



**PROFILING GENETIK BURUNG MALEO SENKAWOR
(*Macrocephalon maleo* Sal. Muller 1846) MENGGUNAKAN
MARKA DNA MITOKONDRIA DAN IDENTIFIKASI JENIS
KELAMINNYA BERDASARKAN MOLEKULAR SEXING**

ABDUL SAMAD



**PROGRAM STUDI BIOSAINS HEWAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2023**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mempublikasikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi dengan judul “Profiling Genetik Burung Maleo Senkawor (*Macrocephalon maleo* sal. Muller 1846) Menggunakan Marka DNA Mitokondria dan Identifikasi Jenis Kelaminnya Berdasarkan Molekular Sexing” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Januari 2023

Abdul Samad
G362160021

RINGKASAN

ABDUL SAMAD. Profiling Genetik Burung Maleo Senkawor (*Macrocephalon maleo* Sal. Muller 1846) Menggunakan Marka DNA Mitokondria dan Identifikasi Jenis Kelaminnya Berdasarkan Molekular Sexing. Dibimbing oleh DEDY DURYADI SOLIHIN, CECE SUMANTRI dan BAMBANG PURWANTARA.

Sulawesi merupakan pulau terbesar di *hotspot* keanekaragaman hayati Wallacea yang dihuni oleh beragam fauna endemik namun kelimpahan populasinya banyak berkurang. Proses pembentukan pulau ini rumit dan kompleks karena melalui berbagai peristiwa geologi sehingga diyakini proses ini berperan pada hadirnya fauna yang tidak dijumpai dibelahan dunia manapun. Sulawesi dibentuk dari berbagai *terran* (kerak benua) yang datang dari berbagai arah lalu kemudian terjadi tubrukan.

Salah satu kekayaan hayati Pulau Sulawesi yang menarik untuk diteliti terkait eksistensi dan asal-usulnya di pulau ini yaitu burung Maleo Senkawor (*Macrocephalon maleo*). Saat ini, data molekuler berbagai taksa yang ada di Sulawesi telah tersedia. Namun khususnya pada spesies *M. maleo*, data molekulernya yang membahas tentang perkiraan waktu divergensi dan dikombinasikan dengan peristiwa geologi untuk mengungkap kehadiran awalnya di Sulawesi belum pernah dilakukan. Kehadiran *M. maleo* di Sulawesi diduga terikat langsung dengan leluhur Megapoda yang ada di Australia.

Burung *M. maleo* memiliki sebaran geografis yang luas di Sulawesi, diantaranya Sulawesi Utara, Tengah, dan Tenggara. Sebaran individu pada interpopulasi ini diduga dapat menjadi penghambat dalam aliran gen (*gen flow*) yang diakibatkan adanya penghalang fisik maupun perbedaan kondisi habitat. Selain itu, ketiga wilayah ini merupakan daerah endemisitas di Sulawesi. Akibatnya diduga telah terjadi adaptasi lokal yang berperan pada munculnya keragaman populasi *M. maleo* pada masing-masing daerah sebaran geografik di Sulawesi.

Keberadaan spesies *M. maleo* mengkhawatirkan karena telah mengalami penurunan populasi yang tajam sebagai akibat dari aktivitas eksploitasi telur yang berlebihan dan juga hilangnya konektivitas antara hutan dan lokasi sarang. Ancaman yang dihadapi spesies ini tentunya dapat berpengaruh pada menurunnya ukuran populasi dan berpotensi mengancam keberlangsungan hidup spesies ini dimasa mendatang. Fenomena kelompok populasi yang kecil dapat memicu terjadinya perkawinan kerabat yang dekat (*inbreeding*) sehingga berdampak pada keragaman genetik yang ditandai dengan menurunnya keragaman nukleotida dan haplotipe.

Upaya perlindungan *M. maleo* yang dilakukan saat ini yaitu melalui program fasilitas penetasan semi alami. Dalam program tersebut, selain memahami keragaman genetik, identifikasi terhadap jenis kelamin juga penting untuk dilakukan guna menjaga keseimbangan rasio jenis kelamin. Rasio jenis kelamin memainkan peranan penting dan mempengaruhi peran seks dan sistem perkembangbiakan. Selain itu juga, rasio jenis kelamin yang tidak seimbang pada populasi kecil dapat menghasilkan penurunan yang mengarah pada kepunahan spesies tersebut. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan: (1) mengungkap identitas molekuler burung maleo senkawor (*M. maleo*) berdasarkan

DNA mitokondria (mtDNA) dengan gen penanda *Cytochrome Oxidase I* (COI), (2) mengetahui hubungan filogenetik pada masing-masing populasi dengan sebaran geografik yang luas melalui marka gen *Cytochrome-b* (Cyt-b), (3) mengungkap hubungan interpopulasi dan asal-usul populasi menggunakan marka penanda daerah D-Loop (*control region*), (4) determinasi sex secara akurat menggunakan metode molekuler sexing melalui gen *Chromo Helicase DNA-Binding* (CHD).

Tahapan analisis genetik terlebih dahulu dilakukan melalui isolasi DNA total dari bulu dan cangkang telur *M. maleo* menggunakan kit *Dneasy® Blood and Tissue* dan diamplifikasi dengan menggunakan primer spesifik gen parsial COI, Cyt-b, dan D-loop/*control region*. Jarak genetik ditentukan berdasarkan Kimura 2-parameter dan *P-distance*. Konstruksi pohon filogenetik dibentuk berdasarkan *Neighbor-Joining* dan *UPGMA* menggunakan program MEGA 11. Verifikasi spesies menggunakan BLAST-n di situs NCBI.

Hasil analisis menggunakan marka gen COI didapatkan 4 situs *single nucleotide polymorphism* (SNP). Pada situs ke-28 merupakan situs spesifik yang hanya dimiliki oleh populasi asal Sulawesi Utara. Hasil translasi 796 bp sekuen nukleotida COI, dihasilkan 263 situs asam amino (AA). Jarak genetik berdasarkan sekuen nukleotida gen COI yang dihasilkan pada tiga (3) populasi (Sulawesi Utara, Tengah, dan Tenggara) yaitu 0,000 (0,0%) – 0,001 (0,1%), dan jarak genetik berdasarkan asam amino (AA) yaitu 0,000 (0,0%) – 0,004 (0,4%). Hasil analisis *Median Joining Network* diketahui bahwa Populasi asal Sulawesi Utara telah membentuk haplotipe tersendiri (haplotipe-2) dan populasi asal Sulawesi Tengah dan Tenggara membentuk haplotipe yang sama (haplotipe-3). Pada marka genetik gen Cyt-b didapatkan hasil bahwa terdapat lima (5) situs *single nucleotide polymorphism* (SNP) dan 3 situs diantaranya menunjukkan spesifik lokasi yaitu pada situs ke 678 (Sulawesi Tengah), 890 dan 891 (Sulawesi Utara). Hasil analisis berdasarkan *Median Joining Network* diketahui bahwa pada seluruh populasi, masing-masing telah memiliki haplotipe tersendiri. Hasil translasi 903 bp sekuen nukleotida gen Cyt-b didapatkan 301 situs AA. Jarak genetik berdasarkan sekuen nukleotida gen Cyt-b pada tiga (3) populasi (Sulawesi Utara, Tengah, dan Tenggara) yaitu 0,002 (0,2%) – 0,003 (0,3%). Sedangkan jarak genetik *M. maleo* dibandingkan dengan spesies *A. lathami* (outgroup) yaitu 0,144 (14,4%) – 0,146 (14,6%). Jarak genetik berdasarkan AA pada 3 wilayah populasi penelitian memiliki nilai yaitu 0,003 (0,3%) 0,007 (0,7%). Sementara jarak genetik antara *M. maleo* dengan spesies *A. lathami* (outgroup) yaitu 0,051 (5,1%) – 0,058 (5,8%).

Hasil analisis menggunakan marka daerah D-Loop/*control region* didapatkan sembilan (9) situs *single nucleotide polymorphism* (SNP). Keragaman nukleotida berdasarkan interpopulasi diperoleh nilai sebesar 0,00501 (0,501%) dan keragaman haplotipenya yaitu 0,74265 (74,265%). Sedangkan keragaman nukleotida dan haplotipenya berdasarkan intrapopulasi yaitu 0,000 (0,0%) atau sama. Jarak genetik berdasarkan interpopulasi dipisahkan dengan nilai jarak genetik antara 0,3%-0,6%. Sedangkan jarak genetik spesies *M. maleo* dengan spesies *outgroups* yaitu 12,6%–13,9%. Hasil analisis data genetik yang dikombinasikan dengan runutan peristiwa geologi pembentukan Pulau Sulawesi, diketahui bahwa Pulau Buton atau lengan tenggara sulawesi (Sulawesi Tenggara) diduga menjadi pusat asal-usul penyebaran *M. maleo* di Sulawesi.

Identifikasi jenis kelamin dilakukan menggunakan teknik molekuler sexing dengan memanfaatkan primer universal yaitu 2550F/2718R. Primer ini mampu



mengamplifikasi gen CHDZ/W pada *M. maleo*. Sehingga diperoleh ukuran sekuen gen CHDZ yaitu 586 bp dan gen CHDW yaitu 436 bp. Hasil identifikasi jenis kelamin pada seluruh populasi diketahui bahwa individu jantan terlihat lebih dominan dengan rasio (4,25:1) dengan sebaran perjenis kelamin terdiri atas 11 individu jantan pada populasi Sulawesi Utara, 2 individu jantan dan 1 individu betina pada populasi asal Sulawesi Tengah, sementara pada populasi asal Sulawesi Tenggara ada 4 individu jantan dan 3 individu betina.

Kata Kunci: Genetik, Identifikasi, *Macrocephalon maleo*, Mitokondria, Sexing

SUMMARY

ABDUL SAMAD. Genetics Profiling of the Maleo Senkawor Bird (*Macrocephalon maleo* Sal. Muller 1846) Using Mitochondrial DNA Markers and Sex Determination Based on Molecular Sexing. Supervised by DEDY DURYADI SOLIHIN, CECE SUMANTRI and BAMBANG PURWANTARA.

Sulawesi is the largest island in the Wallacea biodiversity hotspot which is inhabited by a variety of endemic fauna but whose populations are declining. The process of forming this island is complicated and complex because it went through various geological events so it is believed that this process contributed to the presence of fauna that cannot be found anywhere else in the world. Sulawesi was formed from various terrain (continental crust) that came from various directions and then there was a collision.

One of the biodiversity of Sulawesi Island that is interesting to study regarding its existence and origin on this island is the Maleo Senkawor bird (*Macrocephalon maleo*). At present, molecular data on various taxa in Sulawesi are available. However, especially for the species *M. maleo*, molecular data discussing the estimated time of divergence combined with geological events to reveal its initial presence in Sulawesi have never been carried out. The presence of *M. maleo* in Sulawesi is thought to be directly related to the ancestral megapods in Australia.

M. maleo bird has a wide geographical distribution in Sulawesi, including North, Central, and Southeast Sulawesi. The distribution of individuals in this interpopulation is thought to be an obstacle in gene flow due to physical barriers and differences in habitat conditions. In addition, these three areas are endemic in Sulawesi. As a result, it is suspected that there has been local adaptation which has contributed to the emergence of population diversity of *M. maleo* in each geographical distribution area in Sulawesi.

The existence of the species *M. maleo* is worrying because it has experienced a sharp population decline due to excessive egg exploitation and loss of connectivity between the forest and nesting sites. The threats faced by this species can certainly affect the decline in population size and potentially threaten the survival of this species in the future. The phenomenon of small population groups can trigger inbreeding, resulting in genetic diversity as indicated by a decrease in nucleotide and haplotype diversity.

At present, efforts to protect *M. maleo* are carried out through captive breeding facility programs. In captive breeding facility programs, in addition to understanding genetic diversity, the identification of sex is also important to do to maintain the balance of the sex ratio. The sex ratio plays an important role and influences sex roles and the reproductive system. Also, an unequal sex ratio in a small population can result in a decline that leads to species extinction. Therefore, this research was conducted with the aims of (1) revealing the molecular identity of the maleo senkawor bird (*M. maleo*) based on mitochondrial DNA (mtDNA) with the *Cytochrome Oxidase I* (COI) marker gene, (2) knowing the phylogenetic relationship in each population with a wide geographical distribution through *Cytochrome-b* (Cyt-b) gene markers, (3) reveal interpopulation relationships and



population origins using D-Loop (*control region*) markers, (4) accurate sex determination using the technic of molecular sexing through the *Chromo Helicase DNA-Binding* (CHD) gene.

The first stage of genetic analysis was carried out by isolating total DNA from feathers and eggshells of *M. maleo* using the *Dneasy® Blood and Tissue kit* and amplification using partial gene-specific primers COI, Cyt-b, and D-loop/control region. Genetic distance was determined based on the Kimura 2-parameter and P-distance. Phylogenetic tree construction was formed based on Neighbor-Joining and UPGMA using the MEGA 11 program. Species verification using BLAST-n at the NCBI site.

The results of the analysis using COI gene markers obtained 4 single nucleotide polymorphism (SNP) sites. The 28th site is a specific site that is only owned by populations from North Sulawesi. As a result of the translation of 796 bp of COI nucleotide sequences, 263 amino acids (AA) sites were produced. Genetic distance based on COI gene nucleotide sequences produced in three (3) populations (North, Central, and Southeast Sulawesi) namely 0.000 (0.0%) – 0.001 (0.1%), and genetic distance based on amino acids (AA) i.e. 0.000 (0.0%) – 0.004 (0.4%). The Median Joining Network analysis results show that populations from North Sulawesi have formed a separate haplotype (haplotype-2) and populations from Central and Southeast Sulawesi have formed the same haplotype (haplotype-3). In the genetic markers of the Cyt-b gene, it was found that there were five (5) single nucleotide polymorphism (SNP) sites and 3 of them showed specific locations, namely at sites 678 (Central Sulawesi), 890, and 891 (North Sulawesi). The results analysis results based on the Median Joining Network show that each has its haplotype in all population translation results of 903 bp nucleotide sequences of the Cyt-b gene obtained 301 AA sites. Genetic distance based on the nucleotide sequence of the Cyt-b gene in three (3) populations (North, Central, and Southeast Sulawesi) namely 0.002 (0.2%) – 0.003 (0.3%). Meanwhile, the genetic distance of *M. maleo* compared to that of *A. lathami* (outgroup) was 0.144 (14.4%) – 0.146 (14.6%). Genetic distance based on AA in the 3 areas of the study population has a value of 0.003 (0.3%) - 0.007 (0.7%). Meanwhile, the genetic distance between *M. maleo* and *A. lathami* (outgroup) was 0.051 (5.1%) – 0.058 (5.8%).

The results of the analysis using the D-Loop/control region markers obtained nine (9) single nucleotide polymorphism (SNP) sites. The value of nucleotide diversity based on interpopulation was 0,00501 (0,501%) and the haplotype diversity was 0,74265 (74,265%). While the diversity of nucleotides and haplotypes based on intrapopulation is 0.000 (0.0%) or the same. Genetic distance based on interpopulation is separated by a genetic distance value between 0.3% -0.6%. Meanwhile, the genetic distance between *M. maleo* and outgroups was 12.6%–13.9%. The results of the analysis of genetic data combined with the sequence of geological events for the formation of Sulawesi Island, it is known that Buton Island, or the southeastern arm of Sulawesi (Southeast Sulawesi) is suspected to be the center of the origin of the distribution of *M. maleo* in Sulawesi.

Sex determination was carried out using molecular sexing techniques using universal primers, namely 2550F/2718R. This primer was able to amplify the CHDZ/W gene in *M. maleo*. So that the size of the CHDZ gene sequence is 586 bp and the CHDW gene is 436 bp. The results of sex identification in the entire population revealed that males were more dominant with a ratio (4.25:1) with a sex

distribution consisting of 11 males in the North Sulawesi population, 2 males, and 1 female in the population from Central Sulawesi. while in the population from Southeast Sulawesi, there were 4 male individuals and 3 female individuals.

Keywords: Determination, Genetics, *Macrocephalon maleo*, Mitochondria, Sexing

@Hak cipta milik IPB University

IPB University





@Hak cipta milik IPB University

IPB University

© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2023

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**PROFILING GENETIK BURUNG MALEO SENKAWOR
(*Macrocephalon maleo* Sal. Muller 1846) MENGGUNAKAN
MARKA DNA MITOKONDRIA DAN IDENTIFIKASI JENIS
KELAMINNYA BERDASARKAN MOLEKULAR SEXING**

ABDUL SAMAD

Disertasi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Doktor
pada Program Studi Biosains Hewan

**PROGRAM STUDI BIOSAINS HEWAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2023**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University





xii

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Penguji Luar Komisi Pembimbing pada Ujian Tertutup Disertasi:

- 1 Prof. Dr. Ir. Ani Mardiasuti, M.Sc
- 2 Dr. Ir. Moh. Haryono, M.Si

Penguji Luar Komisi Pembimbing pada Sidang Promosi Terbuka Disertasi:

- 1 Prof. Dr. Ir. Ani Mardiasuti, M.Sc
- 2 Dr. Ir. Moh. Haryono, M.Si

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Disertasi : Profiling Genetik Burung Maleo Senkawor (*Macrocephalon Maleo* Sal. Muller 1846) Menggunakan Marka DNA Mitokondria dan Identifikasi Jenis Kelaminnya Berdasarkan Molekuler Sexing

Nama : Abdul Samad
NIM : G362160021

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Ir. Dedy Duryadi Solihin, DEA

Pembimbing 2:
Prof. Dr. Ir. Cece Sumantri, M.Sc

Pembimbing 3:
Prof. drh. Bambang Purwantara, M.Sc., PhD



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Dr. Tri Atmowidi, M.Si
NIP. 196708271993031003

Dekan FMIPA IPB:
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si
NIP. 197807232007011001



Tanggal Ujian: 16 Desember 2022

Tanggal Lulus:

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT penulis panjatkan atas segala karunia-Nya sehingga disertasi yang berjudul *Profiling Genetik Burung Maleo Senkawor (Macrocephalon Maleo Sal. Muller 1846) Menggunakan Marka DNA Mitokondria dan Identifikasi Jenis Kelaminnya Berdasarkan Molekular Sexing* dapat diselesaikan.

Penelitian dan penyusunan disertasi ini dapat diselesaikan karena bantuan dan peran berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ir. Dedy Duryadi Solihin, DEA. selaku ketua komisi pembimbing dan Prof. Dr. Ir. Cece Sumantri, M. Sc. serta Prof. drh. Bambang Purwantara, M.Sc., PhD. selaku anggota komisi pembimbing atas kesediaan waktu, bimbingan, nasehat, motivasi, dan ilmu yang bermanfaat yang telah diberikan kepada penulis sejak awal rencana penelitian, pelaksanaan hingga penulisan disertasi ini selesai.
2. Prof. Dr. Ir. Ani Mardiasuti, M. Sc. dan Dr. Ir. Moh. Haryono, M. Si. selaku penguji luar komisi pada sidang tertutup dan sekaligus penguji luar komisi pada sidang terbuka atas masukan dan koreksinya, sehingga lebih memperkaya karya ilmiah ini.
3. Dekan Sekolah Pascasarjana, Dekan FMIPA, Ketua Program Studi Biosains Hewan dan seluruh staf pengajar yang telah banyak memberikan kemudahan selama penulis menempuh studi di Sekolah Pascasarjana IPB.
4. Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi, atas penyediaan beasiswa BUDI-DN oleh Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) sehingga penulis dapat memperdalam ilmu di Institut Pertanian Bogor.
5. Balai Taman Nasional Rawa Aopa Watumohai, Balai Taman Nasional Lore Lindu, dan Balai Besar Taman Nasional Bogani Nani Wartabone atas dukungannya selama melakukan riset.
6. Ungkapan terima kasih dan penghargaan yang tinggi penulis haturkan kepada ibunda Nurjaeni dan ayahanda Sukri, S.Pd atas doa dan motivasinya yang tak pernah putus. Kepada bapak dan ibu mertua H. Sarbani, SE., M.AP. dan Dayang Fatma Silasusana atas dukungan moril dan bantuannya. Adikku Nursiah, Aswin, S.Pd, Rina Andriani, S.AB, Elsa, serta adik ipar Ridha Zul Apriadi, S.IP dan Salsabila terimakasih atas doanya. Kepada Istri tercinta Wanda Fahmi, S.Tr.Keb, anakku Alzena Ghaita Inara dan Aghnia Monera Kayyisah terima kasih atas doa, kasih sayang dan kesabarannya.
7. Rekan-rekan S3 dan S2 di Prodi BSH, dan Prodi lain, serta di Laboratorium Konservasi Genetik, PAU, IPB: Bapak Syamsul Bachry, Bapak Jusmaldi, Bapak Rusdin, Bapak Jarulis, Bapak Moh. Ihsan, Wildan, Hendrawan, Ibu Indah Fajarwati, Ibu Handayani, Mba Alfath, Mba Yoel, dan Mba Sulfi, terima kasih atas kebersamaannya selama menempuh studi dan juga dukungannya.

Akhir kata, semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan berkontribusi terhadap upaya pengelolaan konservasi Burung Maleo Senkawor. Demikian harapan penulis, terima kasih.

Bogor, Januari 2023

Abdul Samad

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------|
| DAFTAR TABEL | xviii |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xxi |
| I PENDAHULUAN | |
| 1.1.Latar Belakang | 1 |
| 1.2.Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3.Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4.Manfaat Penelitian | 4 |
| 1.5.Kebaharuan Penelitian (<i>Novelty</i>) | 4 |
| II TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1. Klasifikasi | 7 |
| 2.2. Morfologi dan Taksonomi | 7 |
| 2.3. Habitat dan Distribusi | 8 |
| 2.4. Perkembangbiakan | 9 |
| 2.5. DNA Mitokondria | 9 |
| 2.6. Gen <i>Cytochrome Oxidase Subunit I</i> (COI) DNA Mitokondria | 11 |
| 2.7. Gen <i>Cytochrome-b</i> (mtDNA) | 11 |
| 2.8. Daerah Dloop (<i>control region</i>) mtDNA | 11 |
| 2.9. Molekuler Sexing | 12 |
| III KAJIAN PENANDA GENETIK GEN <i>CYTOCHROME OXIDASE 1</i> (COI) DNA MITOKONDRIA PADA MALEO SENKAWOR (<i>Macrocephalon maleo</i> Sal. Muller, 1846) | |
| Abstrak | 14 |
| 3.1. Pendahuluan | 15 |
| 3.2. Bahan dan Metode | 16 |
| 3.2.1. Lokasi dan Waktu Penelitian | 16 |
| 3.2.2. Koleksi Sampel | 17 |
| 3.2.3. Isolasi DNA Total | 18 |
| 3.2.4. Amplifikasi dan Sekuensing Produk PCR | 18 |
| 3.3. Analisis Data | 19 |
| 3.4. Hasil | 19 |
| 3.4.1. Analisis Hasil BLASTn | 19 |
| 3.4.2. Polimorfisme Sekuen Nukleotida Gen COI | 20 |
| 3.4.3. Haplotipe | 21 |
| 3.4.4. Polimorfisme Sekuen Asam Amino | 21 |
| 3.4.5. Keragaman Genetik berdasarkan gen COI | 22 |
| 3.4.6. Jarak Genetik Intra dan Interpopulasi | 23 |
| 3.4.7. Konstruksi Pohon Filogenetik | 24 |
| 3.5. Pembahasan | 25 |
| 3.6. Simpulan | 27 |

IV **FILOGEOGRAFI BURUNG MALEO SENKAWOR (*Macrocephalon maleo* Muller, 1846) DI SULAWESI BERDASARKAN GEN *CYTOCHROME B* (Cyt b) DNA MITOKONDRIA**

| | |
|---|----|
| Abstrak | 29 |
| 4.1. Pendahuluan | 30 |
| 4.2. Bahan dan Metode | 31 |
| 4.2.1. Waktu dan Lokasi Penelitian | 31 |
| 4.2.2. Isolasi DNA Total | 31 |
| 4.2.3. Amplifikasi dan Sekuensing Produk PCR | 32 |
| 4.3. Analisis Data | 32 |
| 4.4. Hasil | 33 |
| 4.4.1. Analisis hasil BLASTn | 33 |
| 4.4.2. Polimorfisme Sekuen Nukleotida gen Cyt-b | 33 |
| 4.4.3. Haplotipe | 34 |
| 4.4.4. Keragaman Genetik Berdasarkan Gen Cyt-b | 35 |
| 4.4.5. Polimorfisme Sekuen Asam Amino | 36 |
| 4.4.6. Jarak Genetik Intra dan Interpopulasi | 36 |
| 4.4.7. Konstruksi Pohon Filogenetik | 37 |
| 4.5. Pembahasan | 39 |
| 4.6. Simpulan | 41 |

V **KERAGAMAN GENETIK BURUNG MALEO SENKAWOR (*Macrocephalon maleo*) BERDASARKAN MARKA D-LOOP DNA MITOKONDRIA**

| | |
|--|----|
| Abstrak | 42 |
| 5.1. Pendahuluan | 43 |
| 5.2. Bahan dan Metode | 44 |
| 5.2.1. Waktu dan Lokasi Penelitian | 44 |
| 5.2.2. Isolasi DNA Total | 45 |
| 5.2.3. Amplifikasi dan Sekuensing Produk PCR | 45 |
| 5.3. Analisis Data | 46 |
| 5.4. Hasil | 46 |
| 5.4.1. Analisis Hasil BLASTn | 46 |
| 5.4.2. Polimorfisme Sekuen Nukleotida | 47 |
| 5.4.3. Haplotipe | 48 |
| 5.4.4. Keragaman Genetik Berdasarkan gen DLoop | 49 |
| 5.4.5. Jarak Genetik | 50 |
| 5.4.6. Kontruksi Pohon Filogenetik | 50 |
| 5.5. Pembahasan | 51 |
| 5.6. Simpulan | 54 |

V **IDENTIFIKASI JENIS KELAMIN BURUNG MALEO SENKAWOR (*Macrocephalon maleo* Sal. Muller 1846) DENGAN MENGGUNAKAN TEKNIK MOLEKULER SEXING**

| | |
|-----------------------|----|
| Abstrak | 56 |
| 5.1. Pendahuluan | 57 |
| 5.2. Bahan dan Metode | 58 |

| | |
|--|-----|
| 5.2.1. Waktu dan Lokasi Penelitian | 58 |
| 5.2.2. Isolasi DNA Total | 58 |
| 5.2.3. Amplifikasi dan Sekuensing Produk PCR | 59 |
| 5.3. Analisis Data | 59 |
| 5.4. Hasil | 59 |
| 5.4.1. Kemurnian DNA | 59 |
| 5.4.2. Analisis Hasil BLASTn | 60 |
| 5.5. Pembahasan | 61 |
| 5.6. Simpulan | 63 |
| | |
| PEMBAHASAN UMUM | 64 |
| SIMPULAN UMUM DAN SARAN | 78 |
| Simpulan Umum | 77 |
| Saran | 77 |
| | |
| DAFTAR PUSTAKA | 80 |
| RIWAYAT HIDUP | 100 |



DAFTAR TABEL

| | | |
|----|---|----|
| 1 | Sistem Klasifikasi Burung Maleo Senkawor | 7 |
| 2 | Informasi data sampel di lapangan | 17 |
| 3 | Identifikasi spesies berdasarkan hasil <i>BLASTn</i> di <i>NCBI</i> | 19 |
| 4 | Polimorfisme sekuen nukleotida interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan gen COI | 20 |
| 5 | Jumlah situs asam amino konservatif dan non sinonimous terhadap total asam amino hasil translasi Gen COI <i>M. maleo</i> | 21 |
| 6 | Posisi basa pada triplet kodon penyandi yang mengalami perubahan pada gen COI <i>M. maleo</i> dari Sulawesi Utara, Sulawesi Tenggara, dan Sulawesi Tengah dengan pembandingan dari <i>GenBank</i> (MW574376.1). | 26 |
| 7 | Situs kodon penyandi dan asam amino yang mengalami perubahan pada gen COI <i>M. maleo</i> | 22 |
| 8 | Keragaman genetik <i>M. maleo</i> di Sulawesi | 23 |
| 9 | Rataan jarak genetik interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan sekuen DNA gen COI | 23 |
| 10 | Rataan jarak genetik interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan asam amino | 24 |
| 11 | Informasi data sampel dilapangan | 31 |
| 12 | Identifikasi spesies berdasarkan hasil <i>BLASTn</i> di <i>NCBI</i> | 33 |
| 13 | Polimorfisme sekuen nukleotida (SNP) interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan gen Cyt-b | 34 |
| 14 | Keragaman genetik <i>M. maleo</i> berdasarkan marka gen Cyt-b | 35 |
| 15 | Situs kodon penyandi dan asam amino yang mengalami perubahan pada gen Cyt-b <i>M. maleo</i> | 36 |
| 16 | Rataan jarak genetik interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan sekuen DNA gen Cyt-b | 37 |
| 17 | Rataan jarak genetik interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan asam amino | 37 |
| 18 | Identifikasi spesies berdasarkan hasil <i>BLASTn</i> di <i>NCBI</i> | 47 |
| 19 | Polimorfisme sekuen nukleotida interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan marka daerah D-Loop | 48 |
| 20 | Keragaman genetik <i>M. maleo</i> berdasarkan marka daerah D-Loop/control region | 49 |
| 21 | Rataan jarak genetik interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan sekuen nukleotida daerah D-Loop/control region DNA Mitokondria | 50 |
| 22 | Rata-rata konsentrasi dan kemurnian DNA | 59 |
| 23 | Identifikasi jenis kelamin berdasarkan hasil <i>BLASTn</i> di <i>NCBI</i> | 60 |
| 24 | Analisa genetik tiga (3) marka DNA Mitokondria <i>M. maleo</i> . | 74 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|----|--|----|
| 1 | Roadmap Penelitian <i>M. maleo</i> di Sulawesi | 5 |
| 2 | Alur Penelitian | 6 |
| 3 | Burung maleo (<i>Macrocephalon maleo</i>) | 8 |
| 4 | Map genom mitokondria <i>Tetrao urogallus aquitanicus</i> | 10 |
| 5 | Peta lokasi penelitian Maleo Senkawor (<i>Macrocephalon maleo</i>) di Sulawesi | 17 |
| 6 | Skema posisi penempelan primer MMCOI_F dan MMCOI_R dengan sekuen gen COI <i>A. Lathamii</i> (AY346091.1) | 19 |
| 7 | <i>Median joining network</i> haplotipe interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan gen COI | 21 |
| 8 | Konstruksi pohon filogenetik menggunakan metode <i>Neighbor-Joining</i> (NJ) <i>bootstrap</i> 1000 kali pengulangan dengan model <i>Kimura 2 – parameter</i> pada sekuen nukleotida gen COI. | 24 |
| 9 | Konstruksi pohon filogenetik menggunakan metode UPGMA <i>bootstrap</i> 1000 kali pengulangan dengan model <i>p-distance</i> pada sekuen AA | 25 |
| 10 | Skema posisi penempelan primer MMCytb_F dan MMCytb_R dengan sekuen pembandingan gen COI <i>M. maleo</i> yang ada di <i>GenBank</i> (MW574376.1) | 32 |
| 11 | <i>Median joining network</i> haplotipe interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan gen Cyt-b | 35 |
| 12 | konstruksi pohon filogenetik berdasarkan metode <i>Neighbor-Joining</i> (NJ) <i>bootstrap</i> 1000 kali pengulangan dengan model <i>Kimura 2 – parameter</i> pada sekuen nukleotida gen Cyt-b. | 38 |
| 13 | Konstruksi pohon filogenetik berdasarkan metode UPGMA (<i>Unweight Pair Group Method with Arithmetic Average</i>) <i>bootstrap</i> 1000 kali pengulangan dengan model <i>p-distance</i> pada sekuen AA. | 38 |
| 14 | Skema posisi penempelan primer MMDloop_F dan MMDloop_R dengan sekuen pembandingan marka D-Loop <i>A. Lathamii</i> yang ada di <i>GenBank</i> (AY346091.1) | 46 |
| 15 | <i>Median joining network</i> haplotipe interpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan daerah D-Loop. | 49 |
| 16 | Hubungan kekerabatan antarpopulasi <i>M. maleo</i> berdasarkan metode <i>Neighbor-Joining</i> (NJ) <i>bootstrap</i> 1000 kali pengulangan dengan model <i>Kimura 2 – parameter</i> berdasarkan marka gen D-loop. | 51 |
| 17 | Perbedaan ukuran gen <i>Chromo Helicase DNA-binding</i> (CHD) pada burung <i>M. maleo</i> | 61 |
| 18 | Perkiraan waktu divergensi antara spesies <i>M. maleo</i> dan <i>A. Lathamii</i> , menggunakan tool <i>timetree 5</i> berbasis <i>website</i> pada Mega 11 | 68 |
| 19 | Perkiraan waktu divergensi antara spesies <i>M. maleo</i> dan <i>A. arfakianus</i> , menggunakan tool <i>timetree 5</i> berbasis <i>website</i> pada Mega 11. | 68 |
| 20 | Perkiraan waktu divergensi antara spesies <i>M. maleo</i> dan <i>A. arfakianus</i> , menggunakan tool <i>timetree 5</i> berbasis <i>website</i> pada Mega 11. | 69 |
| 21 | Perkiraan waktu divergensi antara spesies <i>A. lathamii</i> dan <i>A. arfakianus</i> , menggunakan tool <i>timetree 5</i> berbasis <i>website</i> pada Mega 11 | 69 |



| | | |
|----|---|----|
| 22 | Perkiraan waktu divergensi antara spesies <i>A. lathami</i> dan <i>T. fuscirostris</i> , menggunakan tool timetree 5 berbasis <i>website</i> pada Mega 11 | 70 |
| 23 | Perkiraan waktu divergensi antara spesies <i>A. arfakianus</i> dan <i>T. fuscirostris</i> , menggunakan tool timetree 5 berbasis <i>website</i> pada Mega 11 | 70 |
| 24 | Waktu divergensi antargenus dalam famili Megapodiidae menggunakan tool timetree5 berbasis <i>website</i> Mega 11 | 71 |
| 25 | Analisis biogeografis megapoda menggunakan BioGeoBEARS. Keenam wilayah biogeografis meliputi: (1) Dunia Baru, (2) Afrika, (3) Eurasia, (4) Australia + New Guinea (AUS + PNG), (5) Wallacea, (6) Filipina (PHL) + Palawan, (7) Kepulauan Nicobar, dan (6) pulau-pulau di utara dan timur Papua Nugini. Outgroup tidak ditampilkan. Diagram lingkaran di nodus menunjukkan dukungan untuk area masing-masing | 72 |
| 26 | Distribusi spesies pada genus megapodius dan gelombang kolonisasi | 72 |
| 27 | Rekonstruksi wilayah Banda sekitar 25 Mya – 4 Mya | 73 |

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|---|--|----|
| 1 | Konsentrasi dan kemurnian DNA pada sampel bulu dan cangkang <i>M. maleo</i> | 98 |
| 2 | Lokasi bertelur burung maleo senkawor pada habitat pantai di Tanjung Batikolo (Sultra) | 99 |
| 3 | Telur burung maleo senkawor di dalam lubang sarang | 99 |
| 4 | Keadaan burung maleo senkawor di penangkaran | 99 |



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mempublikasikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.