II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Identifikasi Jenis Kelamin pada Burung Monomorfik

Sebagian besar spesies burung memiliki sifat monomorfik yaitu sulit dibedakan secara morfologi antara individu jantan dan betina sehingga hal ini menyebabkan penentuan jenis kelamin secara morfologi sulit dilakukan (Cerit dan Avanus, 2007b). Terdapat dua metode untuk mengidentifikasi jenis kelamin pada burung yang bersifat monomorfik, yaitu secara *non-molecular* dan *molecular*. Metode *non-molecular* yang umum digunakan adalah *vent sexing, laparoskopi, sexing steroid* pada feses dan karyotyping. Metode *molecular* yang banyak digunakan saat ini adalah PCR, namun terdapat metode baru yang sedang dikembangkan yakni LAMP. Berikut adalah penjelasan dari masing-masing metode tersebut:

a. Identifikasi Jenis Kelamin Secara *Non-Molecular*

1. *Vent sexing*

Vent sexing dilakukan dengan mengamati area kloaka untuk mengidentifikasi jenis kelamin antara jantan dan betina. Pada individu jantan biasanya terdapat tonjolan seperti jerawat atau lubang jarum berwarna kuning, putih dan hitam. Sedangkan individu betina tidak memiliki tonjolan namun memiliki ovarium yang berbentuk V. Metode ini memiliki kelemahan yakni sulit membedakan tonjolan yang sangat kecil sehingga memerlukan seorang ahli yang berpengalaman dan terlatih (Bramwell, 2003)

2. *Laparoscopy* (*Surgical Sexing*)

Metode ini dilakukan dengan cara melakukan sayatan kecil di sisi tubuh burung, sehingga organ kelamin dapat terlihat dengan laparoskop atau *otoscope*. Metode ini dapat melihat langsung karaktersitik fisik dari saluran reproduksi. Kelemahan dari metode ini yaitu membutuhkan anastesi yang dapat mengakibatkan resiko cedera yang tinggi pada organ vital bahkan mengakibatkan kematian pada burung (Swengel, 1996).

3. *Sexing steroid* (*Faecal steroid sexing*)

Sexing steroid dilakukan dengan menguji konsentrasi hormon esterogen/testosteron (E/T) yang terdapat pada feses. Pada burung betina rasio E/T lebih tinggi bila dibandingkan dengan burung jantan. Kelemahan metode ini yaitu saat musim kawin rasio hormon menjadi tinggi, namun saat bukan musim kawin rasio hormon menjadi rendah, hal ini tentu menjadi bias ketika melakukan identifikasi pada saat bukan musim kawin. Hasil yang baik hanya akan didapat saat musim kawin berlangsung (Swengel, 1996).

4. *Karyotyping*

Karyotyping dilakukan dengan membedakan ukuran kromosom Z dan W, pada umumnya kromosom Z lebih besar dari pada kromosom W. Metode ini dilakukan dengan cara mengisolasi kromosom dan kariotipe yang diperoleh dari isolasi sel darah atau bulu. Kelemahan metode ini yaitu sebagian besar kromosom dari burung merupakan mikrokromosom sehingga sangat sulit dilakukan perhitungan untuk

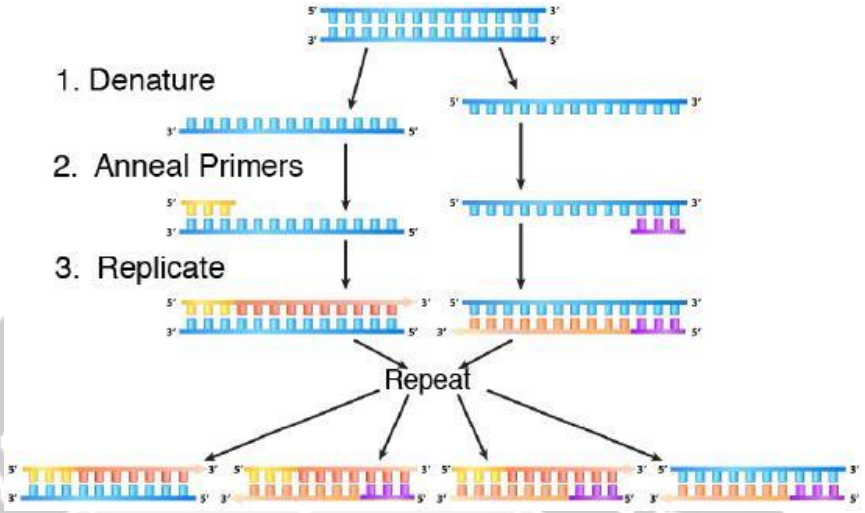
mendapat hasil yang akurat (Archawaranon, 2004). Selain itu hanya seseorang yang sudah terlatih dan berpengalaman yang dapat dengan mudah mendapat hasil yang akurat. Kelemahan yang lain adalah prosedur yang terlalu memakan waktu (Christidis, 1985).

b. Identifikasi Jenis Kelamin Secara *Molecular*

1. *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

PCR merupakan metode untuk mengamplifikasi (memperbanyak) DNA yang diperkenalkan sekitar tahun 1985. PCR merupakan teknik yang dalam prosesnya menggunakan beberapa suhu (multithermal) dibantu dengan enzim *Taq Polymerase*. Adapun beberapa komponen yang diperlukan dalam proses PCR antara lain templat DNA; sepasang primer, yaitu suatu oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA templat; dNTPs (*Deoxynucleotide triphosphates*); buffer PCR; magnesium klorida ($MgCl_2$) dan enzim polimerase DNA (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

Pada proses PCR terdapat beberapa tahap yaitu: pra-denaturasi DNA templat; denaturasi DNA templat; penempelan primer pada templat (*annealing*); pemanjangan primer (*extension*) dan pemantapan (*postextension*). 3 tahap utama pada PCR adalah denaturasi, penempelan primer dan pemanjangan primer merupakan tahapan berulang (siklus) sehingga setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA. Tahapan proses PCR dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema tahapan PCR
(https://bio.libretexts.org/TextMaps/Biochemistry/)

Pada tahap denaturasi terjadi pemisahan DNA untai ganda (*double stranded*) menjadi DNA untai tunggal (*single stranded*), tahapan ini terjadi pada suhu tinggi sekitar 94-98^{0}C selama 20-30 detik. Tahap selanjutnya adalah *annealing* yang berlangsung antara 20-40 detik, pada tahap ini primer akan menempel pada DNA template, suhu *annealing* (*Ta*) yang dibutuhkan besarnya tergantung pada suhu leleh (*melting temperature, Tm*) di mana Ta dihitung dengan cara: *Ta* = *Tm* – 5. Tahap selanjutnya adalah *elongasi* atau pemanjangan untai DNA yang terjadi pada suhu lebih tinggi dari *Ta*, suhu yang digunakan biasanya 72^{0}C (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

PCR dapat digunakan untuk menentukan jenis kelamin burung monomorfik. Metode penentuan jenis kelamin dengan PCR menggunakan pasangan primer berdasarkan variasi ukuran intron untuk membedakan antara protein *chromo-helicase-DNA-binding* (*CHD*),

CHD-Z dan *CHD-W* (Dubiec dan Zagalska-Neubauer, 2006). Gen pendanda *CHD* adalah gen yang terdapat pada kromosom W pada aves. Gen tersebut mempunyai dua intron yang panjangnya bervariasi pada kromosom Z dan kromosom W. Gen tersebut dapat digunakan untuk menentukan jenis kelamin secara molekuler (Griffths *et al.*, 1998). Burung betina memiliki dua gen *CHD* yakni gen *CHD-W* dan *CHD-Z*, sedangkan pada jantan hanya terdapat gen *CHD-Z* (Griffths *et al.*, 1998). Penanda umum yang dijadikan dasar adalah kromosom W milik betina (ZW) (Ellegreen, 1996), yang tidak dimiliki oleh jantan (ZZ) (Griffths *et al.*, 1998). Burung memiliki kebalikan kromosom seks dibandingkan dengan mamalia. Burung betina memiliki heterogametik ZW dan burung jantan dengan homogametik ZZ (Ellegreen, 1996).

Aplikasi PCR dalam mengamplifikasi gen *CHD* yang telah dilakukan di Indonesia pernah dilakukan pada penelitian (Sitohang, 2017) untuk mengidentifikasi jenis kelamin Elang Jawa dan Elang Brontok. Hasil yang diperoleh berupa empat sampel individu betina dan dua sampel individu jantan. Primer yang digunakan adalah pasangan primer 2550F/2718R dan primer 2561/2728 yang mengamplifikasi 100% sampel. Hal ini ditunjukkan dari hasil elektroforesis dengan terbentuk pita DNA tunggal (*ZZ*) pada jantan dan pita DNA ganda (*ZW*) pada betina.

Aplikasi yang lain yaitu pada penelitian (Khaerunnisa *et al.*, 2013) dalam menentukan jenis kelamin 21 ekor puyuh jepang, merpati, beo

nias, kakatua maluku, dan kakatua-kecil jambul-kuning berdasarkan gen *CHD* menggunakan PCR dengan dua pasang primer: 2550F-2718R dan P2-P8. Hasil menunjukkan bahwa primer 2550F dan 2718R dapat digunakan untuk mengidentifikasi seluruh sampel dengan terbentuknya pita ganda (Z dan W) untuk betina dan pita tunggal (Z) untuk sampel jantan pada visualisasi elektroforesis.

2. *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP)

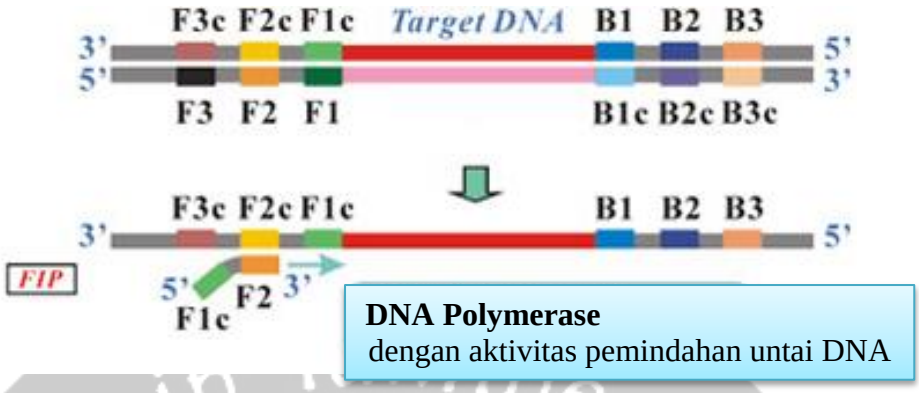
Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) adalah metode baru dalam mengamplifikasi DNA yang dikembangkan oleh Notomi dan kawan-kawan pada tahun 2000. Metode ini hanya menggunakan satu suhu (isothermal) inkubasi dalam mengamplifikasi DNA sehingga tidak memerlukan mesin *thermo cycler* (Notomi *et al.*, 2000)

LAMP akan mengamplifikasi sekuen target pada suhu konstan yakni pada suhu antara 60-65^{0}C. Teknik LAMP menggunakan empat primer (FIP, F3, BIP dan B3) atau enam primer (FIP, F3, LF, BIP, B3 dan LB) dan enzim polimerase (*Bst DNA Polymerase*) yang diperoleh dari *Baccilus stearothermophillus* yang berfungsi sebagai pemindah untai DNA dalam replikasi. Empat primer atau enam primer yang berbeda tersebut berfungsi untuk mengidentifikasi enam area berbeda pada gen target, sehingga spesifisitasnya akan meningkat. Lama waktu reaksi LAMP sekitar 30 menit sampai 1 jam. Hal ini merupakan waktu reaksi yang singkat karena penambahan sepasang primer yang di sebut

"loop primer" akan meningkatkan kecepatan reaksi dan meningkatkan jumlah DNA yang diamplifikasi (Nagamine *et al.*, 2002).

Prinsip LAMP adalah mengamplifikasi fragmen DNA dengan mekanisme sintesis dan pemisahan rantai DNA secara otomatis oleh DNA polymerase (Notomi *et al.*, 2000). LAMP menggunakan 4 buah primer yang mengenal daerah spesifik dengan 3 daerah di masing-masing ujung fragmen DNA-nya. Reaksi LAMP terdiri dari 3 tahap yaitu tahap produksi material (*starting material producing*), tahap amplifikasi siklus (*cycling amplification step*) dan tahap perpanjangan dan siklus berulang (*elongation and recycling step*) (Nagamine *et al.*, 2002). Menurut Notomi dkk., (2000) tahapan reaksi tersebut akan dijelaskan sebagai berikut:

Kondisi eqilibrium dialami oleh untai ganda DNA ketika suhu sebesar 65^0C, hal ini mengakibatkan salah satu primer LAMP menempel (*anneal*) pada sekuen komplemen DNA target. Metode LAMP tidak memerlukan tahapan denaturasi DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal seperti pada PCR, namun DNA polymerase akan memulai sintesis DNA dengan aktivitas pemindahan (*displacement activity*) yaitu memindah dan melepas DNA untai tunggal. Bagian F2 dari FIP akan menempel pada bagian F2c dari DNA template Gambar 2 akan menjelaskan proses ketika FIP menempel hinga pelepasan DNA untai tunggal :



Gambar 2. Penempelan FIP dan pelepasan DNA untai tunggal

Tahap selanjutnya yaitu perpanjangan DNA ke arah 3' melalui aktivitas DNA polymerase dengan aktivitas pemindahan sehingga pada cetakan DNA terbentuk suatu untai DNA komplemen, mulai dari ujung 3' daerah F2 dari FIP. Tahap tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3. Perpanjangan DNA ke arah 3'

Forward Out Primer (F3) akan menempel pada daerah F3c di luar FIP pada target DNA dan memulai pemindahan untai sintesis DNA kemudian akan melepas untai komplemen FIP-linked. Tahap ini dapat dilihat pada Gambar 4:

Gambar 4. Penempelan F3 pada daerah F3c

Tahap selanjutnya yaitu terbentuk untai ganda dari untai DNA sintesis yang berasal dari primer F3 dan cetakan DNA seperti pada Gambar 5:

Gambar 5. Pembentukan untai ganda DNA

Untai komplemen FIP-linked terlepas sebagai untai tunggal karena pemindahan oleh untai DNA sintesis dari primer F3. Untai tunggal yang telepas ini membentuk struktur ‘stem-loop’ pada akhir 5' hal ini dikarenakan sifat komplemen dari region F1c and F1. Tahap tersebut dapat dilihat pada Gambar 6.

Gambar 6. Terlepasnya rantai DNA hasil perpanjangan primer FIP

DNA untai tunggal yang dihasilkan pada tahap 5 berfungsi sebgai cetakan untuk DNA sintesis yang diinisiasi BIP dan diikuti dengan pemindahan DNA sintesis yang ditempeli oleh primer B3. BIP menempel pada untai DNA yang dihasilkan pada tahap 5. Mulai dari ujung 3' BIP, sintesis dari DNA komplemen akan menggantinya. Melalui proses ini, DNA berubah kembali dari struktur stem-loop menjadi struktur linear. Primer B3 menempel pada bagian luar BIP kemudian DNA polymerase

akan memulai dari ujung 3' sehingga DNA tersintesis dari BIP diganti dan dilepas sebagai untai tunggal sebelum sintesis DNA dari primer B3.

Gambar 7. Penempelan BIP pada untai DNA hasil tahap 5

Berdasarkan proses pada tahap 6 maka dihasilkan DNA untai ganda yang dapat dilihat pada Gambar 8.

Gambar 8. DNA untai ganda

Untai ganda BIP-linked yang terlepas pada tahap 6 membentuk strukutur dengan stem-loop pada setiap ujungnya dan strukur ini disebut *dumbell structure* (Gambar 9). Struktur ini akan digunakan sebagai bahan utama pada tahap amplifikasi selanjutnya dengan primer FIP dan BIP yang akan menempel pada bagian struktur *loop*. Reaksi ini akan menghasilkan beberapa bentuk struktur DNA dengan ukuran yang berbeda-beda..

Gambar 9. *Dumbell structure*

B. Primer *Molecular sexing*

Primer adalah urutan oligonukleotida yang akan menempel pada DNA cetakan di tempat spesifik. Primer berfungsi untuk mengawali reaksi amplifikasi. Primer pada PCR terdiri dari satu pasang primer yaitu primer *forward* dan primer *reverse*. Metode PCR menggunakan pasangan primer untuk membedakan antara protein *chromohelicase DNA-binding (CHD)* pada kromosom W dan kromosom Z berdasarkan variasi ukuran intron. Hasil yang diperoleh berupa adalah dua pita pada individu dengan jenis kelamin betina dan satu pita pada individu berkelamin jantan (Fridolfsson dan Ellegren, 1999).

Pasangan primer 2561/2728 yang didesain oleh Wajjwakul (Tidak dipublikasikan) telah digunakan pada penelitian (Sitohang, 2017) dan (Krisdianti, 2018). Pada penelitian (Sitohang, 2017) pasangan primer tersebut mampu mengidentifikasi jenis kelamin pada burung Elang Jawa (*Nisaetus bartelsi*) dan Elang Brontok (*Nisaetus cirrhatus*) secara efektif. Hasil visualisasi elektroforesis produk PCR menggunakan primer 2561/2728 menunjukkan hasil positif berupa dua pola pita (kromosom Z dan W) yang terpisah dengan baik. Ukuran kromosom Z dan W dari hasil visualisasi Elang Jawa 01 dengan jenis kelamin betina memiliki ukuran *CHD-Z* sebesar 716 bp dan *CHD-W* sebesar 444 bp, Elang Brontok 01 dan 02 dengan jenis kelamin betina memiliki ukuran *CHD-Z* sebesar 725 bp dan *CHD-W* sebesar 444 bp, Elang Brontok 03 dengan jenis kelamin jantan memiliki ukuran *CHD-Z* sebesar 708 bp, Elang Jawa 02 dengan jenis kelamin jantan memiliki ukuran

CHD-Z sebesar 700 bp, dan Elang Brontok 04 dengan jenis kelamin betina memiliki ukuran *CHD-Z* sebesar 725 bp dan *CHD-W* sebesar 450 bp. Informasi mengenai sekuen primer 2561/2728 belum ditemukan sehingga perbedaan fragmen spesifik Z dan W serta penempelan primer belum dapat diketahui.

Pada penelitian Krisdianti (2018), pasangan primer 2561/2728 mampu mengidentifikasi seluruh sampel yaitu sebanyak 21 individu dari 10 spesies pada ordo Passeriformes sehingga keberhasilan primer tersebut sebesar 100%. Hasil positif produk PCR ditunjukkan dengan terbentuknya dua pita (kromosom Z dan W) pada sampe betina dan satu pita (kromosom Z) pada sampel jantan. Ukuran kromosom Z dan W pada spesies *C. jugularis* betina dengan ukuran gen *CHD-Z* sebesar 557 bp dan gen *CHD-W* sebesar 300 bp, *P. montanus* betina dengan ukuran gen *CHD-Z* sebesar 557 bp dan gen *CHD-W* sebesar 300 bp, *P. aurigaster* betina dengan ukuran gen *CHD-Z* sebesar 535 bp dan gen *CHD-W* sebesar 335 bp, *D. leucophaeus* betina dengan ukuran gen *CHD-Z* sebesar 547 bp dan gen *CHD-W* sebesar 335 bp (Krisdianti, 2018).

Primer yang digunakan pada LAMP terdiri dari 4 atau 6 primer. Primer tersebut adalah *Forward Inner Primer* (FIP) yang terdiri atas sekuen komplementer F1 diujung 5', *linker* TTTT dan sekuen F2 diujung 3'. *Forward Outer Primer* (F3) merupakan sekuen F3. *Backward Inner Primer* (BIP) yang terdiri atas sekuen komplementer B1 di ujung 5', *linker* TTTT dan sekuen B2 di ujung 3'. *Backward Outer Primer* (B3) merupakan sekuen B3.

Identifikasi jenis kelamin pada suku Accipitridae dalam penelitian ini menggunakan primer ACCIW dan ACCIZ yang dirancang oleh Cuadros dkk., (2016). Primer ACCIW untuk mengamplifikasi gen *CHD-W* yang terdiri atas 4 primer yaitu F3, B3, FIP dan BIP (Tabel 3), sedangkan untuk mengamplifikasi gen *CHD-Z* menggunakan primer ACCIZ, terdiri dari 4 primer yaitu F3, B3, FIP dan BIP (Tabel 3). Berikut merupakan skema ilustrasi primer ACCIW untuk reaksi LAMP:

Gambar 10. Lokasi primer F3/B3 dan FIP/BIP sepanjang sekuen gen *CHD-W*

Primer ACCIW dirancang dari jenis Griffon Vulture (*Gyps fulvus*) (*GenBank accession number*: EU430640) dan ACCIZ dengan *GenBank accession numbers*: KU563739- KU563741. Primer tersebut didesain menggunakan *software* Explorer V5 (Eiken Chemical Co., Ltd., Japan; http://primerexplorer.jp/e/). Kedua primer tersebut dapat mengamplifikasi gen *CHD-W* dan *CHD-Z* pada tiga spesies raptor Griffon Vulture (*Gyps fulvus*), Egyptian Vulture (*Neophron percnopterus*), dan Black Kite (*Milvus migrans*)). Kondisi optimum amplifikasi pada primer ACCIW terjadi pada suhu 64^{o}C selama 80 menit dan pada primer ACCIZ kondisi optimum terjadi pada suhu 59^{o}C selama 80 menit (Centeno-Cuadros *et al.*, 2017).

Primer lain yang digunakan untuk identifikasi jenis kelamin menggunakan teknik LAMP adalah primer NEO-W dengan urutan basa yang dapat dilihat pada Tabel 3. Primer ini didesain berdasarkan fragmen gen *CHD-W*. Primer NEO-W telah berhasil menentukan jenis kelamin dari beberapa ordo seperti Falconiformes, Passeriformes, Pelecaniformes, Psittaciformes, Strigiformes, Columbiformes, Galliformes, Charadriiformes, Gruiformes, Musophagiformes dan Apterygiformes. Sekuen primer tersebut menunjukkan 92% rata-rata identitas dan ketika dipetakan berada di antara posisi 2,246 dan 2,445 domain pertama *CHD1-W* pada spesies *Gallus gallus* (Cuadros *et al.*, 2018).

C. Suku Accipitridae

Accipitridae atau yang biasa disebut elang merupakan suku dari kelas aves merupakan burung pemangsa yang menempati tingkat puncak (*top of predator*) dalam ekosistem (Prawiradilaga *et al.*, 2003). Habitat Accipitridae terletak di hutan alam dataran rendah karena ketersediaan sumberdaya yang beragam dan melimpah terutama pakan (Sitorus dan Ernowo, 2017). Suku Accipitride mempunyai ukuran tubuh yang relatif lebih besar dibandingkan dengan suku yang lain. Suku Accipitridae hampir menyerupai suku Falconidae namun terdapat ciri khas yang membedakan yakni bentuk sayap pada Accipitridae lebih bulat dan tumpul, selain itu warna mata lebih pucat. Ciri yang lain pada Accipitridae adalah kecepatan terbang yang lebih lambat dan memerlukan aktivitas termal (*hovering)* agar dapat terbang melayang (MacKinnon, 1994).

Keseluruhan spesies pada suku Accipitridae dilindungi berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia Nomo P.20 Tahun 2018 tentang Pengawetan jenis Tumbuhan dan Satwa. Hal yang menyebabkan keseluruhan suku Accipittridae ini dilindungi adalah jumlahnya terbatas dan populasi yang terus menurun disebabkan oleh hilang atau rusaknya habitat serta tingginya minat perburuan terhadap Accipitridae untuk dijadikan peliharaan hidup dan hiasan atau awetan dalam bentuk mati (Sitorus dan Ernowo, 2017).

Suku Accipitridae memiliki anggota sebanyak 218 spesies dan 61 spesies diantaranya hidup di Indonesia. Di pulau Jawa terdapat beberapa spesies lokal diantaranya Elang Ular Bido (*Spilornis cheela*), Elang Jjawa (*Nisaetus bartelsi*), Elang Hitam (*Ictinaetus malayensis*), Elang Brontok (*Niasetus cirrhatus*), Elang Perut-karat (*Hieraetus kienerii*), Elang Sayap Cokelat (*Butastur liventer*), Elang Laut Perut Putih (*Haliantus leucogaster*), Sikep Madu Asia (*Pernis ptylohincus*), Elang Bondol (*Haliastur indus*) dan Elang Tikus (*Elanus caeruleus*) (MacKinnon, 1994). Deskripsi beberapa spesies dari suku Accipitridae yang akan digunakan pada penelitian ini dijelaskan sebagai berikut:

a. Elang Brontok (*Nisaetus cirrhatus*)

Elang Brontok (*Nisaetus cirrhatus*) atau dalam bahasa Inggris bernama *Changeable Hawk-Eagle* adalah salah satu burung pemangsa yang menempati puncak dalam rantai makanan (Widiana *et al.*, 2017). IUCN mengkategorikan satwa ini ke dalam *Least Concern* (beresiko

rendah) (BirdLifeInternational, 2016c), namun pemerintah Indonesia memasukkan satwa ini dalam daftar satwa yang dilindungi undang-undang (Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia, 2018).

Elang Brontok dewasa memiliki panjang tubuh sekitar 70 cm (Direktorat Jendral Perlindungan Hutan dan Konservasi Alam, 2009) dengan rentang sayap antara 127 -138 cm dan bobot antara 1,3 kg - 1,9 kg. Ciri khas pada burung ini adalah memiliki jambul yang tidak terlalu panjang. Terdapat tiga bentuk/tipe pada Elang Brontok yaitu tipe terang (*Light Morph*) memiliki tubuh bagian atas berarna putih dan bercorak kehitaman, pada strip mata dan kumis berwarna kehitaman. Tipe gelap (*Dark Morph*) memiliki tubuh dengan warna coklat gelap dan pada ekor terdapat garis berwarna hitam. Tipe peralihan (*Intermediate morph*) memiliki pola warna coretan dan garis terang yang mirp dengan tipe terang, hal yang membedakan adalah tubuh bagian bawah berwarna abu-abu kecoklatan (Prawiradilaga *et al.*, 2003).

Habitat Elang Brontok pada umumnya terdapat pada ketinggian kurang dari 1500 mdpl, namun sebagian dapat ditemukan pula pada ketinggian 2200 mdpl. Habitat Elang Brontok berupa padang rumput, hutan berpohon, dekat sumber air, perkebunan teh, hutan perkampungan, bahkan kadang dapat ditemui di pinggiran perkotaan (Prawiradilaga dkk., 2003).

b. Elang Jawa (*Nisaetus bartelsi*)

Elang Jawa (*Nisaetus bartelsi*) merupakan salah satu spesies burung endemik Pulau Jawa dari suku Accipitridae yang termasuk dalam kategori *Endangered* (terancam) (BirdLife International, 2017). Pemerintah Indonesia juga memasukkan burung ini sebagai satwa yang dilindungi dalam undang-undang karena jumlahnya semakin menurun akibat semakin menyempitnya hutan alam sebagai habitatnya dan perburuan liar (Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia, 2018)

Elang Jawa dewasa memilki panjang tubuh berkisar antara 60 - 70 cm, memiliki berat sekitar 2,5 kg. Elang Jawa memiliki ciri yang khas yakni memiliki jambul berwarna cokelat pada kepala. Mata berwarna kuning, kepala, punggung, sayap dan ekor berwarna coklat tua dengan ujung berwarna krem. Leher, dada dan perut berwarna cokelat dengan garis-garis berwarna coklat tua sampai kehitaman. Terdapat empat buah pita berwarna hitam pada ekor (Prawiradilaga, 1999). Habitat Elang Jawa berada di daerah hutan primer dan daerah peralihan dataran rendah dan hutan pegunungan dengan ketinggian 0 m sampai 3000 mdpl (Setiadi, 2000). Tempat bersarang elang jawa berada di tempat yang sulit dicapai, berbukit, biasanya terletak di lereng bukit atau pada pohon yang cabangnya mencuat dari bagian tajuk (Prawiradilaga, 1999).

Persebaran Elang Jawa dapat ditemukan di Ujung Kulon, Gunung Halimun, Gunung Salak, Gunung Gede Pangrango, Gunung Papandayan,

Gunung Patuha, Gunung Segera, Karang Anyar, Gunung Slamet, Gunung Besar, Gunung Prahu, Gunung Merapi, Gunung Wilis, Gunung Arjuno, Gunung Iyang, Taman Nasional Meru Betiri, Kalibaru, Ijen dan Taman Nasional Alas Purwo (Sozer *et al.*, 1999).

c. Elang Alap Jambul (*Accipiter trivirgatus*)

Elang Alap Jambul atau dalam bahasa Inggris *Crested Goshawk* (*Accipiter trivirgatus*) merupakan salah satu burung dari suku Accipitridae yang kini jumlahnya semakin menurun. Status konservasi dalam IUCN RedList dikategorikan dalam *Least concern* (beresiko rendah) (BirdLife International, 2016) dan merupakan salah satu satwa yang dilindungi di Indonesia (Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia, 2018).

Elang-alap Jambul memiliki panjang tubuh sekitar 30-46 cm dengan berat tubuh dewasa berkisar antara 2,5 - 4,5 kg. Memiliki ciri khas berupa jambul. Elang-alap Jambul jantan dewasa memiliki bulu pada bagian atas tubuh berwarna coklat abu-abu dengan garis-garis pada sayap dan ekor. Bulu bagian bawah tubuh berwarna merah karat. Bulu pada bagian dada terdapat corak berwarna hitam, pada perut terdapat garis melintang berwarna hitam tebal dan bulu pada paha berwarna putih. Bulu di leher berwarna putih dengan strip hitam, serta terdapat dua strip kumis. Elang-alap Jambul betina memiliki bulu bagian atas yang lebih pucat. Bulu bagian bawah berwarna coklat dengan coretan dan garis-garis melintang (Lin *et al.*, 2015).

d. Elang Ular Bido (*Spilornis cheela*)

Elang Ular Bido (*Spilornis cheela*) merupakan salah satu spesies elang dari suku Acipitridae. Meskipun (BirdLife International, 2016d) mengkategorikan elang ular bido ke dalam *Least Concern* (beresiko rendah) namun elang ular bido menjadi salah satu satwa yang dilindungi di Indonesia karena kelestarian Elang Ular Bido terancam akibat perburuan untuk perdagangan dan perusakan habitat (Supriatna, 2012).

Ciri morfologi elang dewasa pada tubuh bagian atas berwarna coklat abu-abu gelap. Tubuh bagian bawah berwarna cokelat, pada bagian perut, sisi tubuh dan lambung terdapat berbintik-bintik putih, pada ekor garis abu-abu lebar di tengah garis-garis hitam. Memiliki jambul pendek dan lebar, berwarna hitam dan putih. Ketika sedang terbang, pada ekor terlihat garis putih lebar dan garis putih pada pinggir belakang sayap. Sayap lebar dengan bentuk membulat, ekor pendek. Habitat Elang Ular Bido ini berada di hutan, tepi hutan, dan perkebunan dengan ketinggian sekitar 1.900 mdpl (Brown dan Amadon, 1986)

e. Elang Laut Perut Putih (*Haliaeetus leucogaster*)

Elang Laut Perut Putih (*Haliaeetus leucogaster*) merupakan salah satu spesies pemangsa puncak dalam ekosistem pesisir. Elang ini dapat digunakan sebagai indikator kestabilan ekosistem perairan dan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh keberadaan manusia terhadap ekosistem tersebut. Populasi Elang Laut Perut Putih semakin menurun akibat perburuan liar, perdagangan satwa illegal, deforestasi dan aktivitas

manusia lainnya yang merusak habitat burung ini (Retnaningtyas *et al.*, 2015). Status pada RedList adalah *Least concern* (beresiko rendah) (BirdLife International, 2016b) namun di Indonesia elang ini merupakan salah satu satwa yang dilindungi (Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia, 2018).

Elang laut perut putih dewasa memiliki panjang tubuh sekitar 70 – 80 cm, bentang sayap sepanjang 1,8 – 2 meter dan lebar sayap sekitar 50 cm. Elang laut perut putih memiliki tubuh yang tertutup oleh bulu berwara putih dan abu-abu. Warna iris mata elang laut perut putih adalah cokelat gelap dengan pupil berwarna hitam dan memiliki tonjolan pada bagian atas mata. Pada tarsus hingga cakar, kulitnya tertutup oleh sisik berwarna kekuningan (Retnaningtyas *et al.*, 2015).

f. Sikep Madu Asia (*Pernis ptilorhynchus*)

Sikep Madu Asia merupakan raptor yang memiliki berat berkisar antara 0.75-1.49 kg dengan rentang sayap hingga 150-170 cm. Burung ini berkembang biak di Asia Utara dan bermigrasi dari lokasi berkembang biaknya menuju daerah yang lebih hangat seperti Semenanjung Malaysia, kepulauan Thailand, Philipina dan kepulauan Indonesia. Sikep Madu Asia memiliki sifat yang berbeda dengan burung pemangsa lainnya, burung ini lebih banyak memangsa lebah namun masih tetap mengonsumsi pakan vertebrata lainnya (Ramono *et al.*, 2015).

C. Hipotesis

1. Metode amplifikasi PCR dan LAMP mampu mengidentifikasi jenis kelamin dari suku Accipitridae dengan rasio keberhasilan 100%.
2. Primer LAMP yang dirancang dari jenis Elang Brontok (*Nisaetus cirrhatus*) dapat digunakan untuk amplifikasi jenis elang lain.