

## **RAGAM ALEL MIKROSATELIT BURUNG KAKATUA KECIL JAMBUL KUNING (*Cacatua sulphurea*)**

**I Gede Widhiantara, A.A.A Putri Permatasari, I Wayan Rosiana**

Program Studi Biologi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Sains, dan Teknologi,  
Universitas Dhyana Pura, Badung, Bali INDONESIA 80351  
Corresponding author, tel/fax: 081999983055  
email : widhiantara@undhirabali.ac.id

### **ABSTRAK**

*Populasi burung Kakatua Kecil Jambul Kuning (*Cacatua sulphurea*) di alam semakin memprihatinkan, sehingga diperlukan kajian ilmiah untuk membantu upaya penangkaran jenis ini. Penelitian ini dimaksud untuk mengetahui ragam alel yang terdapat pada Burung Kakatua Kecil Jambul Kuning (*Cacatua sulphurea*) yang dikembangkan secara konservasi eksitu di lembaga konservasi di Provinsi Bali. Ragam alel diketahui melalui identifikasi ukuran alel DNA mikrosatelit yang terdapat pada burung tersebut. Data dari penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk pembuatan database DNA ataupun untuk keperluan dan strategi konservasi di kemudian hari terutama untuk memperkaya data keanekaragaman genetik. Pengambilan sampel burung Kakatua Kecil Jambul Kuning Kecil dengan menggunakan metode purposive sampling. Proses ekstraksi DNA menggunakan metode Phenol-Kloroform (Sambrook dan Russel, 2001) yang dimodifikasi. DNA burung hasil isolasi diamplifikasikan pada mesin PCR (Applied Biosystem 2720 Thermal Cycler) dengan menggunakan dua pasang primer mikrosatelit. Adapun campuran untuk proses PCR adalah : PCR Master Mix Solution 9,5 µl, DNA template 2 µl dan primer mikrosatelit 1 µl dengan volume total 12,5 µl. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada primer Prob 06 tidak muncul alel dikarenakan terjadi mutasi pada sisi annealing atau primer site pada DNA template baik pada reverse ataupun forward. Locus Prob 15§ menghasilkan panjang alel yang*

*sama atau hanya satu alel. Sehingga dapat disimpulkan bahwa variasi genetik pada sampel penelitian ini sangat rendah.*

*Kata Kunci: Keragaman Alel, Kakatua Jambul Kuning (*Cacatua sulphurea*)*

## **PENDAHULUAN**

Berbagai faktor diperkirakan menjadi penyebab turunnya populasi satwa burung. Nilai ekonomis yang tinggi menjadi penyebab utama tingginya perburuan terhadap satwa ini. Selain perburuan illegal, penurunan kualitas habitat akibat fragmentasi hutan ataupun alih fungsi lahan lainnya juga menjadi penyebab utama turunnya populasi burung di alam liar. Pemahaman masyarakat yang rendah akan pentingnya konservasi, rendahnya pengawasan dan penerapan sanksi hukum juga menjadi penyebab lain penurunan populasi satwa ini (Pujo dan Mariana, 2007).

Salah satu jenis burung yang mengalami penurunan populasi yang tinggi dan dalam keadaan yang sangat memprihatinkan adalah jenis burung Kakatua Kecil Jambul Kuning (*Cacatua sulphurea*). Burung ini merupakan burung endemik wilayah Indonesia bagian timur yang tersebar di berbagai kepulauan mulai dari Nusa Penida dan kawasan bioregion Wallacea. Harga atau nilai ekonomis yang tinggi menyebabkan burung ini semakin diburu karena banyak diminati oleh kolektor atau penghobi burung (Imansyah *et al.*, 2005).

Berbagai upaya sudah dilakukan untuk mencoba mengkonservasi Burung Kakatua Kecil Jambul Kuning demi mempertahankan keberadaan satwa ini. Konservasi secara eksitu dengan mengembangbiakkan burung ini di luar habitat aslinya sudah dilakukan di beberapa lembaga konservasi yang ada di Bali. Beberapa pengetahuan dan data dasar mengenai genetika burung ini masih sangat kurang. Data genetik sangat diperlukan untuk mendukung peningkatan keragaman genetik burung tersebut untuk usaha konservasi di kemudian hari.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan sebuah penelitian untuk mendapatkan pola-pola genetik ataupun ragam alel mikrosatelit yang terdapat pada Burung Kakatua Kecil Jambul Kuning yang ada di lembaga

konservasi di Bali. Penelitian ini nantinya diharapkan dapat dimanfaatkan oleh pihak terkait untuk mendukung usaha konservasi secara eksitu pada burung tersebut.

## **METODE PENELITIAN**

Pengambilan sampel darah dilakukan dengan memotong salah satu kuku Burung Kakatua-kecil Jambul-kuning. Darah yang keluar dari ujung kuku diambil sekitar tiga tetes. Sampel darah kemudian dimasukkan pada tabung ekstraksi DNA 1,5 ml yang telah berisi bufer lisis DPZ sebanyak 150 µl.

DNA diekstraksi dengan menggunakan metode fenol-kloroform (Sambrook dan Russell, 2001) dengan modifikasi. Sampel darah dalam 150 µl lisis buffer DPZ ditambahkan dengan 100 µl 1 x Sodium Chloride-Tris-EDTA (STE), 50 µl Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) 10%, 150 µl fenol, 150 µl CIAA (kloroform isoamil alkohol) dan 20 µl NaCl 5 M. Sampel tersebut kemudian proses *tilting* selama dua jam pada suhu kamar. Sampel kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit.

DNA hasil isolasi diamplifikasikan pada mesin PCR menggunakan dua pasang primer mikrosatelit spesifik untuk keluarga burung paruh bengkok. Adapun campuran untuk proses amplifikasi PCR adalah : PCR Master Mix Solution 9,5 µl, DNA template 2 µl dan primer mikrosatelit 1 µl dengan volume total 12,5 µl (Junitha, 2007).

Elektroforesis produk PCR menggunakan *polyacrylamide gel electrophoresis* (PAGE) 6% selama 90 menit dengan tegangan konstan 110 volt. Visualisasi DNA hasil amplifikasi mikrosatelit menggunakan metode Tegelström (1986) dengan reagen pewarna perak nitrat (AgNO<sub>3</sub>). Jarak migrasi pita-pita DNA pada *polyacrylamide gel electrophoresis* (PAGE) 6% diukur dan hasil pengukuran dianalogikan pada kertas semilog untuk menetapkan panjang DNA hasil amplifikasi mikrosatelit. Keragaman genetik dihitung dengan menggunakan rumus heterozigositas dari Nei (1987).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada penelitian ini diperoleh sampel sebanyak empat ekor Burung Kakatua Kecil Jambul Kuning. Dari keempat sampel tersebut berasal dari 2 sub spesies Kakatua Jambul Kuning Kecil yaitu Kakatua Kecil Jambul Kuning (*Cacatua sulphurea*) dan Kakatua Cempaka (*Cacatua sulphurea citrinocristata*). Semua Burung yang menjadi sampel penelitian ini berasal dari PT. Taman Burung Citra Bali Internasional yang merupakan salah satu lembaga konservasi di Bali. Semua sampel dalam penelitian ini kemudian dikode seperti pada Tabel 1 berikut :

Tabel 1 Sampel Penelitian Burung Kakatua Kecil Jambul Kuning

| No | Kode | Riwayat/Sumber Koleksi Burung                     |
|----|------|---|
| 1  | 2    | Koleksi PT. Taman Burung Citra Bali International |
| 2  | 3    | Koleksi PT. Taman Burung Citra Bali International |
| 3  | 4    | Koleksi PT. Taman Burung Citra Bali International |
| 4  | 5    | Koleksi PT. Taman Burung Citra Bali International |

Dari keseluruhan sampel yang diperoleh dalam penelitian ini, sampel yang berhasil teramplifikasi hanya pada Primer Prob 15§ sedangkan pada Primer Prob 06 semua sampel tidak berhasil teramplifikasi. Adapun data jumlah sampel dan sampel yang berhasil teramplifikasi pada penelitian ini bisa dilihat seperti Tabel 2 berikut :

Tabel 2 Jumlah Sampel, Sampel Teramplifikasi, dan Jumlah Alel Pada Lokus Prob 06 dan Prob 15 §

| Lokus          | Prob 06 | Prob 15§ |
|----------------|---------|----------|
| Jumlah Sampel  | 4       | 4        |
| Teramplifikasi | -       | 3        |
| Jumlah Alel    | -       | 1        |



Gambar 1. Hasil Amplifikasi Lokus Prob 06 dan Prob 15 § Pada PAGE

Gambar 1 menunjukkan bahwa Prob 06 tidak menunjukkan pita-pita DNA. Tidak munculnya pita-pita DNA pada lokus tersebut dapat disebabkan oleh berbagai faktor meliputi: tidak tepatnya suhu dalam proses *annealing time* pada proses amplifikasi serta sudah mutasinya lokus tersebut pada sampel Kakatua Kecil Jambul Kuning. Suhu *annealing time* yang tidak sesuai menyebabkan tidak menempelnya primer Prob 06 pada DNA template. Hal tersebut menyebabkan tidak berjalannya proses amplifikasi sehingga tidak akan dihasilkan DNA target.

Kemungkinan lain penyebab tidak munculnya alel pada primer Prob 06 adalah sudah mutasinya sisi *annealing* atau *primer site* pada DNA template baik pada *reverse* ataupun *forward*. Akibat terjadinya mutasi tersebut akan menghasilkan *null alel* pada lokus tersebut. Menurut Wattier *et al.* (1998) *null alel* pada berbagai lokus mikrosatelit disebabkan oleh mekanisme amplifikasi diferensial yang berdasarkan varian ukuran alel. Karena sifat kompetitif pada proses PCR, alel DNA yang berukuran lebih kecil memiliki peluang lebih besar berhasil diamplifikasi daripada alel yang lebih panjang. Selain itu menurut Gagneux *et al.*, 1997 ; Garcia *et al.*, 1998 *null alel* lebih disebabkan karena kualitas atau kuantitas DNA hasil ekstraksi.

Pada lokus Prob 15§ terdapat satu sampel yang tidak menghasilkan alel DNA. Tidak adanya alel yang dihasilkan pada sampel tersebut kemungkinan karena kualitas DNA hasil ekstraksi yang tidak baik. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan hal tersebut seperti : kuantitas sumber DNA yang sedikit

serta kualitas DNA hasil ekstraksi dengan banyaknya kontaminan seperti protein yang dapat menurunkan kualitas DNA.

Untuk sampel lainnya pada lokus Prob 15§ menghasilkan panjang alel yang sama pada lokus tersebut. Hal tersebut menunjukkan bahwa alel yang ditemukan pada penelitian ini kemungkinan merupakan alel leluhur atau *ancestor* dari burung Kakatua Kecil Jambul Kuning. Dari alel yang bersifat *ancestor* biasanya akan menghasilkan variasi-variasi baru akibat kemampuan mutasi dari DNA mikrosatelit. Alel baru tersebut bisa berukuran lebih pendek ataupun lebih panjang dari alel *ancestor* tergantung dari arah mutasinya.

Rendahnya variasi alel yang ditemukan pada penelitian ini juga kemungkinan disebabkan oleh jumlah sampel yang sangat sedikit. Jumlah sampel akan sangat berpengaruh terhadap variasi yang mungkin ditemukan. Selain itu kemungkinan sampel dari penelitian ini berasal dari sumber yang sama di alam liar mengingat status konservasi burung ini yang Kritis / *Critically endangered* yang artinya sangat tidak mungkin menemukan burung ini dalam jumlah besar. Karena prinsip DNA mikrosatelit yang diwariskan dari generasi ke generasi maka dengan hubungan kekerabatan yang sangat dekat maka akan sangat sedikit ditemukan variasi dalam lokus yang digunakan dalam penelitian ini.

## **KESIMPULAN**

Keragaman genetik Kakatua Kecil Jambul Kuning (*Cacatua sulphurea*) yang ditemukan dalam penelitian ini sangat rendah karena hanya menemukan satu jenis alel.

## **SARAN**

Disarankan untuk penelitian selanjutnya menambah jumlah lokus dan sampel yang digunakan untuk melihat variasi genetik dalam skala yang lebih luas sehingga data yang ditemukan dapat digunakan sebagai upaya konservasi dikemudian hari untuk meningkatkan keanekaragaman genetik burung Kakatua Kecil Jambul Kuning (*Cacatua sulphurea*).

**DAFTAR PUSTAKA**

- Gagneux, P., C. Boesch., D.S. Woodruff. 1997. Microsatellite Scoring Errors Associated With Noninvasive Genotyping Based on Nuclear DNA Amplified from Shed Hair. *Mol Ecol* 6: 861–868.
- Garcia, F.J., M. Canonne., E. Quillet., F. Bonhomme., B. Chatain. 1998. The Application of Microsatellite Markers to Breeding Programmes in the Sea Bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 159: 303–316.
- Imansyah, M. J., D.G. Anggoro., N. Yangpatra., A. Hidayat., Y.J. Benu. 2005. Sebaran dan Karakteristik Pohon Sarang Kakatua Jambul Kuning (*Cacatua sulphurea parvula*) di Pulau Komodo, Taman Nasional Komodo. Available at : <https://www.yumpu.com>. Opened: 12.04.2014
- Junitha, I.K. 2007. Penggunaan DNA Mikrosatelit Untuk Penelusuran Kawitan Pada Soroh-Soroh Masyarakat Bali (Suatu Kajian Pustaka). Bali. *Jurnal Biologi XI (2)* : 50-54.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York. Columbia University Press.
- Pujo dan Mariana. 2007. Konservasi Ex Situ Burung Endemik Langka Melalui Penangkaran. Available at : [www.dephut.go.id/files/Pujo\\_Mariana.pdf](http://www.dephut.go.id/files/Pujo_Mariana.pdf) Opened: 12.04.2014
- Tegelström, H. 1986. Mitochondrial DNA in Natural Population: an improved routine for screening of genetic variation based on sensitive silver staining. *Electrophoresis* 7:226-229.
- Wattier, R., C.R. Engel., P. Saumitou-Laprade., M. Valero. 1998. Short Allele Dominance as a Source of Heterozygote Deficiency at Microsatellite Loci : Experimental Evidence at the Dinucleotide Locus Gv1CT in *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta). *Mol Ecol* 7: 1569–1573.