

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan alam yang tinggi. Data menunjukkan terdapat 28.000 spesies tumbuhan, 350.000 spesies binatang dan 10.000 spesies mikrobial. Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman spesies burung yang tinggi. Negara Indonesia memiliki 1771 spesies burung dan sebanyak 493 merupakan spesies burung endemik (BurungIndonesia, 2018).

Menurut Sibey dan Monroe (1990), Passeriformes memiliki jumlah spesies sebanyak 5712 yang dikelompokkan menjadi 45 suku. Selain itu menurut Saino *et al.*(2008), bangsa ini memiliki tingkat keberagaman yang tinggi sehingga banyak dilakukan penelitian seperti di bidang ekologi, evolusi, biologi dan adaptasi.

Banyak spesies burung termasuk bangsa Passeriformes yang sulit dibedakan antara jantan dan betina karena adanya kesamaan morfologi pada jantan dan betina (*sexually monomorphism*), oleh karena itu tidak dapat dilakukan penentuan jenis kelamin berdasarkan morfologinya. Hal ini menjadi masalah yang berpengaruh secara signifikan pada studi populasi dan studi biologi terutama pada studi konservasi (Vucicevic *et al.*, 2013). Menurut Price dan Birch (1996), kurang lebih 60% dari spesies burung yang termasuk dalam bangsa Passeriformes merupakan jenis monomorfik berdasarkan warna bulu.

Penentuan jenis kelamin merupakan salah satu informasi penting pada burung. Jenis kelamin merupakan ciri dasar yang digunakan dalam studi lapangan mencakup ekologi, kebiasaan, genetik, *breeding*, evolusi dan konservasi biologi. Penentuan jenis kelamin pada burung dapat dilakukan dengan mudah pada beberapa burung yang memiliki ciri-ciri morfologi seksual yang berbeda (*sexually dimorphic*) (Çakmak *et al.*, 2017). Selama ini penentuan jenis kelamin untuk burung monomorfik menggunakan berbagai metode seperti, *laparoscopi*, *vent sexing*, *sexing steroid* dan *karyotyping* (Cerit dan Avanus, 2007). Namun metode-metode tersebut memiliki kekurangan, seperti membutuhkan waktu yang lama, akurasi rendah dan mahal, selain itu beberapa metode tersebut dapat menyakitkan dan menyebabkan kematian pada burung (Cerit dan Avanus, 2007). Saat ini telah ditemukan metode *molecular sexing* yang sering digunakan dan dapat menutupi kekurangan dari metode-metode *non molecular* tersebut. *Molecular sexing* adalah metode identifikasi jenis kelamin pada burung dengan teknik molekuler (Dubiec dan Zagalska-Neubauer, 2006).

Molecular sexing yang saat ini banyak digunakan adalah metode berbasis *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Teknik ini dapat mengidentifikasi jenis kelamin secara tepat serta cepat dan efektif serta memiliki sensitifitas tinggi (Reddy *et al.*, 2007). PCR memiliki kekurangan salah satunya yaitu membutuhkan mesin pengatur suhu yaitu *thermal cycler* yang harganya mahal. Selain itu PCR juga tidak dapat divisualisasikan secara langsung, hasil

amplifikasi harus dilihat dengan menggunakan elektroforesis dan dilihat dengan *gel documentation* (Parida *et al.*, 2008).

Masalah dan kekurangan pada PCR bisa di jawab dengan melakukan *molecular sexing* dengan *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP). LAMP adalah metode amplifikasi yang sederhana dengan menggunakan peralatan yang mudah. Kelebihan lain yaitu hasil visualisasi amplifikasi dapat dilakukan pengamatan langsung pada *microtube* (Lee, 2017).

Penelitian *molecular sexing* menggunakan metode LAMP yang pernah dilakukan di beberapa negara seperti di Israel oleh Cuadros *et al.* (2017) , Taiwan oleh Chan *et al.* (2012) dan Korea Selatan oleh Notomi *et al.* (2015) . Penelitian tentang *molecular sexing* menggunakan metode LAMP di Indonesia baru digunakan untuk identifikasi parasit darah pada Elang Brontok (*Niasetus cirrhatus*) oleh Yuda (2014), selain itu primer spesifik untuk Passeriformes belum pernah dirancang, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai *molecular sexing* pada Passeriformes .

Primer yang dirancang dari satu spesies untuk suku yang sama yaitu dilakukan oleh Centeno-Cuadros *et al.* (2016) yang merancang primer dari spesies *Griffon Vulture* (*Gyps fulvus*), yaitu untuk mengidentifikasi spesies pada suku Accipitridae lainnya. Primer ini mampu mengidentifikasi jenis kelamin dari spesies berbeda dari suku yang sama. Hal ini dikarenakan kekerabatan antar spesies yang relatif dekat atau tidak terlalu tinggi dan sekuen antar spesies sudah terkonservasi dengan baik (Centeno-Cuadros *et al.*, 2018).

B. Keaslian Penelitian

Penentuan jenis kelamin pada burung dengan metode PCR telah dilakukan Indonesia oleh Yuda (2012) pada Gelatik Jawa (*Padda oryzivora*) yang sulit dibedakan antara individu jantan dan betina, dengan menggunakan primer 2550/2718. Kajian lainnya tentang *molecular sexing* menggunakan metode PCR oleh Wirastika *et al.* (2015) dilakukan untuk identifikasi jenis kelamin pada Jalak Bali (*Leucopsar Rothschildi*) yang bertujuan untuk mendapatkan primer yang paling efektif dari 3 pasang primer P2/P8, 2550/2718, dan 1237L/1272H. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Sitohang (2017), yaitu melakukan penentuan jenis kelamin pada elang jawa (*Nisaetus bartelsi*) dan elang brontok (*N. cirrhatus*) dengan menggunakan 4 pasang primer yaitu P2/P8, 1237/1272, 2250/2718 dan 2561/2728 .

Kajian tentang *molecular sexing* menggunakan metode LAMP telah dilakukan oleh Centeno-Cuadros *et al.* (2016) yaitu mengidentifikasi jenis kelamin pada 3 spesies raptor yaitu *Griffon Vulture (Gyps fulvus)*, *Egyptian Vulture (Neophron percnopterus)*, dan *Black Kite (Milvus migrans)* dengan metode LAMP. Primer yang digunakan yaitu ACCIW untuk mengamplifikasikan *CHD-W* (F3,B3, FIP, dan BIP) dan ACCIZ untuk mengamplifikasikan *CHD-Z* (F3,B3, FIP, dan BIP), yang didesain menggunakan *software Explorer V4* (Chemical, 2000). Kondisi optimum amplifikasi dengan primer ACCIW pada suhu 64°C selama 80 menit dan primer ACCIZ pada suhu 59°C selama 80 menit.

Penelitian *molecular sexing* dengan metode LAMP yang paling baru dilakukan oleh Centeno-Cuadros *et al.* (2017), yaitu menggunakan berbagai primer yang dapat digunakan sebagai primer universal untuk semua burung modern. Salah satu primer yang paling berhasil yaitu NEO-W yang dirancang khusus untuk mengidentifikasi *CHD-W* dan terbukti dapat mengidentifikasi jenis kelamin burung 17 suku dan 10 bangsa.

Molecular sexing dengan menggunakan metode LAMP pernah dilakukan oleh Kim *et al.* (2015) pada anak ayam. Identifikasi jenis kelamin pada anak ayam dilakukan menggunakan genom DNA yang diekstraksi dari sampel darah anak ayam Leghorn dan Korea. Primer yang digunakan terdiri dari 4 primer (B3, F3, BIP, FIP) yang mengamplifikasi daerah target DNA yang spesifik pada gen *CHD-W*. Hasil menunjukkan bahwa sampel betina menunjukkan amplifikasi gen PKCIW yang signifikan.

Kajian tentang *molecular sexing* menggunakan metode LAMP juga dilakukan oleh Chan *et al.* (2012) pada suku Columbidae jenis *Columba livia*. Tujuan penelitian ini menggunakan sepasang primer dengan target ribosom 18S Gen RNA dan primer yang lain dengan target gen spesifik betina. Primer yang digunakan adalah Sex (F3, B3, FIP, BIP) dan 18S (F3, B3, FIP, BIP). Hasil menunjukkan bahwa kondisi LAMP optimal untuk penentuan jenis kelamin yaitu suhu 60⁰C dengan penambahan 8 mM MgSO₄, 1,2 mM dNTPs, 0,6M betaine, 0,2 μM outer primer (F3/B3), 2,4 μM inner primer (FIP/BIP) dan 4 U *Bst polymerase*.

C. Rumusan Masalah Penelitian

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana kemampuan LAMP dan PCR dalam mengidentifikasi jenis kelamin pada bangsa Passeriformes ?
2. Metode apakah yang efektif dalam mengidentifikasi jenis kelamin pada Passeriformes ?
3. Apakah primer yang dirancang dari spesies *Passer montanus* dapat digunakan pada spesies lain pada bangsa Passeriformes ?

D. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui kemampuan LAMP dan PCR dalam mengidentifikasi jenis kelamin pada bangsa Passeriformes
2. Mengetahui metode amplifikasi yang efektif untuk mengidentifikasi jenis kelamin pada Passeriformes
3. Mengetahui kemampuan primer yang dirancang dari *Passer montanus* untuk amplifikasi jenis spesies lain pada bangsa Passeriformes.

E. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adanya pengetahuan mengenai kondisi optimum pada metode amplifikasi LAMP yang digunakan dalam *molecular sexing* burung bangsa Passeriformes serta pengetahuan tentang metode penentuan jenis kelamin yang tepat, cepat, dan mudah dilakukan.