

V. SIMPULAN

A. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian *molecular sexing* pada Elang Jawa dan Elang Brontok hasil sitaan BKSDA di Yogyakarta, diperoleh simpulan bahwa

1. Penentuan jenis kelamin berhasil dilakukan pada Elang Jawa dan Elang Brontok. Hasil positif terdiri dari empat individu betina yaitu, Elang Jawa 01, Elang Brontok 01, Elang Brontok 02, Elang Brontok 04, dan dua individu jantan yaitu, Elang Jawa 02, dan Elang Brontok 03 dengan menggunakan primer 2561/2728 dan 2550F/2718R.
2. Primer 2561/2728 dan 2550F/2718R merupakan pasangan primer yang paling efektif dalam mengidentifikasi jenis kelamin Elang Jawa dan Elang Brontok karena pita *CHD-Z* dan *CHD-W* lebih mudah dibedakan. Primer 2561/2728 pada Elang Jawa 01 memiliki ukuran *CHD-Z* 716 bp dan *CHD-W* 444 bp, Elang Brontok 01 dan 02 memiliki ukuran *CHD-Z* 725 bp dan *CHD-W* 444 bp, Elang Brontok 03 memiliki ukuran *CHD-Z* 708 bp, Elang Jawa 02 memiliki ukuran *CHD-Z* 700 bp, dan Elang Brontok 04 memiliki ukuran *CHD-Z* 725 bp dan *CHD-W* 450 bp. Primer 2550F/2718R pada Elang Jawa 01 memiliki ukuran *CHD-Z* 758 bp dan *CHD-W* 481 bp, Elang Brontok 01 memiliki ukuran *CHD-Z* 758 bp dan *CHD-W* 490 bp, Elang Brontok 02 memiliki ukuran *CHD-Z* 733 bp dan *CHD-W* 454 bp, Elang Brontok 03 memiliki ukuran *CHD-Z* 690 bp, Elang Jawa 02 memiliki ukuran *CHD-Z* 640 bp, dan Elang Brontok 04 memiliki ukuran *CHD-Z* 640 bp dan *CHD-W* 372 bp.

Primer P2/P8 dan 1237L/1272H tidak dapat mengidentifikasi jenis kelamin Elang Jawa dan Elang Brontok karena hanya menunjukkan satu pita.

B. SARAN

Berdasarkan penelitian ini sebaiknya ada hal yang harus diperbaiki untuk penelitian berikutnya, yaitu

1. Disarankan adanya kontrol positif betina dan jantan untuk mengurangi kesalahan identifikasi jenis kelamin, berguna untuk visualisasi yang lebih baik.
2. Pada primer P2/P8 dan 1237L/1272H guna visualisasi yang lebih baik disarankan meningkatkan persentase gel agarosa, penggunaan gel poliakrilamid, atau enzim restriksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Basuki, O. P. Wijaya, K. D., Hidayat, A., Haryati, Y., dan Rakhman, Z. 2005. *Laporan Teknis Pelepasliaran dan Monitoring Pasca Pelepasliaran Elang Brontok (Spizaetus cirrhatus) di Taman Wisata Alam Danau Buyan - Danau Tamblingan, Bali*.
- Bildstein, K. L., Schelsky, W., Zalles, J., dan Ellis, S. 1998. Conservation Status of Tropical Raptors. *Journal of Raptor Research* 32 (1): 3-18.
- BirdLife. 2001. *Threatened birds of Asia: the BirdLife International Red Data Book*. BirdLife International, Cambridge, U.K.
- Cerit, H., dan Avanus, K. 2007. Sex determination by CHDW and CHDZ genes of avian sex chromosomes in *Nymphicus hollandicus*. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 31 (6): 371-374.
- Coates, B. J., dan Bishop, K. D. 2000. *Panduan Lapangan Burung-Burung di Kawasan Wallacea*. Bird Life International Indonesia Programme & Dove Publications.
- Crosby, M. J. 2003. *Menyelamatkan Burung-burung Asia yang Terancam Punah: Panduan untuk Pemerintah dan Masyarakat Madani (Edisi Indonesia)*. BirdLife International. Cambridge, UK.
- Devereux, R. dan Wilkinson, S. S. 2004. *Molecular Microbial Ecology Manual: Amplification of ribosomal RNA sequences, 2nd Ed.* Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Dorado, G., Galvez, S., Budak, H., Unver, T., dan Hernandez, U. 2017. *Nucleic-Acid Sequencing*. Module in Biomedical Sciences. Elsevier.
- Dubiec, A. 2006. Molecular Techniques for Sex Identification In Birds. *Biological Lett.* 43 (1): 3.12.
- Fridolfson, A-K., dan Ellegren, H. 1999. A Simple and Universal Method for Molecular Sexing of Non-Ratite Birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 30: 116-121.
- Griffiths, R., Double, M. C., Orr, K., dan Dawson, R. J. G. 1998. A DNA Test to Sex Most Birds. *Molecular Ecology* 7: 1071-1075.
- Gunawan, Pardidi, A., dan Noske, R. A. 2017. The Illegal Trade of Indonesian Raptors Through Social Media. *Kukila* 20: 1-11.
- Handajani, R. 2003. *DNA Sequencing*. Kursus Biologi Molekuler. Gramik FK Unair, Surabaya.

- Handayani, S. 2012. Deteksi Kuman Difteri dengan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran* 39 (3): 225-257.
- Innis, M. A., dan Gelfand, D. H. 1990. *PCR Protocol : A Guide to Methods and Applications*. Academic Press Inc, New York.
- Ito, H., Yamaji, A. S., dan Abe, M. 2003. Sex Identification by Alternative Polymerase Chain Reaction Methods in Falconiformes. *Zoological Science*, 20: 339-344.
- Jepson, P., dan Ladle, R. J. 2005. Bird Keeping in Indonesia: Conservation Impact and The Potential for Substitution-based Conservation Responses. *Oryx* 39: 442-448.
- Khan, N. W., John, J. S., dan Quinn, T. W. 1998. Chromosome-specific Intron size Differences in The Avian *CHD* Gene Provide an Efficient Method for Sex Identification in Birds. *Journal of the American Ornithologists Union* 15: 1074-1078.
- Khosravinia, H., H.N.N. Murthy, D.T. Parasad, & N. Pirany. 2007. Optimizing Factors Influencing DNA Extraction from Fresh Whole Avian Blood. *African Journal of Biotechnology*. 6 (4): 481-486.
- Lakowicz, J. R. 1983. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Plenum Press, New York. Halaman: 601-604.
- Li, Y., dan Zhou X. 2015. *Atlas of Oral Microbiology: From Healthy*. Zhejiang University Press. RRC.
- Mangunjaya, F. M. 2005. *Konservasi Alam Dalam Islam*. Yayasan Pustaka Obor Indonesia, Jakarta.
- McCusker, J., Dawson, M. T., Noone, D., Gannon, F., dan Smith Terry. 1992. Improved Method for Direct PCR Amplification From Whole Blood. *Nucleic Acids Research*, 20 (24): 6747.
- Morinha, F., Cabral, J.A. dan Bastos, E. 2012. Molecular Sexing of Birds: A Comparative Review of Polymerase Chain Reaction (PCR)-Based Methods. *Theriogenology* 78: 703-714.
- Nishida, C., Ishijima, J., Ishishita, S., Yamada, K., Griffin, D.K., Yamazaki, T., Matsuda, Y. 2013. Karyotype reorganization with conserved genomic compartmentalization in dot-shaped microchromosomes in the Japanese mountain hawk-eagle (*Nisaetus nipalensis orientalis*, Accipitridae). *Cytogenetic and Genome Research* 141 (4). (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23838459>). Diakses pada 18 Juli 2017.

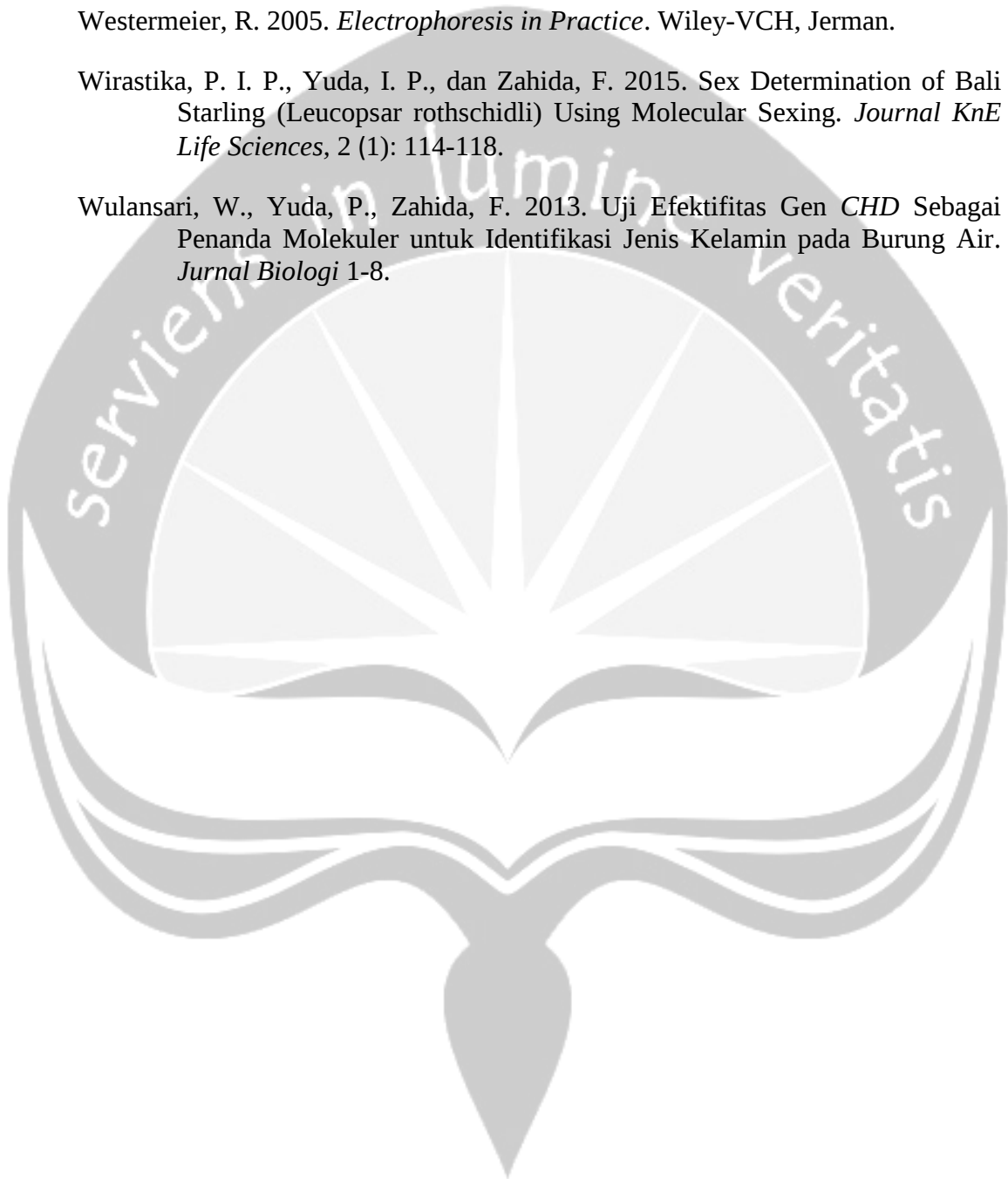
- Noerdjito, M., dan Maryanto, I. 2001, *Jenis-Jenis Hayati yang Dilindungi Perundang-undangan Indonesia*. Balitbang Zoologi dan Puslitbang Biologi-LIPI. The Nature Conservancy and USAID. Cibinong, Indonesia.
- Padmadi, B. 2009. Identifikasi Sifat Aroma Tanaman Padi Menggunakan Marka Berbasis Gen Aromatik. *Naskah skripsi*. Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Pangesti, M. H. T. 2009. *Monitoring dan Inventarisasi Burung*. Pusat Diklat Departemen Kehutanan. Bogor.
- Pelt-Verkuil, E., Belkum, A., dan Hays, J. P. 2008. *Principle and Technical Aspect of PCR Amplification*. Springer, Netherland.
- Rahayu, D. A., dan Nugroho, E. D. 2015. *Biologi Molekuler Dalam Perspektif Konservasi*. Plantaxia. Yogyakarta.
- Reddy, A., Vibhu, P., dan Shivaji, S. 2007. A Rapid, non-invasive, PCR-based method for Identification of Sex of the Endangered Old World Vultures—Implications for Captive Breeding Programmes. *Current Science* 92 (5).
- Russel, P. J. 1994. *Fundamentals of Genetics*. Harper Collins College Publishers, New York.
- Saaroni, Y. R., Sözer, P. F., Nurwatha. 2000. *Jenis-jenis Burung Dilindungi yang Sering Diperdagangkan*. YPAL. Bandung.
- Seutin, G., B.N. White, dan P.T. Boag. 1991. Preservation of Avian Blood and Tissue Samples for DNA Analysis. *Canadian Journal of Zoology*. 69: 82-90.
- Sozer, R., Nijman, V., dan Setiawan, I. 1999. Panduan Identifikasi Elang Jawa (*Spiezatus bartelsi*) Seri Pendidikan Konservasi Keanekaragaman Hayati. *Proyek Konservasi Keanekaragaman Hayati*. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor.
- Sukmantoro, W., Irham, M., Novarino, W., Hasudungan, F., Kemp, N., dan Muchtar, M. 2007. *Daftar Burung Indonesia No. 2*. Indonesian Ornithologists' Union (IdOU), Bogor.
- Sulandari, S., dan Zein, M. S. A. 2012. Application of Two Molecular Sexing Methods for Indonesian Bird Species: Implication for Captive Breeding Programs in Indonesia. *Hayati Journal of Bioscience*, 19 (4): 183-190.

ThermoFisher Scientific. 2015. *Thermo Scientific Direct PCR Product Brochure*. <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/direct-pcr-product-brochure.pdf>. Diakses pada 8 Juli 2017.

Westermeyer, R. 2005. *Electrophoresis in Practice*. Wiley-VCH, Jerman.

Wirastika, P. I. P., Yuda, I. P., dan Zahida, F. 2015. Sex Determination of Bali Starling (*Leucopsar rothschildi*) Using Molecular Sexing. *Journal KnE Life Sciences*, 2 (1): 114-118.

Wulansari, W., Yuda, P., Zahida, F. 2013. Uji Efektifitas Gen *CHD* Sebagai Penanda Molekuler untuk Identifikasi Jenis Kelamin pada Burung Air. *Jurnal Biologi* 1-8.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Tahapan	Bulan																							
	Feb 2017				Maret 2017				April 2017				Mei – Juli 2017				Agustus 2017				Sept 2017			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1. Preparasi sampel																								
2. Ekstraksi DNA sampel																								
3. Amplifikasi DNA sampel dan DNA kontrol																								
4. Sekuensing sampel Elang Jawa (Betina), dan Elang Brontok (Jantan dan Betina)																								
5. Kuantifikasi atau mendeteksi kemurnian DNA sampel																								
6. Pengolahan Data																								
7. Analisis Data																								
8. Penyusunan Naskah Skripsi																								
9. Persiapan Pendadaran																								
10. Pendadaran																								

Lampiran 2. Hasil Sekuensing Forward Urutan DNA Gen *CHD* Menggunakan Primer 2550F/2718R

1. Elang Jawa Betina

EJ01_CHD-Z_Female_2550_F

GGGGGAAAAATTCTGATTTTCTCCAGATGGTGAGGATGCTGGACATCCTAGCAGAATATC
TGAAGTATCGTCAGTTTCCCTTTCAGGTAAGAAGCTTGGTAGTAGCTAAAAAGCTTGGTA
GTAGCCAAGAAGCTTTGATCTTGAATATTAATAAAAAAAAAATCTTTTCTTTACTCTGAGGG
TTACAGAGCACTGGAACAAGTTGTCCAGAGGTTATGGAATCTCCATCCTCTGTGACATTC
AAAAGCCACCTGGGCATGACCTTGGGCAACCTGCTTTAGCTGTTGCTGCCTGAGTAGCAG
GGTTAGACAAGACGATAGCCAGAGGTCCCTTCCAATATCAGCTGGTTTGTGATTATGTGA
TCTGCACCACTTTGCTTAAGAAAAGATACAAGAAAATGTGTTCTTTTCTAGAAAGACTG
GCAATTGCAATATGCTAACCAGTATTTTGAATGAAACAGATGAATTAATAAATTATGTG
AAGTGTTCATTACTTTTTTTTTCCTTCACATAACAGTTTTTGGCAGTTGAGAATTCAAGTT
GCTCTGATTTTGAAGTATAGTATAAGAATTATTTTTTAACTATAGTGTTCATCTCTTTAG
AGACTTGATGGATCAATAAAAGGGGAATTGAGGAAACAAGCACTGGATCATTTCAATAA

EJ01_CHD-W_Female_2550_F

NNNNNNNNNNNTGATTTTCTCTAGATGGTGAGGATGCTAGACATCCTAGCAGAGTATCTG
AAGTATCGTCAGTTTCCCTTTCAGGTAAGAAGCTTGGTAGTAGTTAAGAAGCCTTGA
TCTTTACCTCTTTAAGAAAAGTGTCCTTTTTGTAGAAAGGTTTATGAAAGTTTAATTTTA
TGTACAGGAAAAGACTGGCAATTACTATATGCTAAATACTATTTTGAATGAACTGATT
AATTAGAAAGATGAAATGTTATATTACTCTTATCCCCCCCCCAATTGTTTTGGCAATTGA
GAATTCAAGTTGTTCCGATTAGAATATAGTAGGAGTTCCTTTTTTAACTGTATTATTCAAT
CTCTTTAGAGACTTGATGGATCAATAAAAGGGGAATTGAGGAAACAAGCACTGGANCATT
TCAATA

2. Elang Brontok Jantan

EB03_CHD-Z_Male_2550_F

GGGGGAAAAATTTTGATTTTCTCCAGATGGTGAGGATGCTGGACATCCTAGCAGAATATC
TGAAGTATCGTCAGTTTCCCTTTCAGGTAAGAAGCTTGGTAGTAGCTAAAAAGCTTGGTA
GTAGCCAAGAAGCTTTGATCTTGAATATTAATAAAAAAAAAAGAAATCTTTTCTTTACTCTGAG
GGTTACAGAGCACTGGAACAAGTTGTCCAGAGGTTATGGAATCTCCATCCTCTGTGACAT
TCAAAAGCCACCTGGGCATGACCTTGGGCAACCTGCTTTAGCTGTTGCTGCCTGAGTAGC
AGGGTTAGACAAGACGATAGCCAGAGGTCCCTTCCAATATCAGCTGGTTTGTGATTATGT
GATCTGCACCACTTTGCTTAAGAAAAGATACAAGAAAATGTGTTCTTTTCTAGAAAGAC
TGGCAATTGCTATATGCTAACCAGTATTTTGAATGAAACAGATGAATTAATAAATTATG
TGAAGTGTTCATTACTTTTTTTTTCCTTCACATAACAGTTTTTGGCAGTTGAGAATTCAAG
TTGCTCTGATTTTGAAGTATAGTATAAGAATTATTTTTTAACTGTAGTGTTCATCTCTTT
AGAGACTTGATGGATCAATAAAAGGGGAATTGAGGAAACATGCACAG

3. Elang Brontok Betina

EB04_CHD-W_Female_2550_F

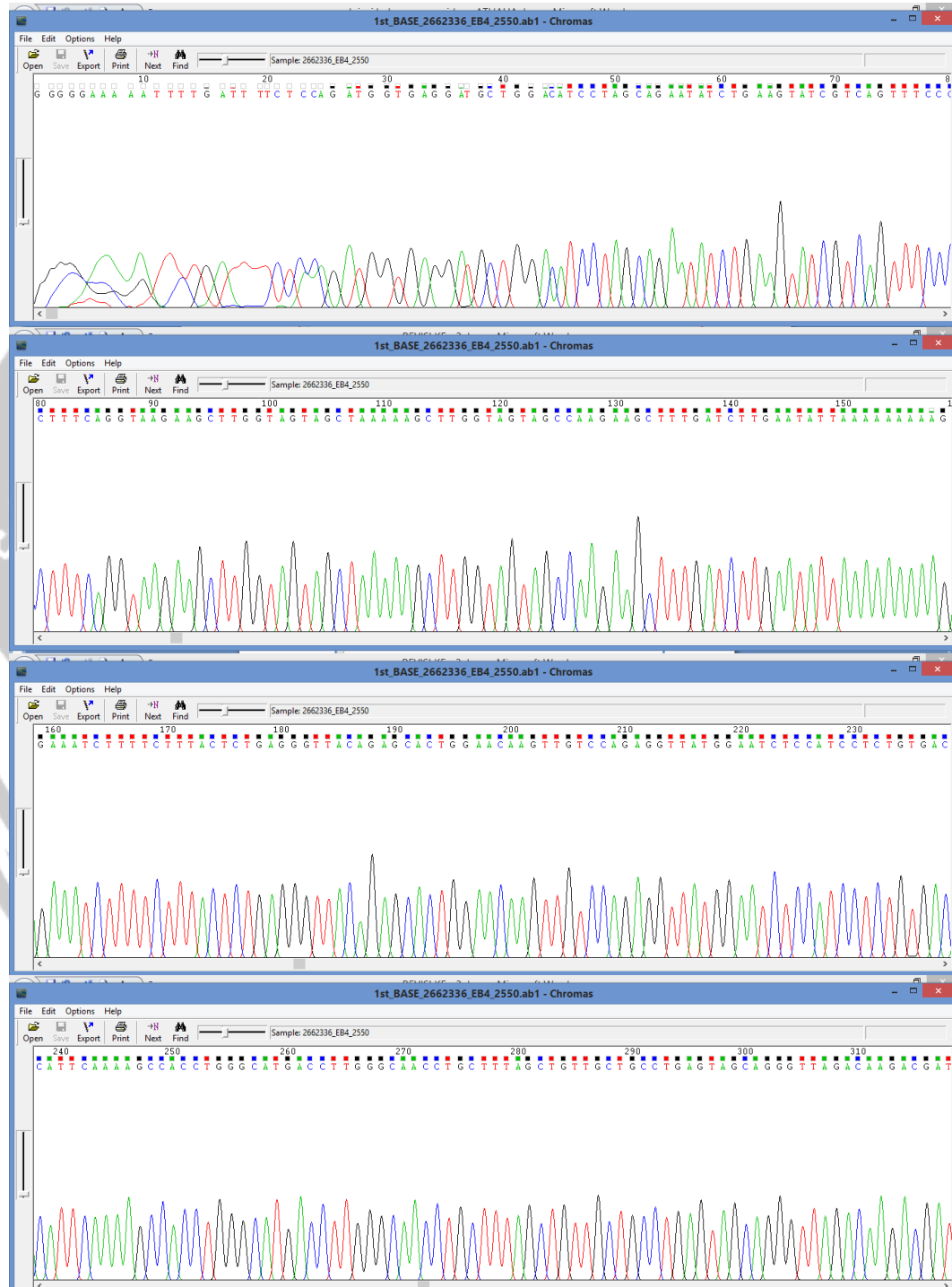
AAAAATGGGGAAAAATTTTGGATTTTCTCCAGATGGTGAGGATGCTGGACATCCTAGCAGA
ATATCTGAAGTATCGTCAGTTTCCCTTTTCAGGTAAGAAGCTTGGTAGTAGCTAAAAAGCT
TGGTAGTAGCCAAGAAGCTTTGATCTTGAATATTAAGAAAAAGAAATCTTTTCTTTACT
CTGAGGGTTACAGAGCACTGGAACAAGTTGTCCAGAGGTTATGGAATCTCCATCCTCTGT
GACATTCAAAGCCACCTGGGCATGACCTTGGGCAACCTGCTTTAGCTGTTGCTGCCTGA
GTAGCAGGGTTAGACAAGACGATAGCCAGAGGTCCTTCCAATATCAGCTGGTTTGTGAT
TATGTGATCTGCACCACTTTGCTTAAGAAAAGATACAAGAAAATGTGTTCTTTTTCTAGA
AAGACTGGCAATTGATATATGCTAACCAGTATTTTGAAATGAAACAGATGAATTAAAAAA
TTATGTGAAGTGTGCACTTACTTTTTTTTCTTCACATAACAGTTTTGGCAGTTGAGAAT
TCAAGTTGCTCTGATTTTGAGTATAGTATAAGAATTATTTTAACTGTAGTGTTCATC
TCTTTAGAGACTTGATGGATCAATAAAAGGGGAATTGAGGAAACAAGCACTGGATCATTT
CAAT

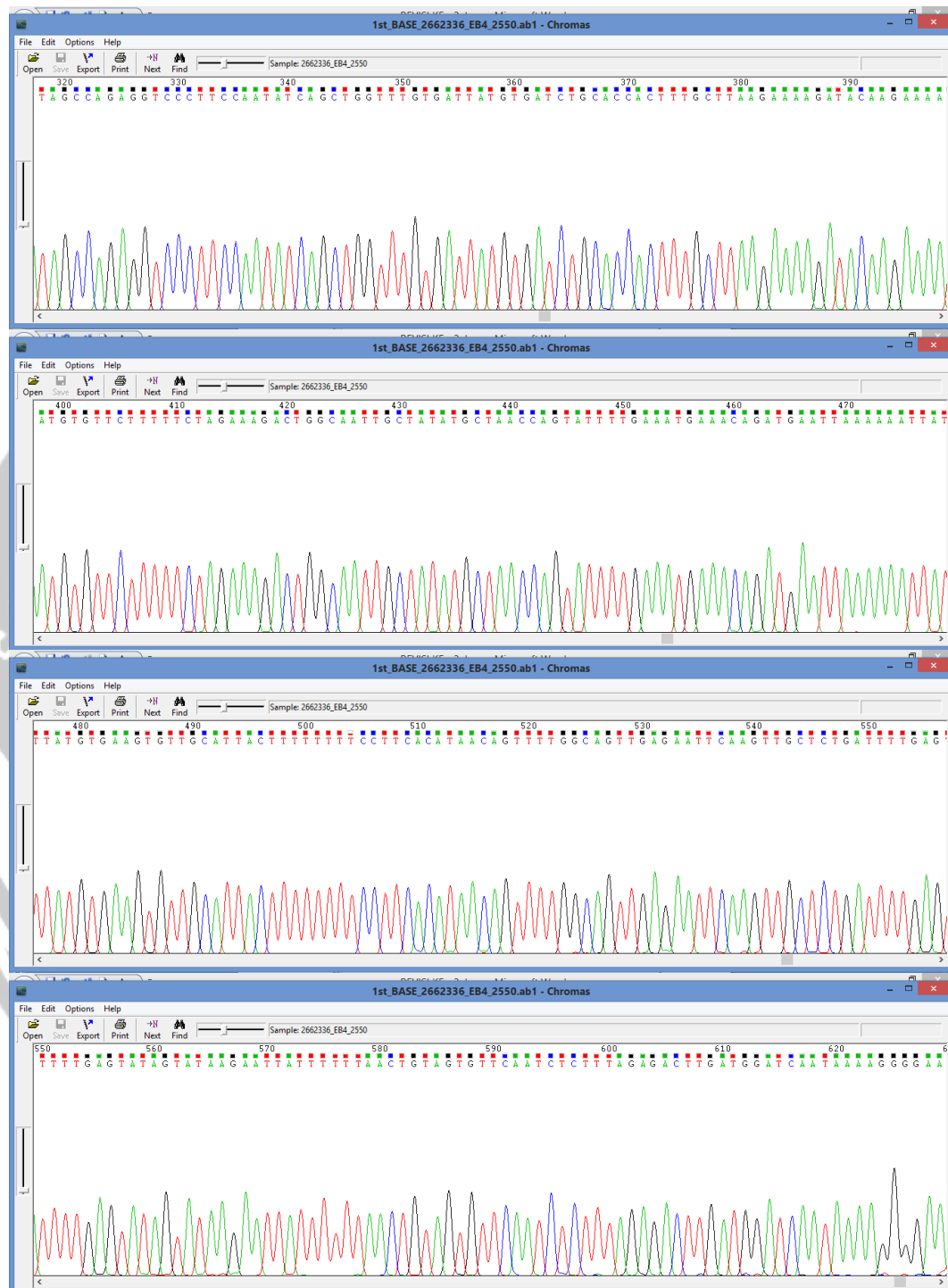
EB04_CHD-Z_Female_2550_F

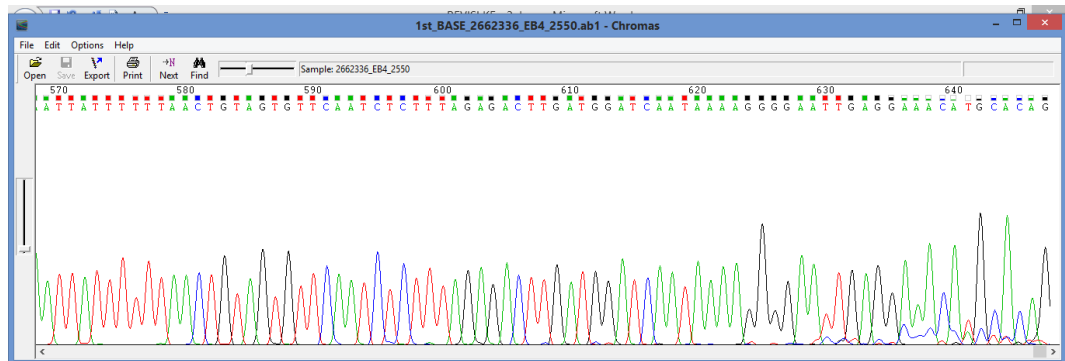
NNNNNNNNNNCTTGNNNTTCTCTANATGGTGAGGATGCTAGACATCCTAGCAGAGTATC
TGAAGTATCGTCAGTTTCCCTTTTCAGGTAAGAACTTTGCTGGTAGTAGTTAAGAAGCCTT
GATCTTTACCTCTTTAAGAAAAGTGTCCTTTTTTGTAGAAAGGTTTATGAAAGTTTAATTT
TATGTACAGGAAAAGACTGGCAATTACTATATGCTAAATACTATTTTGAAATGAACTGA
TTAATTAGAAAGATGAAATGTTATATTACTCTTATCCCCCCCCCAATTGTTTTGGCAAT
TGAAAATTCAAGTTGTTCCGATTAAATGTAGTAGGAGTTCCTTTTTTAACTGTATTATTC
AATCTCTTTAGAGACTTGATGGATCAATAAAAGGGGAATTGAGGAAACAAGCACTGGATC
ATTTCAATA

Lampiran 3. Chromatogram DNA Gen *CHD* Menggunakan Primer 2550F/2718R

a. Chromatogram Elang Brontok (Jantan)

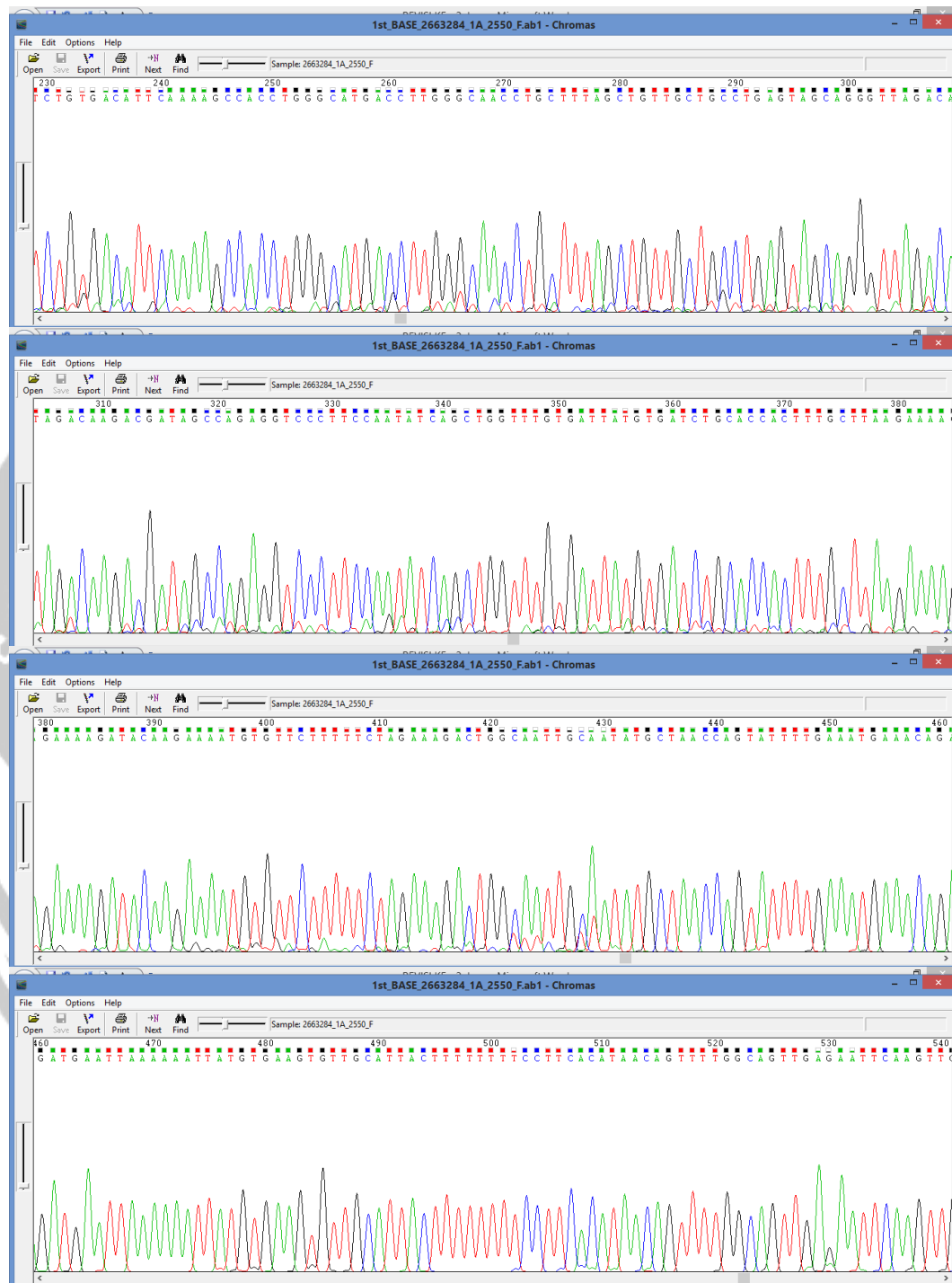






b. Chromatogram Elang Jawa (Betina)









c. Chromatogram Elang Brontok (Betina)

