

**Diversitas Genetika dan Identifikasi Jenis Kelamin Burung Pelikan
(*Pelecanus conspicillatus* Temminck, 1824) di Penangkaran Taman Margasatwa
Ragunan Jakarta
[Genetic Diversity and Sex Identification of Pelicans (*Pelecanus conspicillatus*
Temminck, 1824) in the Captivity of Ragunan Zoo, Jakarta]**

**Anik Budhi Dharmayanthi^{1*}, Achmad Muchsinin², Afriana Pulungan², &
Moch Syamsul Arifin Zein^{1*}**

¹Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jl. Raya Jakarta-Bogor Km 46, Cibinong 16911

²Taman Margasatwa Ragunan, Jakarta, Jl. Harsono RM. No. 1, Ragunan, Pasar Minggu, Jakarta Selatan 12550

*Email : anik.budhi.dharmayanthi@gmail.com; zein_genetic@yahoo.com

Memasukkan: Februari 2021, **Diterima:** Mei 2021

ABSTRACT

Pelicans (*Pelecanus conspicillatus*) is one of the wild species that have a widely distribution. This bird has been successfully bred in Ragunan Zoo, Jakarta. The indicator of inbreeding in the captive population is shown by the decrease of nucleotide diversity and number of haplotypes. The result of genetic diversity analysis using D-loop fragment sequences showed low genetic diversity with nucleotide diversity (p) = 0.00064 ± 0.00010 and haplotype diversity (Hd) = 0.532 ± 0.061 in *Pelecanus conspicillatus* populations in the Ragunan Zoo. However, negative F_u 's F_s value (-3,246) indicates population expansion. We found that there were seven haplotypes in bird populations in the captivity: haplotype 1, 2 and 3 consist of 43 individuals (65.15%), five individuals (7.57%), and 14 individuals (21.21%), respectively. For each haplotype 4, 5, 6 and 7 is only represented by one individual of *Pelecanus conspicillatus* (1.51%). The sex ratio of males to females is 1: 8.86 with four males identified as haplotype 1, and one male on haplotypes 3, 5 and 7, respectively. Genetic diversity data of the population is an important way for designing long-term plans and goals in efforts to maintain genetic diversity of the *Pelecanus conspicillatus* population in captivity.

Keywords: *Pelecanus conspicillatus*, diversity, sex identification

ABSTRAK

Burung pelikan (*Pelecanus conspicillatus*) merupakan salah satu hidupan liar yang memiliki sebaran luas. Burung ini telah sukses berkembang biak di Taman Margasatwa Ragunan, Jakarta. Indikator terjadi perkawinan antar keluarga dekat (inbreeding) dalam populasi penangkaran ditunjukkan dengan menurunnya diversitas nukleotida dan jumlah haplotipe. Hasil analisis keragaman genetik dengan menggunakan sekuen fragment D-loop terhadap 66 *Pelecanus conspicillatus* di penangkaran Taman Margasatwa Ragunan menunjukkan keragaman genetik rendah (diversitas nukleotida (π)= $0,00064 \pm 0,00010$ dan diversitas haplotipe (Hd)= $0,532 \pm 0,061$). Nilai F_u 's F_s negatif (-3,246) merupakan indikator terjadinya ekspansi populasi. Populasi burung di penangkaran terdapat 7 haplotipe: haplotipe 1, 2 dan 3 masing-masing terdiri dari 43 ekor (65,15%), 5 ekor (7,57%) dan 14 ekor (21,21%), sedangkan haplotipe 4, 5, 6, dan 7 masing-masing ditemukan hanya 1 individu *Pelecanus conspicillatus* (1,51%). Rasio seksual jantan dan betina yaitu 1:8,86 dengan empat jantan teridentifikasi sebagai haplotipe 1, dan masing-masing satu jantan pada haplotipe 3, 5 dan 7. Data keragaman genetik dari populasi merupakan langkah awal penting untuk merancang rencana *breeding* dan tujuan jangka panjang dalam usaha menjaga keragaman genetik dari populasi *Pelecanus conspicillatus* di penangkaran.

Kata Kunci: *Pelecanus conspicillatus*, diversitas, identifikasi seksual

PENDAHULUAN

Burung pelikan Australia (*Pelecanus conspicillatus*) merupakan salah satu dari tujuh spesies pelican di dunia. Sebaran burung ini meliputi pedalaman dan pesisir perairan Australia, New Guinea, dan Indonesia bagian barat dan sesekali terlihat di New Zealand dan bagian barat kepulauan Pasifik (Voous 1962; Boles 1994). Burung pelikan didominasi warna putih dengan

sayap hitam dan paruh merah muda dan tercatat memiliki paruh terpanjang dari semua burung yang ada saat ini (Marchant dan Higgins, 1990). Di Indonesia sebaran burung pelikan meliputi Nusa tenggara, Sulawesi, Maluku, dan Papua. Spesies ini keberadaannya di wilayah Indonesia sebagai *Native Non Breeding* (BirdLife International 2020). Secara global, populasi dari semua spesies burung pelikan dipengaruhi oleh faktor-faktor utama yaitu menurunnya pasokan

ikan karena penangkapan yang berlebihan atau terjadi polusi air, perusakan habitat, dan efek langsung dari aktivitas manusia seperti gangguan pada koloni tempat bersarang, serta perburuan dan pemusnahan yang dilakukan manusia (Donald 2007).

Semua spesies burung pelikan berkembang biak dengan mudah di kebun binatang, yang berpotensi berguna untuk pengelolaan konservasi (Crivelli & Schreiber, 1984). Penangkaran hidupan liar secara *ex-situ* dapat menjadi faktor penting sebagai salah satu langkah pengawetan spesies. Lembaga konservasi seperti kebun binatang di beberapa lokasi di Indonesia banyak yang telah sukses melakukan penangkaran hidupan liar. Program konservasi *ex-situ* burung pelikan (*P. conspicillatus*) telah berhasil dilakukan di Taman Margasatwa Ragunan Jakarta. Langkah pertama adalah melakukan identifikasi jenis kelamin sebagai salah satu faktor penting dalam keberhasilan program konservasi *ex-situ*. Namun, terkadang tidak mudah untuk mengidentifikasi jenis kelamin dalam kelompok taksonomi tertentu. Pada burung dimorfik sangat mudah untuk membedakan antara jantan dan betina, tetapi banyak spesies burung tidak menunjukkan dimorfisme seksual. Pengukuran morfologis dan penentuan berdasar perilaku tidak selalu dapat diandalkan, hanya pada beberapa burung dewasa dapat digolongkan berdasarkan analisis morfometri dari hubungan kuantitatif antar jenis kelamin dan ukuran tubuh atau warna bulu. Namun demikian sebagian besar yaitu sekitar 60% spesies burung dewasa tidak memiliki dimorfisme seksual (Rudaya *et al.* 2020). Para peneliti telah banyak memberi informasi dalam identifikasi jenis kelamin burung berdasarkan ekologi dan perilaku (Helander *et al.* 2007), selain itu juga memberikan wawasan berharga tentang strategi pemuliaan, program konservasi, dan pengelolaan penangkaran (Helander *et al.* 2007; Garcia *et al.* 2009; Naim *et al.* 2011).

Saat ini identifikasi jenis kelamin dapat menggunakan teknik DNA molekuler. Gen *Chromodomain helicase DNA binding* (CHD) telah berhasil diaplikasikan pada spesies burung di penangkaran (Ito *et al.* 2003; Sacchi *et al.* 2004; Lee *et al.* 2007, 2010; Cakmak *et al.* 2017. Purwaningrum *et al.* 2019; Osman *et al.*

2020). Disain primer 2550F/2718R memiliki target di dua area ekson diantara intron karena memiliki urutan basa nitrogen yang mirip pada banyak spesies dibandingkan dengan disain primer lain (Fridolfsson & Ellegren 1999). Hasil identifikasi jenis kelamin akan sangat mendukung program penangkaran sehingga dapat ditentukan *sex ratio* yang optimal pada setiap kandang.

Selanjutnya, penelitian terkait keragaman genetik burung-burung Indonesia belum banyak diketahui atau hanya dilakukan pada beberapa jenis seperti burung Kakatua Putih (*Cacatua alba* dan *C. moluccensis*) (Astuti 2011), Pijantung Kecil (*Arachnothera longirostra*) (Priyono dkk 2017), Betet Jawa (*Psittacula alexandri alexandri*) (Astute 2017). Oleh sebab itu informasi keragaman genetik hidupan liar lainnya terutama yang potensial menjadi burung yang di tangkarkan secara *ex-situ* perlu diperhatikan. Populasi kecil dalam penangkaran akan memicu terjadi perkawinan antar kerabat dekat yang mengakibatkan terjadi penurunan keragaman genetik. Indikator terjadi silang dalam (*inbreeding*) dalam populasi ditunjukkan dengan menurunnya diversitas nukleotida dan haplotipe (Jiang *et al.* 2005). Keragaman genetik menjadi topik penting dalam kegiatan konservasi (Avisé 1994), oleh sebab itu data keragaman nukleotida dan haplotipe menjadi keharusan dalam usaha pemanfaatan hidupan liar secara berkelanjutan. Data awal keragaman genetik merupakan langkah penting membuat rencana *breeding* dan tujuan jangka panjang, yaitu menjaga keragaman genetik dari populasi dalam penangkaran (Li *et al.* 2008). Hal ini dalam usaha mempertahankan persistensi jangka panjang burung pelikan dalam penangkaran *ex-situ*.

Pada penelitian ini akan dilakukan identifikasi jenis kelamin dengan teknik DNA molekuler dengan menggunakan primer 2550F/2718R dan analisis keragaman sekuen D-loop DNA mitokondria untuk mengetahui keragaman genetika terhadap populasi burung pelikan di penangkaran *ex-situ* Taman Margasatwa Ragunan, Jakarta. Hal ini bertujuan agar dapat dilakukan program penangkaran burung pelikan secara terarah untuk meningkatkan diversitas genetika dari populasi pelikan di penangkaran *ex-situ*. Variasi genetik tinggi dari suatu populasi merupakan dasar baik untuk pengembangan penangkaran burung pelikan secara berkelanjutan. Peningkatan hasil penangkaran pelikan sangat mungkin dilakukan dan dibutuhkan untuk

keperluan konservasi atau pemanfaatan yang berkelanjutan. Berbagai faktor keragaman genetik harus dipertimbangkan agar penangkaran burung pelikan secara *ex-situ* dapat dilakukan lebih baik.

BAHAN DAN CARA KERJA

Sebanyak 69 individu burung pelikan digunakan dalam penelitian ini dari penangkaran *ex-situ* Taman Margasatwa Ragunan. Burung dipelihara di kandang penangkaran yang dibuat secara terbuka dilengkapi dengan kolam tempat bermain, sehingga memungkinkan setiap individu mencari pasangannya sendiri di waktu musim kawin. Material genetik berupa darah diawetkan dengan menggunakan alkohol absolut 96% (*pure grade*). Setiap individu diperiksa kode *microchip* sebelum diambil darah yang akan digunakan sebagai material DNA yang akan dianalisis. Ekstraksi DNA dilakukan dengan metoda Fenol-Chloroform (Sambrook *et al.* 1989). Genomik DNA kemudian digunakan untuk identifikasi jenis kelamin dan amplifikasi fragment D-loop DNA mitokondria.

Identifikasi jenis kelamin terhadap 69 burung pelikan dilakukan dengan menggunakan sepasang primer 2550F (5'-GTT ACT GAT TCG TCT ACG AGA-3') dan 2718R (5'-ATT GAA ATG ATC CAG TGC TTG- 3') (Fridolfsson & Ellegren 1999). Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 15 µl dimana reaksi akhir mengandung 0,2 mM dNTP, 0,3 pmol dari masing-masing primer, 2,5 mM MgCl₂, 0,5 Unit Taq DNA polimerase (10 mM Tris-HCl pH 8,3 dan 50 mM KCl), dan 0,3 mg/ml BSA. Tips filter merek Extragen digunakan pada proses pencampuran reaksi. Reaksi PCR dilakukan pada mesin *Thermocycler Gene Amp*system* PCR 9700 (*Applied Biosystem*, USA). Kondisi PCR diawali dengan denaturasi awal pada suhu 94°C selama 5 menit, kemudian 30 siklus dengan denaturasi selama 45 detik pada 94°C, *annealing* selama 45 detik pada 46°C, dan ekstensi selama 90 detik pada 72°C. Ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit. Produk PCR dipisahkan oleh elektroforesis gel agarosa 2% dengan bufer TAE. Pewarnaan dengan menggunakan *gelred* dan marker 100 bp sebagai penanda ukuran secara berurutan untuk mengidentifikasi pita Z dan W yang berhasil

diampifikasi. Hasil elektroforesis kemudian dilihat menggunakan *ultraviolet (UV) trans-illuminator*. Pola pita yang khas digunakan untuk mengidentifikasi jenis kelamin burung yang diperiksa dengan membandingkan kontrol jantan dan betina.

Amplifikasi target D-loop DNA mitokondria menggunakan primer TgLu-70F (CAT ATA CAT TAC ATC CAT TC) dan Cytb-R (GGT GAA GTA GCT GAG GGA GGC TAA TTG) (Geary *et al.* 2017), campuran PCR yaitu sampel DNA 40ng, KOD One 2x (Toyobo), 0,75ml primer TgLu-70F/Cytb-R masing-masing 10pmol dalam total volume 25mL. Kondisi PCR: denaturasi 94°C selama 1 menit, *annealing* 50°C selama 90 detik, ekstensi 72°C selama 90 detik sebanyak 5 siklus dilanjutkan dengan denaturasi 94°C selama 1 menit, *annealing* 56°C selama 90 detik, ekstensi 72°C selama 90 detik sebanyak 35 siklus, *elongasi* akhir pada 72°C selama 5 menit. PCR kemudian di sekuen menggunakan jasa layanan sekuen 1stbase, Singapura. Sekuen D-loop DNA mitokondria dengan panjang fragmen 1007 bp, kemudian dilakukan *editing* dan disejajarkan dengan menggunakan perangkat lunak Geneious Prime 2021.1.1 (<https://www.geneious.com>). Polimorfisme DNA meliputi diversitas haplotipe (Hd) dan diversitas nukleotida (Pi), serta uji Fu dan Li (1993), uji TAJIMA (1989) dilakukan menggunakan DnaSP versi 6 (Rozas *et al.* 2017). Pohon filogenetik dikonstruksi berdasarkan metode *neighbour joining* dengan *bootstrap* 1000 menggunakan MEGA 7.0.

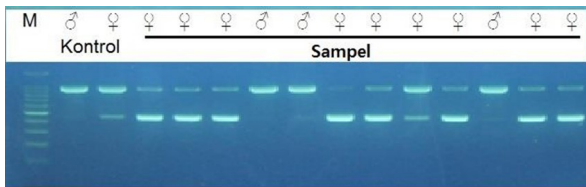
HASIL

Identifikasi Jenis Kelamin

Amplifikasi sepasang primer 2550F dan 2718R (Fridolfsson & Ellegren 1999) telah berhasil dilakukan terhadap burung pelikan (*P. conspicillatus*). Visualisasi hasil amplifikasi gen *Chromodomain helicase DNA binding* (CHD) pada kromosom Z dan kromosom W dan di elektroforesis dengan 2% gel agarose (M=Marker 100, satu pita = ♂ dan dua pita = ♀) dapat dilihat jelas pada Gambar 1. Hasil identifikasi jenis kelamin dapat dilihat secara lengkap pada Tabel 1. Identifikasi jenis kelamin pada 69 burung pelikan dalam penangkaran *ex-situ* di Taman Margasatwa Ragunan, Jakarta, menunjukkan 7

individu sebagai jantan dan 62 individu burung lainnya berjenis kelamin betina (Tabel 1). Hasil tersebut menunjukkan bahwa perbandingan jantan dan betina burung pelikan di penangkaran *ex-situ* Taman Marga Satwa Ragunan adalah 1:8,86.

Keragaman Genetik



Gambar 1. Visualisasi hasil amplifikasi gen *Chromodomain helicase DNA binding* (CHD) pada kromosom Z dan kromosom W dengan 2% gel agarose (M=Marker 100bp, satu pita = ♂ dan dua pita = ♀).

Enam puluh enam dari 69 sampel berhasil teramplifikasi oleh pasangan primer TgLu-70F dan Cytb-R. Analisis genetik 66 sekuen fragmen D-loop DNA mitokondria burung pelikan menunjukkan terdapat 6 situs variabel dan kombinasi dari sekuen tersebut menghasilkan 7 haplotipe yang berbeda (Tabel 2). Mayoritas haplotipe burung pelikan yang dianalisis adalah haplotipe 1 dengan prosentase sebesar 65,5% dari total sampel, haplotipe 2 dan 3 masing-masing sebanyak 21,21% dan 7,57%, sedangkan haplotipe 4, 5, 6 dan 7 hanya dimiliki 1,51% dari populasi burung pelikan (Table 2). Analisa diversitas nukleotida $0,00064 \pm 0,00010$ dan diversitas haplotipe $0,532 \pm 0,061$. Hasil tes netralitas, yaitu Tajima's D $-1,17728$ (*Not significant*, $P > 0.10$) dan *Fu's Fs* $-3,246$.

Tabel 1. Hasil identifikasi jenis kelamin setiap individu burung pelikan (*P. conspicillatus*)

No	Kode microchip	Jenis Kelamin	No	Kode microchip	Jenis Kelamin
1	99000000080422	Betina	36	99000000080534	Betina
2	99000000080434	Betina	37	99000000080535	Betina
3	99000000080437	Betina	38	99000000080536	Betina
4	99000000080461	Betina	39	99000000080537	Betina
5	99000000080462	Betina	40	99000000080538	Betina
6	99000000080463	Jantan	41	99000000080539	Betina
7	99000000080464	Betina	42	99000000080540	Betina
8	99000000080466	Jantan	43	99000000080541	Betina
9	99000000080467	Betina	44	99000000080542	Betina
10	99000000080468	Jantan	45	99000000080543	Betina
11	99000000080469	Betina	46	99000000080544	Betina
12	99000000080470	Betina	47	99000000080545	Betina
13	99000000080471	Jantan	48	99000000080546	Betina
14	99000000080472	Betina	49	99000000080547	Betina
15	99000000080473	Jantan	50	99000000080548	Betina
16	99000000080474	Betina	51	99000000080549	Betina
17	99000000080475	Betina	52	99000000080550	Betina
18	99000000080476	Jantan	53	99000000080551	Betina
19	99000000080477	Betina	54	99000000080552	Betina
20	99000000080478	Betina	55	99000000080553	Betina
21	99000000080479	Betina	56	99000000080554	Betina
22	99000000080480	Betina	57	99000000080555	Betina
23	99000000080521	Betina	58	99000000080556	Betina
24	99000000080522	Betina	59	99000000080557	Betina
25	99000000080523	Betina	60	99000000080558	Betina
26	99000000080524	Betina	61	99000000080559	Betina
27	99000000080525	Betina	62	99000000080560	Betina
28	99000000080526	Betina	63	985120018262238	Jantan
29	99000000080527	Betina	64	985120028844780	Betina
30	99000000080528	Betina	65	985120027718491	Betina
31	99000000080529	Betina	66	985120027742703	Betina
32	99000000080530	Betina	67	985120028917643	Betina
33	99000000080531	Betina	68	9851200278846406	Betina
34	99000000080532	Betina	69	9851200278842438	Betina
35	99000000080533	Betina			

PEMBAHASAN

Identifikasi jenis kelamin pada tahap awal perkembangan hidupan liar di dalam penangkaran *ex situ* sangat diperlukan agar individu jantan dan betina dapat diketahui saat dilakukan pembiakan. Kesalahan dalam menentukan jenis kelamin seringkali berakibat gagal burung berkembang biak di penangkaran (Zhang *et al.* 2012), selanjutnya dikatakan keseimbangan rasio jenis kelamin dalam populasi kecil memainkan peran penting dalam pelestarian spesies terutama yang terancam punah (Wysocki 2006; Dybus *et al.* 2009).

Teknik *polymerase chain reaction* (PCR) dapat dilakukan terutama jika spesies burung tidak memiliki dimorfisme seksual, ciri morfometrik, dan perilaku jantan dan betina tidak jelas. Dalam konteks ini, jenis kelamin dapat ditentukan berdasarkan hasil amplifikasi PCR gen *Chromodomain helicase DNA binding* (CHD) (Ellegren 1996; Griffiths *et al.* 1996).

Perbandingan efektivitas primer 2550F/2718R (Fridolfsson & Ellegren 1999) dan P2/P8 (Griffiths *et al.* 1998) untuk determinasi seksual telah dilakukan terhadap 259 ekor berbagai jenis burung Indonesia. Hasil determinasi Primer P2/P8 (81,8%) dan primer 2550F/2718R (100%) (Sulandari & Zein 2012), hal ini juga dilaporkan Khaerunisa *et al.* (2013). Penentuan jenis kelamin burung menggunakan metode Griffiths *et al.* (1998) dan Fridolfsson dan Ellegren (1999) dapat dilakukan dengan teknik PCR yang sederhana. Namun dikatakan metode Griffiths *et al.* (1998) terbukti juga dapat diandalkan sehubungan dengan sebagian besar spesies unggas yang diteliti (Mataragka *et al.* 2020). Selanjutnya dikatakan, saat menguji untuk pertama kalinya suatu spesies burung perlu dilakukan kajian pendahuluan yang akan mencakup kalibrasi metode dan penerapan pada sampel kontrol sangat disarankan sebelum memilih metode yang akan digunakan (Mataragka *et al.* 2020).

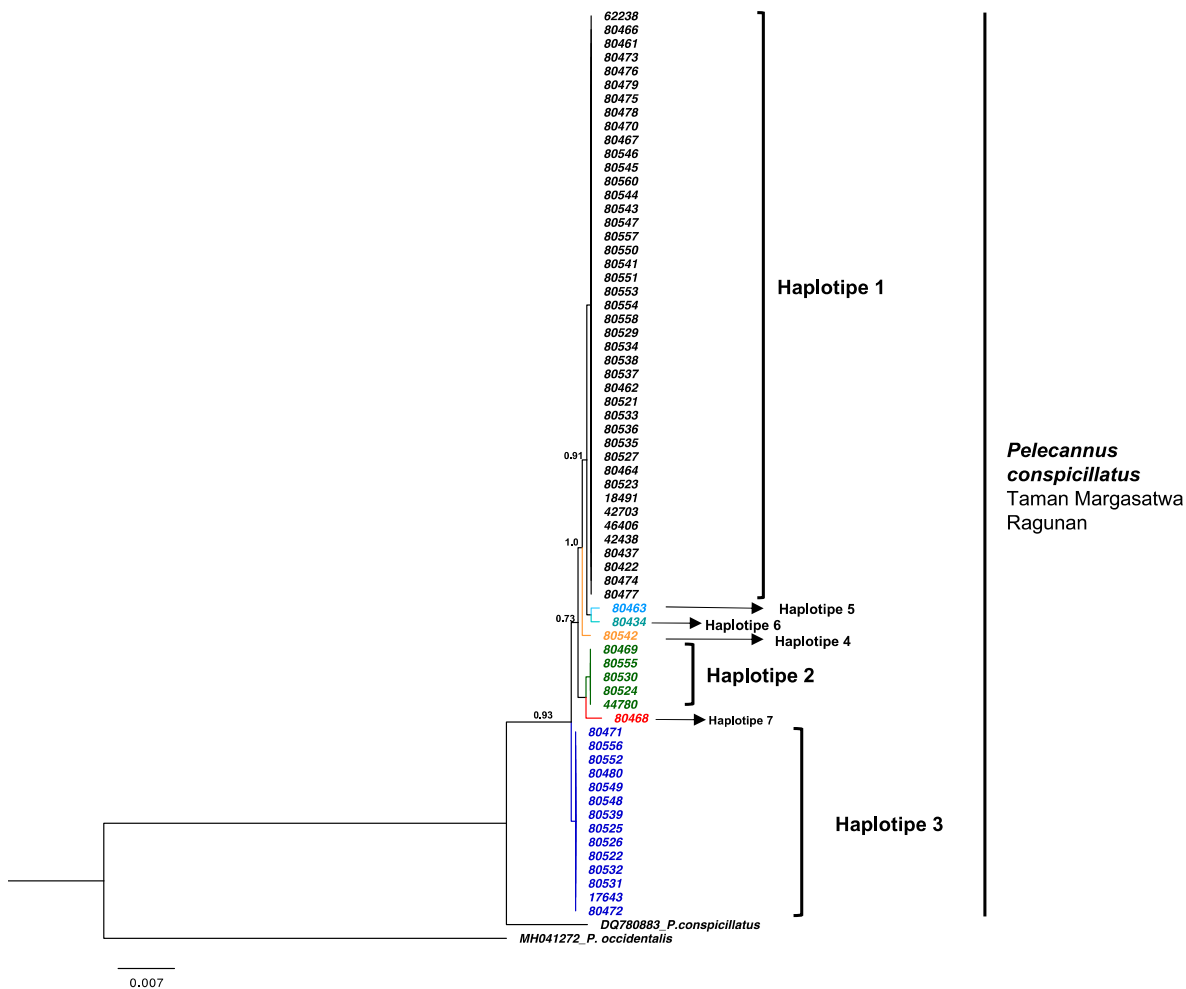
Tabel 2. Situs variasi dari 66 individu burung pelican meliputi haplotipe, kode sampel, persentase haplotipe, jumlah individu jantan, dan posisi nukleotida.

Haplotipe	Kode sampel	Jumlah individu	Jumlah individu jantan	Posisi nukleotida					
				36	184	521	530	537	815
Haplotipe 1	80470, 62238, 80466, 80461, 80473, 80476, 80479, 80475, 80478, 80467, 80546, 80545, 80560, 80544, 80543, 80547, 80557, 80550, 80541, 80551, 80553, 80554, 80558, 80529, 80534, 80538, 80537, 80462, 80521, 80533, 80536, 80535, 80527, 80464, 80523, 18491, 42703, 46406, 42438, 80437, 80422, 80474, 80477	43 (65.5%)*	4	C	G	T	G	C	A
Haplotipe 2	80469, 80555, 80530, 80524, 44780	5 (7.57%)*	-	.	.	C	.	.	.
Haplotipe 3	80471, 80556, 80552, 80480, 80549, 80548, 80539, 80525, 80526, 80522, 80532, 80531, 17643, 80472	14 (21.21%)*	1	.	.	.	A	.	.
Haplotipe 4	80542	1 (1.51%)*	-	T
Haplotipe 5	80463	1 (1.51%)*	1	G
Haplotipe 6	80434	1 (1.51%)*	-	T	.
Haplotipe 7	80468	1 (1.51%)*	1	.	A	C	A	.	.

*: prosentase haplotipe pada total populasi

Tabel 3. Diversitas genetik burung Pelican (*Pelecanus conspicillatus*) dalam penangkaran di Taman Margasatwa Ragunan

Jumlah Individu	Jumlah Haplotipe	Rata-rata jarak genetik (%)	Diversitas haplotipe	Diversitas Nukleotida (%)	Tajima'sD (p)	Fu's Fs (p)
66	7	0.0642	0,532±0,061	0,064±0,010	-1,17728 (>0.01)	- 3,246 (<0.05)



Gambar 1. Pohon *Neighbor Joining* 66 burung Pelican (*Pelecanus conspicillatus*) berbasis D-loop DNA mitokondria. Haplotipe dipresentasikan pada pohon phylo tree dengan warna berbeda; haplotipe 1 (hitam), haplotipe 2 (hijau), haplotipe 3(biru), haplotipe 4 (orange), haplotipe 5 (biru muda), haplotipe 6 (biru muda), haplotipe 7 (merah).

Di alam burung pelikan suka berteman dan hidup secara berkelompok, serta bersifat monogami selama satu musim kawin. Burung jantan dan betina dapat menyelesaikan proses pendekatan dan ikatan pasangan hanya dalam satu hari (Nelson *et al.* 2003). Informasi ini merupakan bagian penting dalam proses reproduksi dalam usaha melestarikan burung pelican di dalam penangkaran yang dilakukan secara terbuka dimana jantan dan betina saling dapat mencari pasangannya sendiri. Lebih lanjut dikatakan keseimbangan rasio jenis kelamin dalam populasi kecil memainkan peran penting dalam pelestarian spesies terutama yang terancam punah (Wysocki, 2006; Dybus *et al.*, 2009). Pada semua spesies kopulasi terjadi di lokasi sarang, dimulai segera setelah berpasangan dan berlanjut selama 3–10 hari sebelum bertelur. Jantan membawa bahan sarang dan

betina kemudian menumpuk material untuk membentuk struktur sederhana (Nelson *et al.* 2003). Oleh sebab itu sangat penting identifikasi jenis kelamin dapat segera ditentukan terutama pada burung pelikan yang sudah mencapai usia dewasa dan siap memilih pasangannya di saat musim kawin. Jika dilihat dari sex ratio yang ada maka perlu dibuat keseimbangan jantan dan betina sehingga memungkinkan di saat musim kawin masing masing individu dapat melakukan proses reproduksi. Namun demikian perlu dipertimbangkan kapasitas kandang penangkaran yang tersedia. Keberhasilan pemuliaan secara keseluruhan sangat bervariasi. Usia maksimum pelikan Australia (*P. conspicillatus*) yang tercatat adalah 15 tahun (Johnston *et al.* 2015)

Data Variabilitas genetik burung pelikan yang ditangkap di Taman Margasatwa Ragunan dapat digunakan sebagai dasar melakukan

perkawinan antara individu jantan dan betina. Hasil analisis genetik menggunakan D-Loop DNA mitokondria, terdapat 6 situs variabel dan 7 haplotipe, sedangkan diversitas haplotipe (Hd) $0,532 \pm 0,061$ dan diversitas nukleotida (pi) $0,00064 \pm 0,00010$. Nilai Hd dan pi pada populasi burung pelikan ini lebih kecil dibandingkan nilai Hd dan pi pada populasi burung *waterbird* di Brazilian Pantanal sebesar Hd: $0,753 \pm 0,071$ dan pi: $0,0040 \pm 0,002$ (Lopes *et al.* 2007). Hasil uji netralitas TAJIMA menunjukkan nilai negatif (-1,17728) dan uji Fu dan Li menunjukkan nilai negatif (-3,246) dan berbeda sangat nyata $P < 0,05$ pada jarak genetik diantara individu populasi burung pelikan. Menurut SIMONSEN *et al.* (1995), dikatakan Uji Fu dan Li sedikit lebih sensitif dibanding uji TAJIMA. Nilai Fu's Fs negatif (-3,246) dan menunjukkan nilai signifikan berbeda dari 0 merupakan indikator terjadinya populasi ekspansi yang baru terjadi atau adanya pemurnian seleksi. Nilai ini juga didukung oleh data haplotipe yang menunjukkan haplotipe umum yang ada pada populasi burung pelikan. Dari data tersebut sekuen hanya haplotipe 1 yang dominan, yaitu 65,15%, kemudian diikuti haplotipe 3 (21,21%), dan haplotipe 2 (7,57%). Hal ini merupakan sinyal diperlukan introduksi lebih awal individu baru berupa burung jantan dan/atau betina dari populasi yang tidak mempunyai hubungan keluarga. Pada umumnya dilakukan pertukaran antar kebun binatang yang ada di Indonesia atau di luar Indonesia. Program pertukaran harus dilakukan berdasarkan kajian kesehatan untuk menjamin populasi yang ada tidak terganggu dengan masuknya individu baru. Individu dari haplotipe yang dominan dapat digunakan sebagai individu yang dipertukarkan. Cara ini diharapkan menghasilkan keturunan yang lebih bervariasi untuk menghindari sistem perkawinan keluarga (*brother-sister mating*).

Beberapa bukti menunjukkan ada korelasi antara penurunan keragaman genetik dan kemampuan bertahan hidup atau performa individu seperti masalah reproduksi dan daya tahan terhadap penyakit (Frankham *et al.* 2010). *Inbreeding* dan penurunan keragaman genetik dalam populasi kecil memang sulit dihindari. Namun, teknik molekuler dapat memberikan solusi yang lebih baik dan akurat yakni

informasi keragaman genetik digunakan sebagai dasar perkawinan antar individu yang tersedia. Hasil penelitian yang dilakukan Jiang *et al.* (2005) menunjukkan diversitas dan haplotipe pada hidupan liar burung *Syrmaticus ellioti* ternyata lebih tinggi daripada individu yang ditangkap. Oleh sebab itu perlu dilakukan pengelolaan penangkaran secara terarah berbasis data keragaman genetik dari individu jantan dan betina, sehingga dapat diatur program reproduksi agar dapat menghasilkan keturunan dengan variasi genetik yang lebih baik.

KESIMPULAN

Studi analisis genetik menggunakan D-Loop DNA mitokondria mendapatkan nilai diversitas haplotipe (Hd) $0,532 \pm 0,061$ dan diversitas nukleotida (pi) $0,00064 \pm 0,00010$ pada populasi burung pelikan di Taman Margasatwa Ragunan.

Perlu dilakukan introduksi individu baru yang tidak mempunyai hubungan keluarga jantan dan atau betina. Individu dari haplotipe 1 yang dominan di dalam populasi dapat digunakan untuk program pertukaran antar kebun binatang atau penangkaran.

KONTRIBUSI PENULIS

ABD dan MSAZ merupakan kontributor utama, berperan melakukan penelitian, penulisan dan analisis data. AM dan AP bertugas membantu kegiatan penelitian.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih pada saudari Rini Nuraeni yang merupakan teknisi Laboratorium Genetika, Pusat Penelitian Biologi-LIPI dan semua karyawan di Taman Margasatwa Ragunan, Jakarta yang ikut melakukan pengambilan sampel darah. Penelitian ini sebagian dibiayai dari dana proyek DIPA DNA Barcoding, IPH-LIPI 2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, D. 2011. Variasi gen mitokondria *Cytochrome b* pada dua jenis burung kakatua putih (*Cacatua alba* dan *C. moluccensis*). *Jurnal Biologi Indonesia* 7

- (2): 263-276.
- Astuti, D. 2017. Struktur genetik populasi burung Betet Jawa (*Psittacula alexandri alexandri*) berdasarkan sekuen DNA mitokondria gen ND2. *Jurnal Biologi Indonesia* 13 (2): 117 - 125.
- Avise, JC. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-2381-9>.
- BirdLife International. 2020. Species factsheet *Pelecanus conspicillatus*. Downloaded from <http://www.birdlife.org> on 19/12/2020.
- Boles, WE. 1994. *Pelicans. Australian Natural History*. 24: 36–45.
- Barros Tb., RE. Fraga, CN. Ramos, L. Tomazi 2017. Improvement of the Molecular Sexing of Parrots in the State of Bahia *Acta Biologica Paranaense Curitiba*. 46 (3-4): 89-107.
- Çakmak E, AP. Çiğdem, & C. Can Bilgin. 2017 Comparison of three different primer sets for sexing birds. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 29(1): 59–63. <https://doi.org/10.1177/1040638716675197jvdi.sagepub.com>.
- Crivelli, AJ., RW. Schreiber. 1984. Status of the Pelecanidae. *Biological Conservation* 30 (2):147-156. ISSN 0006-3207. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(84\)90063-6](https://doi.org/10.1016/0006-3207(84)90063-6).
- Donald, PF. 2007. Review Adult sex ratios in wild bird populations. *Ibis* 149:671–692.
- Dybus, A., A. Siemierz, D. Wysocki, I. Szatkowska, M. Muszyńska & S. Guenzel. 2010. Evaluation of the applicability of polymerase chain reaction (PCR) to sex identification in Eurasian blackbirds (*Turdus merula*). *Biological letters*. 46 (1):15-20. <https://doi.org/10.2478/v10120-009-0009-x>.
- Frankham, R., JD. Ballou, & DA. Briscoe. 2010. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Fridolfsson, A. & H. Ellegren. 1999. A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal Avian Biology*. 30:116-121. <http://dx.doi.org/10.2307/3677252>.
- Fu, YX. & WH. Li. 1993. Statistical test of neutrality of mutation. *Genetics* 133:693-709.
- Garcia, CB., JA. Insausti, JA. Gil, A. de Frutos. 2009. Comparison of different procedures of DNA analysis for sex identification in the endangered bearded vulture (*Gypaetus barbatus*). *European Journal of Wildlife Research* 55:309-312.
- Geary, B., SM. Longest, K. Ottewell, SM. Lantz, ST. Walter, J. Karubian. Leberg, PL. 2017. Genetic structure of brown pelicans (*Pelecanus occidentalis*) in the northern gulf of Mexico in the context of human management and disturbance. *PLoS one* 12(10),e0185309. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185309>
- Grant, A. 2001. DNA sexing of brown kiwi (*Apteryx mantelli*) from feather samples DOC. *Science Internal Series*. Wellington: Department of Conservation.
- Helander, B., F. Hailer, & C. Vila. 2007. Morphological and genetic sex identification of white-tailed eagle *Haliaeetus albicilla* nestings. *Journal Ornithology*. 148:435-442.
- Ito, H., A. Sudo-Yamaji, M. Abe, T. Murase, T. Tsubota. 2003. Sex identification by alternative polymerase chain reaction methods in Falconiformes. *Zoology Science*. 20:339-344. <http://dx.doi.org/10.2108/zsj.20.339>.
- Jiang, PP., QL. Lang, SG. Fang, P. Ding, & LM. Chen. 2005. A genetic diversity comparison between captive individuals and wild individuals of Elliot's Pheasant (*Syrnaticus ellioti*) using mitochondrial DNA. *Journal of Zhejiang University SCIENCE* 6B (5):413-417.
- Johnston, GR., MH. Waterman, & CE. Manning. 2015. Movement and mortality of Australian pelicans (*Pelecanus conspicillatus*) banded at inland and coastal breeding sites in South Australia. *Pacific Conservation Biology* 21, 271-276. <https://doi.org/10.1071/PC14925>.
- Khaerunisa I., E. Sari, M. Ulfah, Jakaria & C. Sumantri. 2013. Avian sex determination based on chromo-helicase DNA binding (CHD) genes using polymerase chain reaction (PCR). *Media Peternakan* 36 (2):85-90.

- Kumar, Stecher & Tamura. 2015. Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets.
- Lee, JCI, LC. Tsai, PY. Hwa, CL. Chan, A. Huang, ASC. Chin, LC. Wang, JT. Lin, A. Linacre, & HM. Hsieh. 2010. A novel strategy for avian species and gender identification using the CHD gene. *Molecular Cell Probes* 24:27-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcp.2009.08.003>.
- Lee, JCI., LC. Tsai, YY. Kuan, WH. Chien, KT. Chan, CH. Wu, A. Linacre, & HM. Hsieh. 2007. Racing pigeon identification using STR and chromo-helicase DNA binding gene markers. *Electrophoresis* 28:4274-4281. <http://dx.doi.org/10.1002/elps.200700063>.
- Li, JY., H. Chen, XY. Lan, XJ. Kong, & LJ. Min. 2008. Genetic diversity of five Chinese goat breeds assessed by microsatellite marker. *Czech Journal Animal Sciences* 53 (8):315- 319.
- Lopes, IF., CI. Miño & SN. Del Lama. 2007. Genetic diversity and evidence of recent demographic expansion in waterbird populations from the Brazilian Pantanal. *Brazilian Journal Biology*. 67(4) (Suppl.): 849-857.
- Marchant, S. & PJ. Higgins. 1990. *Handbook of Australian, New Zealand & Antarctic Birds*. Volume 1, Ratites to ducks; Part B, Australian pelican to ducks. Melbourne, Oxford University Press. 737-747; plate 54.
- Mataragka, A., C. Balaskas, K. Sotirakoglou, & J. Ikonomopoulos. 2020. Comparative evaluation of the performance of the PCR assays commonly used for the determination of sex in avian species. *Journal of King Saud University-Science*. 32(1): 228-234. <https://doi.org/10.1016/j.jksus>.
- Moritz. C., WJ. Worthington, & L. Pope. 1996. Applications of genetics to the conservation and management of Australian fauna: four case studies from Queensland. In: Smith TB, Wayne RK (eds). *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. Oxford University Press. Oxford. 442-456.
- Naim DM, Nor SAM, Baharuddin MH. 2011. Non-invasive sex identification of the white-bellied sea eagle (*Haliaeetus leucogaster*) through genetic analysis of feathers. *Genetic Molecular Research* 10:2505-2510.
- Nelson, JB, Schreiber, EA, Schreiber RW. 2003. Pelicans. In Perrins, C(ed.). *Firefly Encyclopedia of Birds*. Richmond Hill, Ontario: Firefly Books. pp. 78–81. doi: 10.14202/vetworld. 2019.1506-1513
- Osman MA, S. Sugnaseelan, JM. Panandam, NI. Ab Ghani. Molecular sex identification of Malaysian White-Nest Swiftlet (*Aerodramus fuciphagus* Thunberg, 1812). 2020. Ecology and Evolution. 10:10440–10448. <https://doi.org/10.1002/ece3.6699>. doi: 10.14202/vetworld.2019.1506-1513.
- Purwaningrum M, HA. Nugroho, M. Asvan, K Karyanti, B. Alviyanto, R. Kusuma, & A. Haryanto. 2019. Molecular techniques for sex identification of captive birds, *Veterinary World*. 12(9): 1506-1513.
- Prijono, SN. M. Irham, & D. Astuti 2017. Divergensi DNA Mitokondria pada Burung Pijantung Kecil (*Arachnothera longirostra*) dari Indonesia. *Jurnal Biologi Indonesia* 13 (2): 203-212.
- Rozas, J., A. Ferrer-Mata, JC. Sánchez-DelBarrio, S. Guirao-Rico, P. Librado, SE. Ramos-Onsins, A. Sánchez-Gracia. 2017. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology Evolution* 34:3299-3302. DOI: 10.1093/molbev/msx248.
- Rudaya, SV., OO. Katerynych, MV. Drahulian, AB. Chaplygina & OY. Pakhomov. 2020. Sex identification of different species of wild birds using a single universal protocol to the bird sexing method based on gene polymorphism. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 11(3): 399–404. doi:10.15421/022061.
- Sacchi, P., D. Soglia, S. Maione, G. Meneguz, M. Campora, R. Rasero. 2004. A non-invasive test for sex identification in short-toed Eagle (*Circus gallicus*). *Molecular and Cellular Probes* 18:193-196. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcp.2004.01.002>.

- Sambrook, J., Fritsch, E. F. & Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Volume 1-3 second edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
- Sulandari, S. & MSA. Zein. 2012. Application of two molecular sexing methods for Indonesian bird species: implication for captive breeding programs in Indonesia. *Hayati Journal Bioscience*. 19(4):183-190.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*. 123(3):585-595.
- Voous, KH. 1962. Australian Pelican recorded in Indonesia. *Emu*: 67: 124.
- Wysocki, D. 2006. Factors Affecting the Between-Season Divorce Rate in the Urban Populations of the European Blackbird *Turdus merula* in North-Western Poland. *Acta Ornithologica* 41(1):71-78. <https://doi.org/10.3161/068.041.0101>.
- Yun-Xin, FU. 1997. Statistical Tests of Neutrality of Mutations Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection. *Genetics*. 147: 915-925.
- Zhang, P., H. Jiabo, L. Quansheng, Z. Junxin, & Z. Xianfeng. 2013. Sex Identification of Four Penguin Species Using Locus-Specific PCR. *Zoology Biology*. 32:257-261. <https://doi.org/10.1002/zoo.21005>.