gmail.com

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the genetic variation of the Maleo (*Macrocephalon maleo*) based on blood protein polymorphism. Material of the research was blood of Maleo coming from different original habitat, coastal and inland area. PAGE-TYLE (Polyacrilamide Gel Electrophoresis-Thin Layer Electrophoresis) was used in this research. Parameters observed were genotype at four locus Pre Albumin (PAIb), Albumin (Alb), Ceruloplasmin (Cp) and Transferrin (Tf). The obtained various data were used to analyze gene frequency, individual heterozygosity as well as average heterozygosity. The result showed that gene frequencies at allele A and B of four locus Maleo both in coastal and inland habitat were the same at PAIb locus and Tf locus, that was 0.5; Alb locus was 0.33 vs 0.67 and 0.67 vs 0.33, respectively; Cp locus was 0.5 vs 0.67 and 0.5 vs 0.33, respectively. Individual heterozygosity of four locus Maleo in coastal and inland habitat were the same at PAIb and Tf that was 0.5; Alb was 0.4555 respectively; Cp was 0.5 vs 0.4555 respectively. Average heterozygosity in coastal and inland Maleo were 0.3911 and 0.3822, respectively. In conclusion, Maleo in coastal and inland habitat showed the same value of diversity relativity due to uncontrolled assortative mating.

Key words: *Maleo (Macrocephalon maleo), genetic variation, polymorphism blood protein*

ABSTRAK

Penelitian bertujuan mengkaji keragaman genetik burung Maleo (*Macrocephalon maleo*) berdasarkan polimorfisme protein darah. Materi penelitian adalah darah Maleo dengan habitat asal yang berbeda yaitu habitat pantai (coastal) dan habitat pedalaman (inland). Metode yang digunakan adalah PAGE-TYLE (Polyacrilamide Gel Electrophoresis-Thin Layer Electrophoresis). Parameter yang diamati adalah susunan pada empat lokus (Pre Albumin, Albumin, Ceruloplasmin, Transferrin). Data susunan gen yang diperoleh digunakan untuk analisis frekuensi gen, heterozigositas individu, rata-rata heterozigositas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa frekuensi gen pada alel A dan B pada empat lokus Maleo habitat pantai dan habitat pedalaman adalah untuk lokus PAIb dan Tf mempunyai nilai yang sama 0,5; lokus Alb mempunyai nilai masing-masing 0,33 vs 0,67 dan 0,67 vs 0,33; lokus Cp masing-masing 0,5 vs 0,67 dan 0,5 vs 0,33. Heterozigositas individu untuk PAIb dan Tf mempunyai nilai yang sama 0,5; Alb mempunyai nilai masing-masing 0,4555; Cp masing-masing 0,5 vs 0,4555. Rataan heterozigositas Maleo habitat pantai sebesar 0,3911 dan Maleo habitat pedalaman sebesar 0,3822. Maleo habitat pantai (coastal) dan habitat pedalaman (inland) menunjukkan nilai relativitas keragaman yang sama disebabkan adanya perkawinan alami yang tidak terkontrol/perkawinan yang tidak terpilih (assortative mating).

Kata kunci: *Burung Maleo (Macrocephalon maleo), keragaman genetik, polimorfisme protein darah*

PENDAHULUAN

Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*) merupakan satwa endemik yang hidup secara alami di kepulauan Sulawesi. Di Sulawesi Tengah, kawasan Lore Lindu sebagai Taman Nasional dan Suaka Margasatwa Bakiriang adalah wilayah konservasi habitat alami (*in situ*) burung Maleo. Oleh Balai Konservasi Sumber Daya Alam (BKSDA) setempat pun melakukan pengontrolan pembinaan habitat burung Maleo terhadap masyarakat yang melakukan pemeliharaan di luar habitat alami (*ex situ*) dimana relevansinya berpangkal pada suatu tindakan yang dapat mempertahankan upaya konservasi satwa endemik tersebut.

Upaya konservasi burung Maleo dapat dilakukan melalui studi genetik karena dapat memberikan evaluasi mengenai variasi genetik dari spesies organisme pada suatu populasi. Studi tentang keragaman genetik merupakan aspek yang sangat penting dalam pelestarian dan pemanfaatan plasma nutfah. Warwick et al. (1990) menerangkan bahwa keragaman genetik adalah penyimpangan sifat atau karakter dari individu yang terjadi karena perkawinan alami yang tidak terkontrol.

Keragaman genetik merupakan salah satu dasar untuk mengetahui tingkat perubahan nilai keberhasilan seleksi dalam suatu populasi dan dapat pula digunakan dalam penentuan asal-usul ternak, menyusun hubungan filogenetik antara spesies-spesies serta bangsa-

bangsa atau kelompok-kelompok dalam spesies (Warwick et al., 1990). Keragaman genetik dapat dilihat dengan menggunakan karakter alel dari suatu lokus protein tertentu yang berasal dari cairan atau jaringan tubuh seperti darah, putih telur dan kuning telur. Warwick et al. (1990) menyatakan bahwa keragaman genetik dapat diketahui dari karakter alel pada suatu lokus protein darah antara lain Pre-Albumin (PAIb), Albumin (Alb), Ceruloplasmin (Clp) dan Transferrin (Tf) dengan menggunakan metode elektroforesis. Berkaitan dengan hal tersebut, telah dilakukan pengkajian secara empiris terhadap burung Maleo yang bertujuan mengkaji keragaman genetik berdasarkan polimorfisme protein darah burung Maleo (*Macrocephalon maleo*) serta memberikan informasi ilmiah kepada instansi terkait guna menunjang program konservasi satwa endemik Sulawesi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian burung Maleo (*Macrocephalon maleo*) yang berasal dari habitat pantai (*coastal*) dan habitat pedalaman (*inland*) menggunakan darah Maleo yang dianalisis di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta selama empat bulan.

Bahan

Spesifikasi sampel penelitian tertera pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Spesifikasi sampel penelitian

Jenis Kelamin	Umur (tahun)	Bobot Badan (kg)	Maleo Pantai (<i>coastal</i>)	Maleo Pedalaman (<i>inland</i>)
Jantan	2	0,8	M4a	
Jantan	5	1,5	M1	
Jantan	5	1,5		M2
Jantan	5	1,5		M3
Betina	5	1,6	M4b	
Betina	5	1,6		M5

Metode Penelitian

Darah Maleo diambil pada vena branchialis sebanyak 1-2 ml, disentrifuse 3500 rpm selama 5 menit sebanyak 1x, lalu diperoleh plasma darah dan sel darah merah. Plasma darah dipindahkan ke tabung reaksi baru.

a. Persiapan Elektroforesis

Elektroforesis PAGE-TYLE (Polyacrilamide Gel Electrophoresis-Thin Layer Electrophoresis) dipasang vertikal sesuai petunjuk Ogita dan Markert (1968) yakni: Media gel poliakrilamid terdiri dari 10 ml gradien gel 10% dan 5 ml stacking gel 3%. Sampel elektroforesis konsentrasi 100 μ l (10 μ l plasma darah + 90 μ l aquades) untuk kepekatan 10x pengenceran dan sampel diberi buffer elektroda perbandingan 4:1.

b. Elektroforesis, Staining dan Destaining

Tahapan elektroforesis menghubungkan piranti dengan "power supply" guna proses running plasma darah Maleo terhadap pemisahan pita-pita protein pada lokus Pre Albumin, Albumin, Ceruloplasmin dan Transferrin. Arus listrik digunakan 30 mA, 125 Volt selama 2-3 jam, setelah usai pindah ke tahapan pewarnaan (staining) dimana gel hasil elektroforesis ditempatkan dalam cawan berisi Coomassie Blue 0,1% dan dishaker selama 3 jam. Setelah itu, pencucian gel (destaining) sebanyak 3x berulang-ulang dengan perbandingan larutan methanol : asam asetat : H₂O = 50 : 10 : 40.

Analisis Data

a. Frekuensi Gen

Frekuensi alel dan genotip sesuai rumus Warwick et al. (1990) dimana:

$$F_n = \frac{\Sigma \text{Lokus}_{A_n}}{\Sigma \text{Lokus}_{A_1} + \Sigma \text{Lokus}_{A_2} + \Sigma \text{Lokus}_{A_3} + \dots + \Sigma \text{Lokus}_{A_n}}$$

Keterangan:

F_n = Frekuensi gen A pada lokus ke-n

b. Penghitungan Ragam Genetik

Pendugaan ragam genetik sesuai rumus Nei (1987), heterozigositas (h) dimana :

$$h = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$$

Keterangan:

h = heterozigositas

m = jumlah alel

x_i = frekuensi gen ke-i

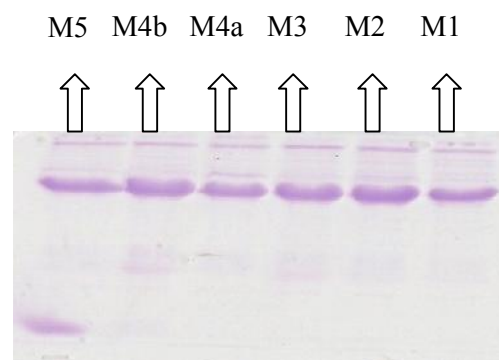
Rataan heterozigositas ($\bar{H}$) :

$$(\bar{H}) = \frac{1 - \sum_{i=1}^m x_i^2}{r}$$

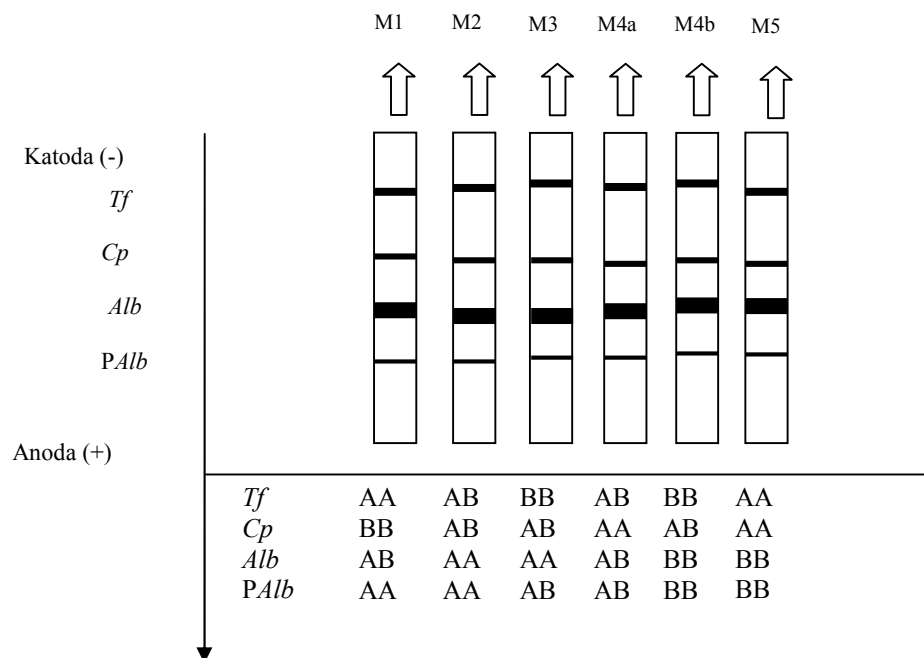
HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman Genetik Dilihat dari Polimorfisme Protein Darah Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*)

Keragaman genetik burung Maleo dari polimorfisme protein darah Pre-Albumin, Albumin, Ceruloplasmin dan Transferrin ditunjukkan pada Ilustrasi 1 dan Ilustrasi 2 di bawah ini:



Gambar 1. Contoh Blue Print Burung Maleo



Gambar 2. Diagram Urutan Lokus Protein Darah

Pre-Albumin (PALb)

Pre-Albumin (PALb) Maleo Pantai dan Maleo Pedalaman dikontrol alel PALbA dan PALbB. PALb memiliki ciri pita protein paling tipis, terdapat perbedaan antar pergerakan alel ke arah anoda (positif). PALb alel AA bergerak lebih cepat ke arah anoda diikuti alel AB dan disusul alel BB. Tampilan genotipik

PALb yakni PALbAA, PALbAB dan PALbBB. Karakteristik homozigot alel PALbAA dan PALbBB serta heterozigot alel PALbAB. Hasil penelitian PALb dinyatakan Lestari et al. (1998) bahwa *Gallus-gallus* (ayam kampung dan ayam ras) dikontrol alel PALbA dan PALbB, polimorfisme PALb memiliki genotip PALbAA, PALbAB dan PALbBB. Penyebaran genotip dan frekuensi gen PALb Maleo tertera pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Penyebaran Genotip dan Frekuensi Gen Pre-Albumin (PALb) Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*)

Materi Penelitian	Kode Lokus	Jumlah Lokus (n)	Genotip			Frekuensi Gen	
			AA	AB	BB	<i>PALb</i> A	<i>PALb</i> B
Maleo pantai (<i>coastal</i>) M ₁ ; M _{4a} ; M _{4b}	M ₁ ; M _{4a} ; M _{4b}	3	1	1	1	0,5	0,5
Maleo pedalaman (<i>Inland</i>) M ₂ ; M ₃ ; M ₅	M ₂ ; M ₃ ; M ₅	3	1	1	1	0,5	0,5

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan Maleo terdapat kesamaan nilai frekuensi gen yaitu 0,5 pada genotip alel PAlbA dan PAlbB. Frekuensi gen memperoleh nilai yang sama atau akan tetap dengan nilai yang sama dikarenakan adanya populasi yang relatif besar pada habitat asal (pantai dan pedalaman) satwa endemik Sulawesi ini sehingga peluang untuk adanya kawin acak dapat terjadi. Warwick et al. (1990) menyatakan apabila perkawinan terjadi secara acak maka konsep frekuensi gen dan genotipik akan tetap sama.

Albumin (Alb)

Lokus Albumin (Alb) Maleo secara visual mudah dideteksi karena memiliki ciri ketebalan pita protein dan terlihat lebih besar dari pita protein lokus yang lain. Lokus Alb ini dikontrol alel AlbA dan AlbB. Polimorfisme Alb memiliki genotip alel AlbAA bermigrasi paling cepat dibandingkan alel AlbAB lalu diikuti alel AlbBB. Karakter homozigot alel AA dan BB serta heterozigot alel AB. Penyebaran genotip dan frekuensi gen Alb Maleo tertera pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Penyebaran Genotip dan Frekuensi Gen Albumin (Alb) Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*)

Materi Penelitian	Kode Lokus	Jumlah Lokus (n)	Genotip			Frekuensi Gen	
			AA	AB	BB	<i>Alb A</i>	<i>Alb B</i>
Maleo pantai (<i>coastal</i>) M ₁ , M _{4a} , M _{4b}	M ₁ , M _{4a} , M _{4b}	3		2	1	0,33	0,67
Maleo pedalaman (<i>Inland</i>) M ₂ , M ₃ , M ₅	M ₂ , M ₃ , M ₅	3	2		1	0,67	0,33

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan oleh Tabel 3 Maleo pantai memiliki nilai frekuensi gen 0,33 (Alb A) dan 0,67 (Alb B) dan Maleo pedalaman memiliki nilai 0,67 (Alb A) dan 0,33 (Alb B). Adanya perbedaan tinggi ataupun rendahnya frekuensi gen alel A dan B disebabkan adanya silang dalam (inbreeding). Menurut Noor (2004) nilai frekuensi gen salah satunya dipengaruhi oleh silang dalam, merupakan bentuk isolasi secara genetik karena jika suatu populasi terisolasi maka silang dalam cenderung terjadi disebabkan keterbatasan pilihan dalam proses

perkawinan. Hasil penelitian lokus Alb ayam Kedu oleh Wulandari (2008) menerangkan bahwa Alb dikontrol alel AlbA dan AlbB, genotip homozigot AlbAA dan AlbBB serta heterozigot AlbAB dimana alel A memiliki nilai frekuensi gen lebih tinggi dibandingkan dengan alel B. Namun pada ayam kampung asli Indonesia dengan nenek moyang ayam (*Gallus-gallus*) yang ditemukan di Indonesia memiliki nilai frekuensi gen lebih tinggi pada alel AlbB dibandingkan alel AlbA (Hashiguchi et al., 1982).

Ceruloplasmin (Cp)

Ceruloplasmin (Cp) dikontrol alel A dan alel B, karakter homozigot alel AA dan alel BB serta heterozigot alel

AB. Penyebaran genotip dan frekuensi gen lokus Cp Maleo dapat dilihat pada Tabel 4 di bawah ini.

Tabel 4. Penyebaran Genotip dan Frekuensi Gen Ceruloplasmin (Cp) Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*)

Materi Penelitian	Kode Lokus	Jumlah Lokus (n)	Genotip			Frekuensi Gen	
			AA	AB	BB	Cp A	Cp B
Maleo pantai (<i>coastal</i>) M ₁ , M _{4a} , M _{4b}	M ₁ , M _{4a} , M _{4b}	3	1	1	1	0,5	0,5
Maleo pedalaman (<i>Inland</i>) M ₂ , M ₃ , M ₅	M ₂ , M ₃ , M ₅	3	1	2		0,67	0,33

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan oleh Tabel 4 terlihat adanya perbedaan nilai frekuensi gen pada lokus Cp Burung Maleo pantai dan Burung Maleo pedalaman. Burung Maleo pantai mempunyai nilai 0,5 (Cp A) dan 0,5 (Cp B), sedangkan Burung Maleo pedalaman mempunyai nilai 0,67 (Cp A) dan 0,33 (Cp B). Polimorfisme Cp telah ditemukan pada sapi Jawa oleh Aminah (2005), menerangkan bahwa secara genotipik alel-alel yang diekspresikan memiliki karakteristik homozigot yang dinamakan dengan tipe FF dan SS serta memiliki karakteristik heterozigot dengan tipe FS, dimana frekuensi gen pada alel F yaitu 0,533 dan alel S yaitu 0,467.

Hal ini menandakan bahwa pada lokus ini, terdapat kesamaan kondisi nilai yang tinggi untuk alel yang lebih cepat bergerak ke kutub positif.

Transferrin (Tf)

Transferrin merupakan molekul glikoprotein yang diproduksi oleh hati dan mampu mengikat satu atau dua ion besi dengan kuat, namun bersifat reversible yang berperan dalam mengikat dan mengangkut ion besi di dalam tubuh. Transferrin (Tf) pada Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*) dikontrol oleh alel A dan B, sebaran genotip homozigot TfAA dan TfBB serta heterozigot TfAB. Hasil penelitian Yamamoto et al. (1995) menyatakan bahwa ayam Kampung, ayam Bangkok, ayam Kedu dan ayam Pelung memiliki alel TfA, TfB dan TfC. Berikut penyebaran genotip dan frekuensi gen Tf pada Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*) dideskripsikan pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Penyebaran Genotip dan Frekuensi Gen Transferrin (Tf) Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*)

Materi Penelitian	Kode Lokus	Jumlah Lokus (n)	Genotip			Frekuensi Gen	
			AA	AB	BB	Tf A	Tf B
Maleo pantai (<i>coastal</i>) M ₁ , M _{4a} , M _{4b}	M ₁ , M _{4a} , M _{4b}	3	1	1	1	0,5	0,5
Maleo pedalaman (<i>Inland</i>) M ₂ , M ₃ , M ₅	M ₂ , M ₃ , M ₅	3	1	1	1	0,5	0,5

Hasil pengamatan Tf menunjukkan nilai frekuensi gen yang sama pada Burung Maleo pantai dan pedalaman yaitu 0,5. Adanya populasi yang relatif besar pada habitat pantai dan pedalaman dari satwa endemik Sulawesi ini sehingga peluang untuk adanya kawin acak dapat terjadi. Hasil penelitian Warwick et al. (1990) menyatakan apabila perkawinan terjadi secara acak maka konsep frekuensi gen dan genotipik akan tetap sama. Terdapat kesamaan nilai yang tetap

pada hasil penelitian Yamamoto et al. (1995) dimana pada lokus TfA dari ayam Kampung, ayam Bangkok dan ayam Pelung mempunyai nilai yang sama yaitu 0.

Heterozigositas Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*)

Nilai Rerata heterozigositas sesuai dengan petunjuk Nei (1987) yang dapat diamati pada Tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Nilai Rerata Heterozigositas Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*)

Materi Penelitian	Kode Lokus	Jumlah Sampel (n)	$\bar{H}$
Maleo pantai (<i>coastal</i>) M ₁ , M _{4a} , M _{4b}	M ₁ , M _{4a} , M _{4b}	3	0,3911
Maleo pedalaman (<i>Inland</i>) M ₂ , M ₃ , M ₅	M ₂ , M ₃ , M ₅	3	0,3822

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 6 menampilkan nilai Rerata Heterozigositas Burung

Maleo pantai adalah 0,3911 dan Burung Maleo pedalaman adalah 0,3822. Hal ini menunjukkan bahwa burung Maleo

mempunyai relativitas keragaman yang sama. Tingginya nilai rata-ran heterozigositas Maleo disebabkan adanya perkawinan yang tidak terkontrol dari masing-masing populasi pada habitat asal, mengingat bahwa hewan ini merupakan satwa liar endemik yang dijaga kelestariannya maka tidak ada intervensi dalam hal pengontrolan perkawinan alami oleh petugas BKSDA setempat. Menurut Baker dan Manwell (1986), tingginya heterozigositas dipengaruhi faktor overdominan (heterosis positive), perbedaan frekuensi gen antara jantan dan betina serta perkawinan yang tidak terpilih (assortative mating).

KESIMPULAN

Lokus PAlb dan Tf mempunyai nilai yang sama 0,5; lokus Alb mempunyai nilai masing-masing 0,33 vs 0,67 dan 0,67 vs 0,33; lokus Cp masing-masing 0,5 vs 0,67 dan 0,5 vs 0,33. Heterozigositas individu untuk PAlb dan Tf mempunyai nilai yang sama 0,5; Alb mempunyai nilai masing-masing 0,4555; Cp masing-masing 0,5 vs 0,4555. Keragaman genetik burung Maleo (*Macrocephalon maleo*) memiliki nilai rata-ran heterozigositas masing-masing 0,3911 dan 0,3822 antara habitat pantai (coastal) dan habitat pedalaman (inland) dapat dimaknai bahwa nilai yang diperoleh mempunyai relativitas keragaman yang sama disebabkan adanya perkawinan alami yang tidak terkontrol/perkawinan yang tidak terpilih (assortative mating).

DAFTAR PUSTAKA

- Aminah, S. 2005. Keragaman Protein Darah (Albumin, Transferrin, Ceruloplasmin dan Post Transferrin) Sebagai Parameter Biogenetik pada Sapi Jawa. Universitas Diponegoro, Semarang (Tesis Magister Ilmu Ternak).
- Baker, C.M. and C. Manwell. 1986. Population Genetics, Molecular Marker and Gene Conservation of Bovine Breeds. In: Neimann and Hickman (Ed). World Animal Science. Elsevier Health Sciences. London.
- Hashiguci, T., T. Nishida., Y. Hayashi and S.S. Mansjoer. 1982. Blood Protein Variation of the Native and Jungle Fowl in Indonesia. The Report by Grant-in-Aid for Overseas Scientific Survey in 1981: 97-109.
- Lestari. M. Astuti dan D.T. Sulistyowati. 1998. Pengkajian polimorfisme protein darah pada ayam kampung dan ayam ras. Buletin Peternakan. 22:3.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Colombia University Press, New York.
- Noor, R.R. 2004. Genetika Ternak. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ogita, Z. L. and Markert. 1968. A. Miniaturized system for electrophoresis on polycrilamide gels. Anal. Biochem. 99: 233-241.
- Tanabe, Y., H. Yokohama, J. Murakami, H. Kano, O. Tanakawi, H. Okabayashi, Y. Maeda, C. Koshimoto, K. Nozawa, K. Tumennasan, B. Dashnyam and T. Zhanchiv. 1999. Polymorphisms of the plumage colors, the skin variations and blood proteins in the native chickens in Mongolia. Report of the Society for Researches on Native Livestock. 17: 139-153.
- Warwick, E.J., J.M. Astuti dan W. Hardjosoebroto. 1990. Pemuliaan Ternak. Edisi ke-4. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

- Wulandari, A.R. 2008. Studi Tentang Keragaman Genetik Melalui Polimorfisme Protein Darah dan Putih Telur pada Tiga Jenis ayam Kedu Periode “Layer”. Tesis. Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Yamamoto, Y., T. Namikawa, I. Okada, M. Nishibori, S.S. Mansjoer and H. Martojo, 1995. Genetical studies on native chickens in Indonesia. Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, Higashihiroshima-shi 739, Japan.