

# SKRIPSI

## ***Molecular Sexing* pada Aves dengan Sumber DNA dari Pengambilan Sampel secara Invasif dan Non-invasif**

Disusun oleh:  
Yohana Nina Ke Lomi  
NPM: 160801773



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
YOGYAKARTA  
2020



Berdasarkan hasil pada Tabel 2, dapat diketahui bahwa sampel membran cangkang telur merupakan sampel yang dapat dijadikan sumber DNA yang berkualitas, namun harus memperhatikan kesegaran dari sampel sehingga kualitas DNA dapat terjaga. Sampel bulu yang memiliki kualitas DNA yang cukup rendah yang disebabkan oleh faktor lingkungan. Sampel swab menjadi sumber DNA alternatif yang dapat menggantikan sumber DNA invasif karena memiliki kualitas DNA yang tinggi dan juga alat yang digunakan dalam pengambilan sampel cukup mudah didapatkan, akan tetapi teknik pengambilan sampel swab harus dikaji lagi karena adanya penanganan dalam pengambilan sampel. Pengambilan sampel darah cukup beresiko untuk burung berukuran kecil namun dapat digunakan pada burung berukuran besar, akan tetapi harus memerlukan pelatihan dan sebaiknya hanya dilakukan oleh profesional.

### **Simpulan/Conclusion**

Sampel cangkang telur, sampel bulu, sampel *swab* dapat digunakan sebagai alternatif sumber DNA dalam menentukan jenis kelamin dari burung yang terancam punah ataupun burung yang berukuran kecil. Akan tetapi, harus memperhatikan hal-hal yang dapat mempengaruhi kualitas DNA seperti kesegaran sampel DNA ataupun faktor lingkungan lainnya sehingga kualitas DNA yang akan diperoleh tetap terjaga. Pengambilan sampel DNA dengan *swab* harus dikaji lagi, karena masih adanya penanganan pada hewan uji sehingga berisiko dalam meningkatkan stres pada hewan uji. Sampel darah memiliki kualitas DNA yang tinggi, namun pada pengambilan sampel akan berisiko kematian pada burung yang berukuran kecil atau terancam punah.

### Daftar Pustaka/Bibliography

- Akrom, M. M., Soedarmanto, I., Yanuartono., Susmiati, T., Nururrozi, A., Raharjo, S. 2020. Penentuan jenis kelamin burung Kenari (*Serinus canaria*) berdasarkan gen *Chromodomain Helicase DNA-Binding 1* (CHD1). *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia* 7(1): 1-8.
- Akrom, A. M., Indarjulianto, S., Yanuartono., Susmiati, T., Nururrozi, A., Raharjo, S., Permana, R. G. S., dan Sitompul, Y. Y. 2020. *Swab* Bukal sebagai bahan *sexing* Piyikan burung Kenari (*Serinus canaria*) dan burung Merpati (*Columbia livia*). *Jurnal Sains Veteriner* 38(1): 31-36.
- Asawakarn, S., Teranuwat, I., Watcharaprapong, N., Siritwatchaiporn, N., Somsai, P., Kuldae, M., Suriyaphol, G., dan Ghitavat, S. 2018. Comparison of dried blood spot, buccal *swab*, cloacal *swab* and feces as DNA source to identify avian sexes by PCR. *Thai J Vet Med* 48(3):325-330.
- Banhos, A., Hrbek, T., Gravena, W., Sanaiotti, T., & Farias, I. P. 2008. Genomic resources for the conservation and management of the harpy eagle (*Harpia harpyja*, Falconiformes, Accipitridae). *Genetics and Molecular Biology* 31(1): 146–154.
- Begović, L., Mihić, I., Pospihalj, T., Mikuška, T., Mlinarić, S., & Mikuška, A. 2017. Evaluation of methods for molecular sex-typing of three heron species from different DNA sources. *Turkish Journal of Zoology* 41(4): 593–598.
- Bosnjak, J., Stevanov-Pavlovic, M., Vucicevic, M., Stevanovic, J., Simeunovic, P., Resanovic, R., & Stanimirovic, Z. 2013. Feasibility of non-invasive molecular method for sexing of parrots. *Pakistan Journal of Zoology* 45(3): 715–720.
- Brinkman, T. J., Schwartz, M. K., Person, D. K., Pilgrim, K. L., & Hundertmark, K. J. 2010. Effects of time and rainfall on PCR success using DNA extracted from deer fecal pellets. *Conservation Genetics* 11(4): 1547–1552.
- Brown, M. B., & Brown, C. R. 2009. Blood Sampling Reduces Annual Survival in Cliff Swallows (*Petrochelidon pyrrhonota*). *The Auk* 126(4): 853–861.
- Çakmak, E., Akın Pekşen, Ç., & Bilgin, C. C. 2017. Comparison of three different primer sets for sexing birds. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 29(1): 59–63.
- Cerit, H., dan Avanus, K. 2007. Sex identification in avian species using DNA typing methods. *World's Poultry Science Journal* 63(01): 91–100.

- Dai, Y., Lin, Q., Fang, W., Zhou, X., & Chen, X. 2015. Noninvasive and nondestructive sampling for avian microsatellite genotyping: A case study on the vulnerable Chinese Egret (*Egretta eulophotes*). *Avian Research* 6(1): 1–9.
- Demeke, T., & Jenkins, G. R. 2010. Influence of DNA extraction methods, PCR inhibitors and quantification methods on real-time PCR assay of biotechnology-derived traits. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396(6): 1977–1990.
- Fitriani, Y. 2014. Identifikasi Gen CHDZ dan CHDW Berbasis Bulu pada Burung Parkit (*Melopsittacus undulates*) untuk Menentukan Jenis Kelamin dengan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *Skripsi S1*, Surabaya.
- Fridolfsson, A., dan Ellegren. 1999. A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of Avian Biology* 30: 116-121.
- Griffiths, R., dan Korn, R. 1997. A CHD1 gene is Z chromosome linked in the chicken *Gallus domesticus*. *Gene* 197(1): 225-229.
- Handel, C. M., Pajot, L. M., Talbot, S. L., & Sage, G. K. 2006. Use of Buccal Swabs for Sampling DNA from Nestling and Adult Birds. *Wildlife Society Bulletin* 34(4): 1094–1100.
- Handoyo, D., dan Rudiretna, A., 2001. Prinsip umum dan pelaksanaan polymerase chain reaction (PCR). *Unitas* 9(1): 17-29.
- Harvey, M. G., Bonter, D. N., Stenzler, L. M., dan Lovette, I. J. 2006. A comparison of plucked feathers versus blood samples as DNA source for molecular sexing. *J. Field Ornithol* 77(2): 136-140.
- Horváth, M. B., Martínez-Cruz, B., Negro, J. J., Kalmár, L., & Godoy, J. A. 2005. An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds. *Journal of Avian Biology* 36(1): 84–88.
- Karaceylan, I. B., Tabur, M. A. 2018. Comparing different molecular sampling methods from birds via molecular sexing. *Fresenius Environmental Bulletin* 27(2): 703–709. Harvey, M. G., Bonter, D. N., Stenzler, L. M., dan Lovette, I. J. 2006. A comparison of plucked feathers versus blood samples as DNA source for molecular sexing. *J. Field Ornithol* 77(2): 136-140..
- Khaerunnisa, I., Sari, E., Ulfah, M., Jakaria, & Sumantri, C. 2013. Avian sex determination based on chromo helicase DNA-binding (CHD) genes using polymerase chain reaction (PCR). *Media Peternakan* 36(2): 85–90.
- Lu, Y., Tan, F., Zhao, Y., Zhou, S., Chen, X., Hu, Y., dan Zhou, D. X. 2020. A chromodomain-helicase-DNA-binding factor function in chromatin modification and gene regulation. *Plant Physiology* 183(3): 1035-1046.

- Maia, T. A., Vilaça, S. T., da Silva, L. R., Santos, F. R., & Dantas, G. P. de M. 2017. DNA sampling from eggshells and microsatellite genotyping in rare tropical birds: Case study on Brazilian Merganser. *Genetics and Molecular Biology* 40(4): 808–812.
- Montanari, S. 2018. Cracking the egg: the use of modern and fossil eggs for ecological, environmental and biological interpretation. *Royal Society Open Science* 5(6):1-14.
- Pamulang, Y. V., dan Haryanto, A. 2021. Short communication: molecular sexing on Kutilang (*Pycnonotus sp.*) based on amplification of CHD-Z and CHD-W gene by using polymerase chain reaction method. *Biodiversitas* 22(1): 449-452.
- Pearce, J. M., Fields, R. L. dan Scribner, K. T. 1997. Nest materials as a source of genetic data for avian ecological studies. *Journal of Field Ornithology* 68(3): 471-481.
- Peters, C., Nelson, H., Rusk, B., & Muir, A. 2020. A novel method to optimise the utility of underused moulted plumulaceous feather samples for genetic analysis in bird conservation. *Conservation Genetics Resources* 12(3): 457–467.
- Price, G. L., dan Birch, T. 1996. Repeated evolution of sexual color dimorphism in Passerine birds. *The Auk* 113(4): 842–848.
- Putri, N. P. P. E., & Junitha, I. K. 2015. Kualitas Dan Kuantitas Dna Darah Kering Pada Besi Dan Kayu Yang Disimpan Dalam Kurun Waktu Berbeda. *Jurnal Biologi Udayana* 19(1) 21–24.
- Quintana, F., Gabriela C.L, Gustavo S. 2008. A cheap and quick method for DNA-based sexing of birds. *Waterbirds* 31 (3) :485-488.
- Saputra, A. W., & Yuda, P. 2020. Low genetic diversity and no genetic differentiation between maleo hatched at coastal and inland nesting grounds in North Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas* 21(10): 4772–4777.
- Seki, I. 2003. Molecular sexing of individual Ryukyu Robins *Erithacus komadori* using buccal cells as a non-invasive source DNA. *Ornithol Sci.* 2: 135-137.
- Sheldon, L. D., Chin, E. H., Gill, S. A., Schmaltz, G., Newman, A. E. M., & Soma, K. K. 2008. Effects of blood collection on wild birds: An update. *Journal of Avian Biology* 39(4): 369-378.
- Stevanov-Pavlovic, M., Vucicevic, M., Bosnjak, J., Stevanovic, J., Dimitrijevic, V., Resanovic, R., & Stanimirovic, Z. 2013. Molecular sex determination of 20 bird species protected in the Republic of Serbia. *Acta Veterinaria* 63(1): 45–51.

- Strausberger, B. M., dan Ashley, M. V. 2001. Eggs yield nuclear DNA from egg-laying female cowbirds, their embryos and offspring. *Conservation Genetics* 2: 3850-3990.
- Vilstrup, J. T., Mullins, T. D., Miller, M. P., McDearman, W., Walters, J. R., & Haig, S. M. 2018. A simplified field protocol for genetic sampling of birds using buccal swabs. *The Wilson Journal of Ornithology* 130(1): 326–334.
- Yannic, G., Sermier, R., Aebischer, A., Gavriilo, M. V., Gilg, O., Miljeteig, C., Sabard, B., Strøm, H., Pouivé, E., & Broquet, T. 2011. Description of microsatellite markers and genotyping performances using feathers and buccal swabs for the Ivory gull (*Pagophila eburnea*). *Molecular Ecology Resources*, 11(5): 877–889.
- Yuda, P., & Saputra, A. W. 2020. Eggshell membrane for DNA sexing of the endangered Maleo (*Macrocephalon maleo*). *F1000 Research* 9(1):1-12.
- Yuda, P., Kinanti, R., & Wijaya, A. 2020. Use of swab for DNA sampling from confiscated raptors for molecular sexing. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 590: 1-5.
- Zein, M. S. A., Haryoko, T., Fitriana, Y. S., Sulistyadi, E., & Prawiradilaga, D. M. (2017). Aplikasi Kajian DNA Molekuler dan Fenotipik Pada Program Pelepasliaran Burung Kakatua. *Jurnal Biologi Indonesia*, 13(1), 157–169.





## LAMPIRAN

### Template 1

<i>No.Ref</i>	<i>Ringkasan dan tinjauan kritis</i>
1.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b></p> <p>Asawakarn, S., Teranuwat, I., Watcharaprapapong, N., Siriwatchaiporn, N., Somsai, P., Kuldae, M., Suriyaphol, G., dan Ghitavat, S. 2018. Comparison of dried blood spot, buccal <i>swab</i>, cloacal swab and feces as DNA source to identify avian sexes by PCR. <i>Thai J Vet Med</i> 48(3):325-330.            Web: <a href="https://search.proquest.com/docview/2117834579?accountid=44396">https://search.proquest.com/docview/2117834579?accountid=44396</a></p> <p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Burung termasuk dalam jenis monomorfik yang sulit dibedakan jenis kelamin berdasarkan morfologis.</li> <li>- Teknik identifikasi jenis kelamin berdasarkan sifat morfologi pada beberapa burung sangat sulit dan memiliki resiko kesalahan yang tinggi. Oleh karena itu, memerlukan metode identifikasi jenis kelamin yang akurat yaitu teknik molekuler.</li> <li>- Beberapa sumber DNA invasive maupun non invasive belum dikaji untuk mengetahui sumber DNA mana yang memiliki tingkat keakuratan yang tinggi dalam identifikasi jenis kelamin burung.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Membandingkan keakuratan sumber DNA dalam identifikasi jenis kelamin burung dengan PCR dengan sumber DNA yaitu darah kering, <i>swab</i> trakea, <i>swab</i> kloaka dan feses.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sumber DNA mana yang memiliki keakuratan yang tinggi dalam identifikasi jenis kelamin burung dengan PCR dengan sumber DNA yaitu darah kering, <i>swab</i> trakea, <i>swab</i> kloaka dan feses?</li> </ul> <p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Teknik molekuler untuk penentuan jenis kelamin burung menggunakan gen CHD yang terletak pada kromosom homolog Z (CHD-Z) dan W (CHD-W)</li> <li>- Pengambilan sampel darah termasuk dalam teknik yang cukup invasive yang dapat meningkatkan stress pada unggas dan dapat mempengaruhi kehidupan pada burung kecil. Sedangkan, pengambilan sampel DNA dengan <i>swab</i> trakea, <i>swab</i> kloaka dan feses termasuk dalam teknik non-invasif yang dapat mengurangi stress hewan selama pengumpulan sampel.</li> </ul> <p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b></p> <p><b>Waktu penelitian:</b> Tahun 2018</p> <p><b>Jumlah sampel:</b>            Total 139 sample yang diambil dari ayam petarung dan 12 sampel dari Sun</p>

Conure (*Aratinga solstitialis*) dari segala usian jenis kelamin. Diantara 151 sampel tersebut berasal dari 50 *swab* trakea, 53 *swab* kloaka, 24 sampe feses dan 24 sampel darah kering.

**Pengumpulan Sampel:**

- Sel-sel epitel di trakea diambil dengan menggulung aplikator steril (*cotton swab*) dibagian dalam mulut dan tenggorokan selama  $\pm$  10 detik, lalu setiap *swab* ditempatkan dalam tabung microcentrifuge yang mengandung 10,9 NaCl.
- Sel-sel epitel di kloaka diambil dengan menggulung dibagian dalam mulut dan tenggorokan selama  $\pm$  10 detik, lalu setiap *swab* ditempatkan dalam tabung microcentrifuge yang mengandung 10,9 NaCl.
- Sampel feses sebanyak 24 sampel dibagi menjadi dua kelompok, yaitu 16 sampel dengan urat dan 8 sampel tanpa urat. Setiap satu gram sampel feses ditempatkan ke dalam tabung centrifuge yang mengandung 95% etanol. Semua sampel disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  sebelum ekstraksi DNA genom.
- Sampel darah dikumpulkan dengan kertas saring (kertas saring Whatman grade 1, GE healthcare, Buckinghamshire, UK). Setiap bercak darah dalam kertas saring dipotong  $2 \times 2 \text{ mm}^2$ , difiksasi dengan methanol selama 20 menit dan dikeringkan dengan udara selama 20 menit.

**Ekstraksi DNA:**

- DNA genom diekstraksi dari sampel *swab* trakea dan kloaka mengikuti protocol kit Presto™ buccal swab fDNA extraction kit (Geneaid Cat. No. GSK100).
- DNA dari sampel feses diisolasi menggunakan QIAamp® fast DNA stool mini b.kkit (Qiagen Cat. No. 51640), mengikuti protocol kit polymerase.

**Amplifikasi PCR:**

- Primer yang digunakan adalah 2550F dan 2718R. Reaksi PCR dilakukan dalam volume akhir 25  $\mu\text{l}$  yang mengandung 5 picomoles di setiap primer.
- Profil thermal hanya untuk sampel bercak darah kering terdiri dari denaturasi awal pada  $94^{\circ}\text{C}$  selama 2 menit, kemudian 30 siklus pada suhu  $94^{\circ}\text{C}$  selama 30 detik,  $50^{\circ}\text{C}$  selama 30 detik dan  $72^{\circ}\text{C}$  selama 45 detik dan berakhir dengan  $72^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit.
- DNA dari sampel *swab* trakea, *swab* kloaka dan feses diukur dengan nanodrop 1000 spektrofotometer (Thermo scientific, CA, USA).
- Hasil PCR dipisahkan dengan pisahkan oleh agarose 1 % dengan ethidium bromide dalam buffer 1xTris-asetat-EDTA (TAE) pada 120V selama 30 menit.
- DNA ladder 0,5  $\mu\text{g}$  dimuat dan digunakan sebagai penanda.
- Hasil PCR dapat divisualisasi oleh sinar UV.
- Pasangan primer menghasilkan satu pita untuk menunjukkan jenis kelamin jantan, sedangkan dua pita untuk betina.

**Temuan dan Hasil**

- Tingkat keberhasilan pada sampel darah kering sebesar 100% pada disemua sampel (n=24), pada sampel *swab* trakea sebesar 74% (n=50), *swab* kloaka sebesar 75,47% (n=53) dan feses sebesar 29,71% (n=24).
- Kelompok sampel feses dengan urat dan tanpa urat mampu mengidentifikasi jenis kelamin dengan tingkat keberhasilan masing-masing 18,75% (n=16) dan

	<p>50% (n=8).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Penentuan jenis kelamin dari sampel darah kering menunjukkan 9 jantan dan 15 wanita, sampel <i>swab</i> trakea mengidentifikasi 12 jantan dan 25 betina, sampel <i>swab</i> trakea mengidentifikasi 11 jantan dan 29 betina dan sampel feses mengidentifikasi 3 jantan dan 4 betina.</li> <li>- Jumlah genom DNA yang diekstraksi dari <i>swab</i> trakea, <i>swab</i> kloaka dan sampel feses masing-masing adalah <math>28,813 \pm 7,222</math> ng/<math>\mu</math>l, <math>71,975 \pm 7,620</math> ng/<math>\mu</math>l dan <math>73,035 \pm 12,404</math> ng/<math>\mu</math>l.</li> <li>- Kemurnian genom DNA dari sampel <i>swab</i> trakea, <i>swab</i> kloaka dan sampel feses masing-masing adalah <math>2,081 \pm 0,084</math>, <math>1,666 \pm 0,089</math> dan <math>2,096 \pm 0,145</math>.</li> <li>- Sensitivitas sampel <i>swab</i> trakea sebesar 75%, sampel <i>swab</i> kloaka sebesar 91,67% dan sampel feses sebesar 33,33%.</li> <li>- Identifikasi unggas dari bercak darah kering memberikan tingkat keberhasilan tertinggi, tetapi mungkin tidak sesuai pada burung yang bersarang. Selain itu, tingkat keberhasilan dari metode yang menggunakan sampel <i>swab</i> trakea dan <i>swab</i> kloaka tidak cukup signifikan secara statistik untuk menjadikannya sampel yang efisien untuk metode non-invasif untuk jenis kelamin burung. Sampel feses memberikan tingkat keberhasilan dan sensitivitas paling sedikit karena ada banyak jenis penghambat PCR.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak dijelaskan mengenai cara untuk mengetahui kemurniaan genom DNA.</li> <li>- Tidak diketahui pasti berapa kali kapas <i>swab</i> digulung di dalam trakea dan kloaka.</li> <li>- Sampel feses yang digunakan tidak diketahui apakah sampel yang sudah kering atau yang masih basah.</li> <li>- Tidak diketahui dari bagian mana pada tubuh burung yang diambil sebagai sampel darah.</li> </ul>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Praktis)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Memberikan alternatif pengambilan sampel DNA yang non-invasif menggantikan teknik pengambilan DNA yang invasif yang dapat mengurangi stress pada burung terutama pada burung-burung kecil atau bersarang.</li> <li>- Memberikan jawaban dalam studi mengenai sumber DNA yang memiliki keakuratan tertinggi dalam identifikasi jenis kelamin dari unggas.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1. Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b> Perbandingan beberapa sumber DNA untuk identifikasi jenis kelamin unggas</p>
	<p><b>2. Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biologi Konservasi</li> <li>- Molecular Sexing</li> <li>- Teknologi DNA</li> </ul>
	<p><b>3. Lain-lain</b></p>

2.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Begović, L. Mihić, I., Pospihalj, T., Mikuška, T., Mlinarić, S., dan Mikuška, A. 2017. Evaluation of methods for molecular sex-typing of three heron species from different DNA source. <i>Turkish Journal of Zoology</i> 41: 593-598.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bird ringing telah digunakan selama lebih dari satu abad untuk mempelajari migrasi dan biologi burung, dan bahkan hari ini cincin ini merupakan salah satu alat penting dalam studi burung.</li> <li>- Nilai data bird ringing dapat meningkat jika data untuk individu yang terhubung digabungkan dengan informasi jenis kelamin.</li> <li>- Analisis genetik non-invasif dapat memberikan informasi tentang jenis kelamin burung, demografi populasi, dan perilaku ekologi.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mengevaluasi metode untuk ekstraksi DNA dan identifikasi jenis kelamin secara molekuler dengan menggunakan sampel non-invasif pada tiga spesies bangau.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Metode ekstraksi DNA manakah yang paling bisa diandalkan dalam identifikasi jenis kelamin secara molekuler dengan menggunakan sampel non-invasif pada tiga spesies bangau?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Burung air kolonial, seperti bangau, adalah sekelompok burung yang kelangsungan hidupnya tergantung pada tingkat dan kualitas habitat lahan basah.</li> <li>- Untuk mempelajari migrasi dan musim dingin mereka, pemantauan rutin dan penandaan populasi pemuliaan dilakukan selama 10 tahun terakhir</li> </ul>
	<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b>  <b>Waktu penelitian:</b> Tahun 2015  <b>Lokasi Pengambilan Sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bagian benua Kroasia dari koloni-koloni Čošak Šume (Kopački Rit Nature Park, 45°38.15'N, 18°50.76'E).</li> <li>- Kolam ikan Jelas (dekat sungai Sava, 45°08.27'N, 17°48.08'E).</li> </ul> <p><b>Jumlah Sampel:</b> Tiga spesies, yaitu burung Kuntul Besar (<i>Ardea alba</i>), Kuntul Ungu (<i>Ardea purpurea</i>), dan Kuntul Abu-abu (<i>Ardea cinerea</i>).</p> <p><b>Pengumpulan Sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- sampel non-invasif dari bulu yang molting dan kulit telur, disekitar sarang burung kuntul besar dan kuntul abu-abu.</li> <li>- Sampel disimpan dalam amplop kertas pada suhu kamar dan disimpan secara terpisah untuk menghindari kontaminasi silang.</li> </ul> <p><b>Isolasi DNA genom:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Isolasi DNA dari masing-masing jenis sampel dilakukan dua kali.</li> <li>- DNA ditempatkan dalam dua tabung terpisah dan kemudian digunakan dalam dua protokol ekstraksi yang berbeda.</li> <li>- Ujung bulu dari masing-masing sarang dipotong menjadi 3-5 mm.</li> <li>- Calamus dari bulu kontur (molting) dipotong menjadi dua dan ditempatkan menjadi dua tabung terpisah. Dari kulit telur, sepotong membran vaskularisasi dieksisi dan dipotong menjadi fragmen yang lebih kecil. Dari kulit telur yang sama, permukaan luar diseka dengan tip kapas.</li> <li>- DNA genom diisolasi menggunakan DNeasy Blood and Tissue Kit</li> </ul>

	<p>(QIAGEN, Germany) dan protokol standar untuk isolasi DNA menurut De Volo dkk. (2008).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kuantitas DNA (konsentrasi) dan kualitas (A260/A280) diukur menggunakan NanoPhotometer (Implen GmbH, Jerman).</li> </ul>
	<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bulu dan kulit telur menyediakan cukup DNA untuk identifikasi jenis kelamin secara molekuler.</li> <li>- Isolasi DNA dengan protokol standar memberikan lebih banyak DNA genomik dari bulu pin (413–2780 ng / <math>\mu</math>L) dan bulu kontur (3–58 ng / <math>\mu</math>L), kulit telur (50–473 ng / <math>\mu</math>L), dan cangkang kulit telur (23– 30 ng / <math>\mu</math>L) bila dibandingkan dengan isolasi dengan kit komersial.</li> <li>- dua protokol isolasi dibandingkan, hasil menunjukkan bahwa hasil DNA tertinggi diperoleh dari bulu pin dan hasil terendah dari bulu molting.</li> <li>- Prosedur isolasi tidak mempengaruhi kualitas DNA (rasio A260/A280) dalam bulu (molting dan pin) atau kulit telur.</li> <li>- Semua sampel memiliki kualitas DNA yang relatif baik (1,8-2,0) kecuali untuk penyeka dan satu kulit telur, dan dua sampel ini memiliki kualitas DNA yang lebih rendah (0,610-1,639).</li> <li>- Set primer 2550F dan 2718R efisien dalam identifikasi jenis kelamin kuntul untuk kedua protokol ekstraksi.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kurang dilengkapi dengan proses amplifikasi dengan PCR dari kedua metode ekstraksi DNA.</li> <li>- Jumlah bulu yang diambil tidak tertera.</li> </ul>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Praktis)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dapat mengetahui keandalan sampel bulu yang molting, bulu pin ataupun cangkang telur dalam identifikasi jenis kelamin burung.</li> <li>- mengetahui metode ekstraksi DNA mana yang dapat mengekstraksi DNA dari ketiga sampel dengan baik.</li> <li>- Mengetahui set primer yang efisien dalam identifikasi jenis kelamin kuntul.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Penggunaan sampel non-invasiv dalam identifikasi jenis kelamin burung.</li> <li>– Sampel non-invasif yang dapat dimanfaatkan untuk <i>molecular sexing</i>.</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Molecular sexing</i></li> <li>- Teknologi DNA</li> </ul>
	<p><b>Lain-lain</b></p>
3.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b></p> <p>Karaceylan, I. B., dan Tabur, M. A. 2018. Comparing different molecular sampling methods from birds via molecular sexing. <i>Fresensius Environment Bulletin</i> 27(2):703-709.</p>

**Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian**

- Bahan biologis yang mengandung DNA seperti darah, sampel jaringan, rambut, bulu yang terlepas, feses, dan saliva dapat digunakan untuk mengukur keragaman genetic.
- Sampel-sampel tersebut dapat mengidentifikasi spesies yang sulit dijangkau, mengidentifikasi jenis kelamin, kebiasaan makan, keragaman genetic, struktur populasi dan perilaku reproduktif.

**Tujuan:**

- Membandingkan metode pengambilan sampel genetic yang berbeda dari burung berdasarkan keberhasilan penerapan gen CHD untuk mengidentifikasi jenis kelamin burung.

**Pertanyaan Penelitian:**

- Sampel genetic mana yang memiliki tingkat keberhasilan tertinggi dalam identifikasi jenis kelamin burung?

**Kerangka Teori/Konseptual**

- Pengambilan sampel genetic non-invasif adalah penting dalam studi molekuler burung. Namun, kekurangannya adalah sampel yang diperoleh memiliki kualitas rendah dan jumlah DNA rendah.
- Kualitas DNA yang terkandung dalam darah memiliki kualitas yang tinggi dibandingkan dengan bulu.
- Pengambilan darah yang bersifat invasif untuk mendapatkan DNA dapat menyebabkan stres atau bahkan merusak populasi untuk mendapatkan materi DNA dari spesies yang terancam punah, namun pengambilan sampel non destruktif dari bulu dapat memberikan informasi genetic yang cukup digunakan sebagai pengganti pengambilan darah.

**Metode Penelitian, Sampel, Variabel**

**Waktu Penelitian:** Tahun 2018

**Sampel:**

- Tiga sampel berbeda dari bulu yang meranggas yang ditemukan disekitar danau Burdur, bulu yang dipetik dan sampel darah. Bulu yang meranggas berasal dari ruddy shelduck (*Tadorna ferruginea*) sebanyak 74 buah, ditemukan sepanjang 5-15 meter pertama dari danau tanpa menginvasi spesies.
- Pengambilan sampel non destruktif dilakukan dengan mencabuti bulu dada dari ayam (*gallus gallus*) sebanyak 12 buah yang tumbuh di Suleyman Demirel University Agricultural Research and Application Center.
- Sampel darah dikumpulkan dari ayam yang euthanasia sebagai bagian dari penelitian lain.

**Ekstraksi DNA:**

- Percobaan pertama Ekstraksi DNA dengan Phenol Chlo-roform Isoamyl Alcohol, namun tidak menghasilkan DNA bulu yang meranggas. Percobaan diulangi dengan DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN) dan digunakan untuk percobaan selanjutnya.
- Sampel bulu ruddy shelduck sekitar 1-2 cm dan sampel bulu ayam dengan ukuran 0,5-1 cm dipotong dengan lancet steril dan ditempatkan dalam

	<p>wadah.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Untuk ekstraksi dengan Phenol Chlo-roform Isoamyl Alcohol, buffer lisis disiapkan dengan 500 <math>\mu</math>L TNE 1X (H<sub>2</sub>O, 50 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 6.3 mM EDTA), 8% SDS dan 10 unit proteinase K. Sampel diinkubasi selama seminggu di dalam buffer pada suhu 37°C and 5 unit proteinase K ditambahkan setiap hari.</li> <li>- Versi berbeda dari metode ini dengan menggunakan berbagai konsentrasi larutan. Ditambahkan DTT (dithiothreitol) ke dalam buffer dan digunakan waktu lisis yang berbeda dan suhu lisis yang berbeda juga dicoba.</li> <li>- Ekstraksi darah dengan DNeasy Blood &amp; Tissue Kit. Dua metode digunakan dalam amplifikasi ekstrak DNA. Pasangan primer yang digunakan yaitu 2550F-2718R.</li> <li>- Hasil PCR sebanyak 5 <math>\mu</math>l dicampur dengan 1 <math>\mu</math>l <i>loading dye</i> dan diisi ke dalam gel agarose 3% dengan ladder GeneRuler 100bp (Thermo). Setelah eletroforesis, gel dilihat hasilnya di UV imager.</li> </ul>
	<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak dapat mengekstrak DNA dari bulu ruddy shelduck (<i>Tadorna ferruginea</i>) yang meranggas yang diambil disekitar Danau Burdur dengan Phenol:Chloroform:IAA, nor Qiagen DNeasy Blood &amp; Tissue Kit. Walaupun setelah dicoba kembali namun tetap tidak ada pita DNA.</li> <li>- Ekstraksi DNA dari kedua bulu yang dipetik menghasilkan 10 betina dan 2 jantan dan sampel darah teridentifikasi 2 betina. Sampel darah menghasilkan pita yang tebal pada gel dan menunjukkan jumlah DNA yang tinggi.</li> <li>- Memiliki tingkat kesuksesan yang tinggi dalam identifikasi jenis kelamin burung dengan menggunakan Hot start PCR dengan primer 2550F/2718R.</li> <li>- Konsentrasi DNA dari sampel darah dan hasil PCR lebih tinggi dibandingkan dengan bulu yang dipetik.</li> <li>- Kualitas sampel DNA yang diperoleh dari darah memiliki keuntungan daripada sample yang non-destruktif yaitu sampel bulu yang dipetik karena diperlukan dalam studi di laboratorium. Namun, sampel bulu yang dipetik menyediakan DNA yang cukup untuk digunakan dalam studi molekuler.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- DNA dari Bulu burung ruddy shelduck (<i>Tadorna ferruginea</i>) tidak ditemukan karena mungkin bulu burung telah terpapar sinar matahari dan karena karakteristik danau yang memiliki kandungan basa yang tinggi dan mengandung garam sehingga berdampak negative bagi bulu yang meranggas.</li> </ul>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Praktis)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Memberikan informasi mengenai pemilihan sumber DNA yang cocok dalam penelitian.</li> <li>- Memberikan informasi kepada peneliti tentang pengambilan sampel non-invasif dan mempertimbangkan tentang sampel non-konstruktif seperti bulu yang dipetik sebagai pengganti pengambilan sampel darah.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <p>Membandingkan mengenai sampel DNA yang dari bulu (yang sudah meranggas maupun bulu yang dipetik) dan darah.</p>

	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Molecular Sexing</i></li> <li>- Konservasi burung</li> </ul>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

4.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Ravindran, S., Woo, W. K., Saufi, S., Amni, W. N., Hamid, N. H., Abidin, C. M., Ishak, I., Azzam, G., dan Salim, H. 2019. Molecular sexing of southeast Asian barn owl, <i>Tyto alba javanica</i>, using blood and feather. <i>Tropical Life Science Research</i> 30(2):13-23.  DOI: <a href="https://doi.org/10.21315/tlsr2019.30.2.2">https://doi.org/10.21315/tlsr2019.30.2.2</a></p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kemampuan untuk mengidentifikasi jenis kelamin penting dalam program penangkaran hewan atau restorasi spesies yang terancam punah dan dilindungi.</li> <li>- Barn owl (<i>Tyto alba javanica</i>) bersifat monomorfik. Identifikasi jenis kelamin penting dalam konservasi Barn owl dan program pemuliaan yaitu menyebabkan pelepasan jantan dan betina yang dikonfirmasi sehingga memastikan pembiakan dan perkembangbiakan yang sukses.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mengetahui pasangan primer dan sumber DNA yang lebih efisien dan akurat untuk mengidentifikasi jenis kelamin barn owl (<i>Tyto alba javanica</i>).</li> <li>- Membandingkan pengurutan gen CHD dari Barn owl (<i>Tyto alba javanica</i>) di Genbank untuk mengetahui kesamaan antara gen CHD dari kedua subspecies.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pasangan primer dan sumber DNA manakah yang lebih efisien dan akurat untuk mengidentifikasi jenis kelamin barn owl (<i>Tyto alba javanica</i>)?</li> <li>- Bagaimana perbandingan urutan gen CHD dari barn owl (<i>Tyto alba javanica</i>) di Genbank untuk membandingkan kesamaan antara gen CHD kedua subspecies?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Burung berusia juvenile dan beberapa individu dewasa, sulit untuk dibedakan jenis kelaminnya karena bersifat monomorfik.</li> <li>- Penentuan jenis kelamin menggunakan polymerase chain reaction (PCR) banyak digunakan karena memiliki akurasi yang tinggi dan reproduktifitas dibandingkan dengan data morfologis.</li> <li>- Sampel DNA yang paling umum yaitu dari darah dan bulu karena sampelnya relative mudah diperoleh dan kurang rentan terhadap kontaminasi silang.</li> <li>- Gen Chromo-helicase-DNA-binding (CHD) ditemukan hadir dalam kromosom Z (CHD-Z) dan W (CHD-W) pada sebagian besar burung non-ratite dengan panjang intron yang berbeda sehingga dijadikan penanda yang cocok.</li> <li>- Pasangan primer yang dikembangkan untuk menentukan jenis kelamin</li> </ul>



burung yang paling umum adalah P2/P8 dan 2550F/2718R.

### **Metode Penelitian, Sampel, Variabel**

**Waktu penelitian:** Tahun 2019

**Lokasi Penelitian:** Perkebunan kelapa sawit di Jengka, Pahang, Malaysia (3.7685° N, 102.5454° E) dan analisis sampe di Laboratorium molekuler University Sains Malaysia

**Total sampel:** 6 sampel Barn Owls (*Tyto alba javanica*)

#### **Pengumpulan sampel:**

- Kepala burung hantu ditutup dengan bahan kain agar burung tetap tenang dalam pengambilan sampel darah dan bulu.
- Pada setiap individu, diambil darah kira-kira 1 ml dari vena basilica menggunakan syringe 25 steril.
- Darah ditempatkan ke dalam tabung Vacutainer® (BD, New Jersey) yang mengandung EDTA untuk mencegah pembekuan darah.
- Darah disimpan di *freezer* pada suhu -20°C
- Sampel bulu dipetik didua bagian yaitu bagian ventral (bawah) pada bagian sayap dan bagian dada, kemudian dimasukkan kedalam wadah yang mendandung etanol absolute.

#### **Ekstraksi DNA darah:**

- Ekstraksi DNA darah menggunakan Qiagen DNeasy® Blood and Tissue Kit (Hilden, Germany).
- Konsentrasi diukur dengan SmartSpec Plus Spectrophotometer (Bio-Rad Laboratories, California).

#### **Ekstraksi DNA bulu:**

- DNA bulu diekstraksi dengan metode ekstraksi rapid alkaline. Sampel bulu masing-masing dipotong gunting kutikula yang disterilkan dan dimasukkan kedalam tabun Eppendorf 1,5 mL.
- 20 µL NaOH 0,2M ditambahkan ke setiap tabung dan ditempatkan dalam *waterbath* pada suhu 75°C selama 20 menit.
- 80 µL larutan Tris-HCl 0,04M pH 7,6 ditambahkan ke setiap tabung dan disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 3 menit dan disimpan dalam freezer -20°C.

#### **PCR dan Gel Elektroforesis**

- Pasangan primer yang digunakan yaitu P2/P8 dan 2550F dan 2718R dengan PCR.
- Reaksi 20 µL Buffer 1X (75 mM Tris, 20 mM Ammonium sulfat, 0,1% Tween-20 dan 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>), 1 µL Pfu-SSO7d polymerase.
- Masing-masing primer diambil 1 µM dan 250 µM dNTP yang digunakan. Untuk cetakan DNA, 100 ng DNA yang diekstraksi, 1 µL bulu yang terekstraksi atau 1 µL darah diencerkan 1:50 dalam PBS.
- Reaksi PCR terdiri dari tahap predenaturasi selama 5 menit pada suhu 98°C, diikuti dengan tahap denaturasi 35 siklus (untuk bulu 40 siklus) pada suhu 95°C selama 30 detik, tahap *annealing* pada suhu 60°C selama 30 detik dan tahap *extension* selama 30 detik pada suhu 72°C dan *final extension* selama 1 menit pada suhu 72°C.

	<p><b>Sequencing DNA</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pita hasil PCR dengan pasangan primer P2/P8 dipotong dan dimurnikan dengan system pemurnian MYgen gel dan PCR.</li> <li>- DNA murni dikirim ke First Base Sdn Bhd untuk mengurutkan primer P2 dan P8 yang sama.</li> <li>- Hasil pengurutan disejajarkan dan disusun dengan Snppgene (GSL Biotech LLC, Chicago, USA) dan pencarian BLAST dilakukan untuk mengidentifikasi lokus CHD menggunakan database Genbank.</li> </ul>
	<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- DNA yang diekstraksi dari darah dengan pasangan primer P2/P8 menunjukkan pita berukuran 300 bp. Pita ganda berukuran sekitar 50 bp secara terpisah. Sedangkan ukuran pita dengan primer 2550F/2718R menunjukkan pita berukuran 600bp dan 1000 bp. Hasil dari kedua pasangan primer yaitu sampel 1 dan 4 adalah jantan dan sampel 2, 3, dan 5 adalah betina.</li> <li>- Analisis PCR dengan darah murni tidak membuahkan hasil namun dengan pengenceran dengan PBS 1:5 memberikan hasil yang paling konsisten.</li> <li>- Analisis PCR dengan DNA yang berasal dari bulu memiliki konsentrasi yang rendah sehingga siklus denaturasinya diperpanjang menjadi 40 siklus. PCR dengan DNA yang diekstraksi dari bulu memberikan hasil yang mirip dengan DNA yang diekstraksi dari darah untuk sampel 1, 4 dan 6. Sedangkan sampel 2 menunjukkan <i>faint band, multiple band</i> untuk sampel 3 dan tidak ada hasil untuk sampel 5.</li> <li>- Sekuensing DNA dari gen CHD untuk <i>Tyto alba javanica</i> yang dibandingkan dengan gen <i>Tyto alba javanica</i> yang diperoleh dari GenBank menunjukkan keasamaan 98% hingga 99% antara gen CHD dari kedua subspecies.</li> <li>- Penelitian ini menunjukkan bahwa untuk <i>molecular sexing</i> dapat dilakukan dengan menggunakan darah murni, karena metode yang efisien, hemat biaya dan waktu.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak diketahui jumlah bulu yang dipetik pada masing-masing bagian.</li> </ul>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Praktis)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dapat mengetahui primer mana yang dapat menghasilkan hasil pita yang lebih lebih bersih</li> <li>- Dapat mengetahui tentang jenis kelamin dari pada burung <i>Tyto alba javanica</i> dalam program pemuliaan yaitu menyebabkan pelepasan jantan dan betina yang dikonfirmasi sehingga memastikan pembiakan dan perkembangbiakan yang sukses.</li> <li>- Dapat mengetahui sampel mana yang mengandung konsentrasi DNA tertinggi dalam identifikasi jenis kelamin burung.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b> Membandingkan sumber DNA invasif yaitu darah dan sampel non-invasif yaitu bulu burung dalam <i>molecular sexing</i>.</p>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b></p>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Molecular Sexing</i></li> <li>- Teknologi DNA</li> </ul>
	<b>Lain-lain</b>

5.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Akrom, A. M., Soedarmanto, I., Yanuartono., Susmiati, T., Nururrozi, A., dan Raharjo, S. 2020. Penentuan jenis kelamin burung Kenari (<i>Serinus canaria</i>) berdasarkan gen <i>Chromodomain Helicase DNA-Binding 1</i> (CHD1). <i>Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia</i> 7(1): 1-8.  Web: <a href="http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI">http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI</a></p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Penentuan jenis kelamin burung kenari muda secara fenotip memiliki akurasi sangat rendah.</li> <li>- Masyarakat Indonesia sejak lama gemar memelihara burung kenari (<i>Serinus canaria</i>) karena kicauan, variasi dan kombinasi warnanya yang beragam.</li> <li>- Pemeliharaan dan pelatihan kenari dilakukan pada usia muda agar nyanyian kenari jantan sesuai dengan keinginan, namun sulit untuk menentukan jenis kelamin kenari kurang dari empat bulan.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Menentukan jenis kelamin burung kenari secara genotip berdasarkan gen CHD1, yang dibandingkan dengan gambaran kloaka secara fenotip.</li> <li>- Menentukan jenis kelamin burung kenari secara genotip.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bagaimana menentukan jenis kelamin burung kenari secara genotip berdasarkan gen CHD1?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biasanya penentuan jenis kelamin kenari hanya berdasarkan prediksi dan melihat bentuk kloaka burung jantan yang lebih lebih menonjol dan runcing sedangkan, betina yang cenderung datar/rata.</li> <li>- Teknik penentuan jenis kelamin pada burung secara molekuler mulai banyak dikembangkan khususnya menggunakan metode polymerase chain reaction (PCR).</li> <li>- Penggunaan metode PCR dalam penentuan jenis kelamin telah lazim digunakan, tetapi belum banyak dilakukan pada burung berkicau khususnya pada burung kenari.</li> </ul>
	<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b>  <b>Waktu Penelitian:</b> Bulan Agustus-Oktober 2018  <b>Lokasi Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Laboratorium Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.</li> <li>- Burung didapatkan dari peternakan kenari di wilayah Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta.</li> </ul> <p><b>Total Sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 12 ekor burung kenari yang terdiri dari 6 ekor kenari dewasa umur enam</li> </ul>

bulan yang sudah diketahui jenis kelaminnya (3 jantan: J1, J2, J3 dan 3 betina: B1, B2, B3). Dan 6 ekor burung kenari muda berumur 1 bulan (A1, A2, A3, A4, A5, A6) yang belum diketahui jenis kelaminnya.

**Pengamatan Fenotip:**

- Parameter yang diamati dalam pengamatan fenotip adalah bentuk kloaka, yaitu apabila kloaka lebih menonjol dan runcing, maka akan dimasukkan sebagai burung jantan, sedangkan kloaka yang lebih rata/rata dan lebar dimasukkan sebagai betina.

**Uji Genotip:**

- DNA diisolasi darah dan bulu burung kenari.
- Sampel darah dikoleksi dengan tabung mikrohematokrit dari kapiler ujung jari kaki, kemudian dimasukkan ke tabung Eppendorf yang berisi PBS 200  $\mu$ L. Isolasi DNA dari sampel darah selanjutnya dilakukan dengan mengikuti protokol dari pabrik gSYNC<sup>TM</sup> DNA Extraction Kit, Cat. No. GB100 (Geneaid, Taiwan).
- Sampel bulu diambil dari sayap dan/atau ekor sebanyak 3 helai, bagian *calamusnya* dipotong-potong menjadi 0,5-1 cm, kemudian dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf. Isolasi DNA selanjutnya dilakukan dengan mengikuti protokol gSYNC<sup>TM</sup> DNA Extraction Kit, Cat. No. GB100 (Geneaid, Taiwan).
- Sampel DNA yang didapatkan diamplifikasi dengan teknik PCR dengan mesin *thermocycler* (Primus 25 advance©, Peqlab, Jerman). Amplifikasi dilakukan dengan komposisi total sebanyak 25  $\mu$ L yang terdiri dari 12,5  $\mu$ L 2 $\times$  MyTaq HS Red Mix, 1  $\mu$ L primer CHD1F, 1  $\mu$ L primer CHD1R, 5  $\mu$ L DNA template, dan 5,5  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O.
- Suhu perdenaturasi 94°C selama 5 menit, 32 siklus denaturasi pada suhu 95°C selama 1 menit, annealing 48,3°C selama 1 menit serta elongasi 72°C selama 1 menit dan siklus terakhir post-elongasi pada suhu 72°C selama 5 menit.

**Hasil Amplifikasi:**

- Hasil amplifikasi dielektroforesis pada gel agarose 1,5% (1<sup>st</sup> Base, Singapura) dengan tegangan 70 volt selama 35 menit dan divisualisasi dengan UV *transiluminator* dan panjang ampikon dibandingkan dengan marker standard.

**Temuan dan Hasil**

- Hasil pengamatan bentuk kloaka burung kenari dewasa jantan (J1, J2, J3) memiliki kloaka yang menonjol dan meruncing dan 3 ekor kenari dewasa betina (B1, B2, B3) memiliki bentuk kloaka yang datar dan lebih lebar. Perbedaan bentuk kloaka hanya dapat diamati oleh burung dewasa yang sudah pernah bertelur.
- Amplifikasi gen CHD1 dengan sampel darah menunjukkan 3 ekor burung kenari jantan umur 6 bulan dmenghasilkan 1 pita dengan ukuran 500 bp saat dilakukan visualisai pada gel agarose dengan UV, sedangkan 3 ekor burung betina umur 6 bulan menghasilkan 2 pita dengan ukuran 500 bp dan 300 bp.
- Hasil PCR menunjukkan sample bulu burung kenari dewasa dapat digunakan sebagai sumber DNA karena memberikan hasil yang sama dengan DNA dari darah.
- Jumlah bulu yang dapat digunakan dalam penentuan jenis kelamin burung adalah dua helai bulu sekunder sayap. Dengan dua helai bulu tersebut sudah mencukupi jumlah DNA untuk amplifikasi gen CHD1.

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Kesesuaian hasil penentuan jenis kelamin secara genotip dan fenotip ditunjukkan pada burung umur 6 bulan, tetapi tidak ada burung yang berumur 1 bulan.</li> <li>- Hasil penentuan jenis kelamin secara fenotip untuk burung kenari 1 bulan didapatkan bahwa semua sampel burung mempunyai kloaka yang dapat menyerupai betina, tetapi hasil penentuan genotip dengan teknik PCR menunjukkan 1 pita diidentifikasi sebagai burung jantan sebanyak 1 ekor dan 2 pita diidentifikasi betina sebanyak 5 ekor walaupun burung berumur 1 bulan.</li> <li>- Berdasarkan penelitian ini, penentuan genotip dari jenis kelamin secara molekuler pada burung kenari dapat dilakukan menggunakan sampel darah atau bulu dan menghasilkan kualitas yang sama.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Membantu dalam pemeliharaan dan pelatihan burung kenari sedari dini.</li> <li>- Memastikan penentuan jenis kelamin secara fenotip pada burung dewasa akurat dengan uji genotip.</li> <li>- Membantu dalam penentuan jenis kelamin pada burung umur 1 bulan yang belum dapat dibedakan jenis kelaminnya dengan uji fenotip.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Penggunaan gen CHD1 dalam penentuan jenis kelamin dengan metode PCR.</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Molecular sexing</i></li> <li>- Teknologi DNA</li> <li>- <i>Phenotypic sexing</i></li> <li>- <i>Genotypic sexing</i></li> </ul>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

6.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Akrom, A. M., Indarjulianto, S., Yanuartono., Susmiati, T., Nururrozi, A., Raharjo, S., Permana, R. G. S., dan Sitompul, Y. Y. 2020. <i>Swab</i> Bukal sebagai bahan <i>sexing</i> Piyikan burung Kenari (<i>Serinus canaria</i>) dan burung Merpati (<i>Columbia livia</i>). <i>Jurnal Sains Veteriner</i> 38(1): 31-36.  DOI: 10.22146/jsv.49032</p> <p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Teknik <i>sexing</i> pada burung secara molekuler dengan metode PCR telah banyak dikembangkan, namun masih menggunakan sampel darah dan bulu.</li> <li>- Penggunaan kedua teknik <i>sampling</i> tersebut dianggap berbahaya dan memiliki dampak buruk pada kelangsungan hidup burung karena sampel darah akan mengancam kelangsungan hidup karena ukuran tubuhnya yang</li> </ul>
----	--

masih kecil, sedangkan sampel bulu pada burung membutuhkan manipulasi burung karena burung yang masih disarang masih dalam pertumbuhan dan belum sempurna.

-  
**Tujuan:**

- Mempelajari efisiensi sampel *swab* bukal sebagai sumber DNA dalam *sexing* dengan metode PCR.
- Mempelajari penggunaan sel bukal sebagai sumber DNA untuk *sexing* secara molekuler pada burung kenari dan merpati terutama pada burung *piyikan*.

**Pertanyaan Penelitian:**

- Bagaimana efisiensi sampel *swab* bukal sebagai sumber DNA dalam *sexing* dengan metode PCR?
- Bagaimana penggunaan sel bukal sebagai sumber DNA untuk *sexing* secara molekuler pada burung kenari dan merpati terutama pada burung *piyikan*?

**Kerangka Teori/Konseptual**

- Pemilihan burung kenari dan merpati pada penelitian ini adalah sebagai wakil dari ordo Passeriformes dan Columbiformes yang merupakan ordo yang banyak dipelihara oleh masyarakat karena penting terkait dengan manajemen, *breeding*, serta tujuan pemeliharaan dari kedua ordo.
- Alternatif pengambilan sampel DNA yaitu *swab* bukal, sampel ini dapat digunakan sebagai sumber DNA yang telah berhasil digunakan untuk mendapatkan DNA genom pada manusia untuk studi forensik, namun sekarang sudah berhasil dalam bidang veteriner dan laboratorium pada mamalia non-manusia.

**Metode Penelitian, Sampel, Variabel**

**Lokasi Penelitian:**

- Burung kenari didapatkan dari peternakan burung kenari Derajat Family Yogyakarta, sedangkan burung merpati didapatkan dari peternakan burung merpati RIIL Sleman, Yogyakarta.
- Analisis sampel dilakukan di Laboratorium Departemen Ilmu Penyakit dalam Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

**Total Sampel:**

- 10 ekor burung kenari yang terdiri dari 6 ekor burung kenari dewasa (3 jantan dan 3 betina) dan 4 ekor burung kenari *piyikan* (umur 14-18 hari) yang belum diketahui jenis kelaminnya.
- 13 ekor burung merpati yang terdiri 6 ekor burung merpati dewasa (3 jantan dan 3 betina) dan 7 ekor burung merpati *piyikan* (umur 14-25 hari) yang belum diketahui jenis kelaminnya.

**Pengambilan Sampel:**

- Burung dewasa yang digunakan adalah burung yang sudah pernah bereproduksi sehingga sudah jelas jenis kelaminnya.
- *Swab* bukal dilakukan dengan mengoleskan *swab* steril pada *cavum oris*, kemudian dimasukkan ke dalam *microtube* yang beiris 1 ml PBS. Sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 14.000 RPM.
- Supernatant dibuang kemudian mengikuti protokol dari pabrik gSYNC™ DNA Extraction KIT, Cat. No. GB100 (Geneaid, Taiwan).

**Amplifikasi dengan PCR:**

- Primer yang digunakan CHD1F dan CHD1R.
- Sampel DNA sebanyak 5 µl dicampur dengan 12,5 µl *master mix* (Bioline, Kanada); 1 µl 10 pmol primer CHD1F dan 1 µl 10 pmol primer CHD1R; serta 5,5 µl ddH<sub>2</sub>O dan volumenya menjadi 25 µl.
- Amplifikasi dengan mesin *thermocycler* (Primus 25 advance©, Peqlab, Jerman), dengan suhu perdenaturasi 94°C selama 5 menit, 32 siklus denaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit, annealing 48,3°C selama 1 menit serta elongasi 72°C selama 1 menit dan siklus terakhir post-elongasi pada suhu 72°C selama 5 menit.

#### Hasil Amplifikasi:

- Hasil amplifikasi dielektroforesis pada gel agarose 1,5% (1<sup>st</sup> Base, Singapura) dengan tegangan 70 volt selama 35 menit dan divisualisasi dengan UV *transiluminator* dan panjang ampikon dibandingkan dengan marker standard.

#### Temuan dan Hasil

- Hasil visualisasi PCR DNA bukal burung piyikan dengan primer CHD1F/CHD1R dimasukkan kedalam grup 1 yaitu didapatkan bahwa semua burung jantan menghasilkan satu pita pada sekitar 500 bp, sedangkan grup 2 yaitu semua burung betina menghasilkan dua pita yang berukuran sekitar 300 bp dan 500 bp.
- Sel epitel bukal dari burung dapat digunakan secara efektif sebagai sumber DNA genom dalam studi *sexing* secara molekuler.
- Hasil PCR yang didapatkan sesuai dengan hasil *sexing* burung dewasa, maka diidentifikasi bahwa burung *piyikan* grup 1 (2 ekor kenari dan 6 ekor burung merpati) adalah berjenis kelamin jantan dan grup ke 2 (2 ekor burung kenari dan 1 ekor burung merpati) berjenis kelamin betina.
- Swab bukal merupakan sumber DNA yang andal dan memiliki hasil yang sama jika dibandingkan dengan sumber dari sampel darah dan bulu.
- Pengambilan sampel swab bukal terbukti *less-invasive* (burung tidak menunjukkan kesakitan) serta andal dan efektif sebagai sumber DNA dalam studi molekuler khususnya *sexing* burung piyikan.

#### Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan

#### Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti)

- Pemilihan burung kenari dan merpati pada penelitian ini adalah sebagai wakil dari ordo Passeriformes dan Columbiformes. Kedua ordo tersebut banyak dipelihara oleh masyarakat di Indonesia. Penentuan jenis kelamin pada kedua ordo tersebut sangat penting karena berkaitan dengan manajemen, breeding, serta tujuan pemeliharaan dari kedua ordo tersebut.
- Membantu untuk mencari alternatif pengambilan sampel DNA yang *invasive*.

#### Catatan:

##### 1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji

- Terkait dengan penggunaan *swab* sebagai alternatif pengambilan sampel pengganti darah dan bulu yang invasif.
- Metode ekstraksi untuk sampel *swab*.

	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Molecular Sexing</i></li> <li>- PCR</li> <li>- <i>Buccal Swab</i></li> </ul>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

7.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Siswanto, J. E., Berlian, T., Putricahya, T., Panggalo, L. V., dan Yuniani, L. 2016. Isolasi DNA pada sampel darah tepi dan swab <i>buccal</i> pada bayi penderita ROP: Perbandingan hasil uji konsentrasi dan indeks kemurnian. <i>Sari Pediatri</i> 18(4):270-277.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Retinopati prematuritas (ROP) adalah gangguan perkembangan dari pembuluh darah retina yang mengenai bayi prematur. Faktor genetik diduga berperan terhadap kejadian ROP. Konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi diperlukan untuk analisis pemeriksaan genetik pada kasus ROP</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mengetahui konsentrasi dan indeks kemurnian DNA menggunakan sampel <i>whole blood, buffy coat dan swab buccal</i> pada kelompok bayi-bayi prematur yang masuk dalam kriteria penapisan ROP.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sampel apa-apa saja yang memiliki konsentrasi dan kemurnian DNA paling tinggi antara sampel <i>whole blood, buffy coat dan swab buccal</i> pada kelompok bayi-bayi prematur yang masuk dalam kriteria penapisan ROP?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Skrining pengaruh variasi gen terhadap ROP mungkin akan menyediakan informasi baru mengenai patogenesis ROP yang diharapkan akan menolong identifikasi dan penanganan bayi risiko tinggi tepat pada waktunya.</li> <li>- DNA diisolasi dari beberapa sampel yaitu <i>whole blood, buffy coat dan swab buccal</i>.</li> <li>- Hasil isolasi DNA dikatakan baik apabila didapatkan DNA yang murni dan utuh. Pengukuran konsentrasi DNA maupun penentuan kemurniannya sangat penting dalam proses isolasi DNA karena untuk melihat kandungan DNA yang diperoleh secara kuantitatif maupun untuk melihat kontaminan yang mungkin masih ada dari isolat DNA yang diperoleh.</li> </ul>
	<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b>  <b>Waktu Penelitian:</b> Tahun 2016  <b>Total Sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 131 sampel dari Rumah Sakit Anak dan Bunda Harapan Kita</li> <li>- 25 sampel dari Jakarta Eye Centre</li> <li>- 14 sampel dari Rumah Sakit Ibu dan Anak Budi Kemuliaan</li> <li>- 7 sampel diperoleh dari Rumah Sakit Awal Bros</li> <li>- 4 sampel diperoleh dari Rumah Sakit Royal Taruma</li> </ul>



- 2 sampel diperoleh dari Rumah Sakit PGI Cikini

**Metode:**

- Pengumpulan sampel *buccal swab* dengan cara menggosokkan *swab* pada bagian pipi kanan bagian dalam bayi, kemudian diputar untuk memaksimalkan pemanfaatan kedua sisi kapas. Dibekukan pada suhu - 80°C.
- Prosedur isolasi DNA dengan menggunakan *high pure PCR template preparation kit* EO/0/15.
- Konsentrasi DNA dihitung dengan spektrofotometer UV. Konsentrasi dinyatakan tinggi bila lebih dari 10mg/ml.
- Konsentrasi DNA murni dengan A260 dari 1.0 adalah 50mg/ml, kemudian didapatkan rumus :  

$$\text{Konsentrasi (mg/ml)} = 50 \text{ mg/ml} \times \text{A260 yang terukur} \times \text{factor dilusi.}$$
- Kemurnian DNA dinilai dengan rasio absorbs pada 260 nm dan 280 nm, dimana DNA dinyatakan murni jika memiliki nilai rasio OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> berkisar 1.8-2.0.
- Konsentrasi dan kemurnian DNA diukur dengan nanodrop dengan cara:
  - Pertama-tama, pilih menu “nucleid acid measurement” dari inisial program window. Kemudian dilanjutkan dengan proses kalibrasi, dengan cara membersihkan tempat pengukuran (berupa titik) menggunakan air milipore dan tissue (kertas pembersih) halus. Setelah bersih 2µL air milipore diletakkan di tempat pengukuran dan ditutup. Klik OK pada box window yang berisi pernyataan apakah anda sedang mengkalibrasi alat. Tunggu hingga alat terkalibrasi. Gagang penutup tempat pengukuran diangkat dan dibersihkan menggunakan air milipore dan tisu halus.
  - Langkah selanjutnya dengan pengukuran blanko, 2µL buffer ditetaskan pada tempat pengukuran, kemudian ditutup dengan gagang tempat pengukuran. Klik “blank”. Angkat gagang tempat pengukuran, lalu dibersihkan menggunakan air dan tisu halus.
  - Selanjutnya klik “start report” untuk mengaktifkan seri pengukuran. Pengukuran dilakukan dengan cara memasukkan nama sampel pada bagian kanan window. Kemudian tetaskan 1-2µL sampel pada tempat pengukuran dan tutup. Klik “measure” dan tunggu. Angkat gagang, kemudian bersihkan tempat pengukuran dengan air milipore dan tisu basah. Ulangi prosedur pengukuran jika akan dilakukan pengukuran pada beberapa sampel.
  - Setelah selesai melakukan pengukuran pada semua sampel, maka klik “show report”, dan dari window baru pilih “print”. Data pengukuran yang telah dilakukan akan dicetak. Selanjutnya klik “exit” untuk menutup semua windows. Tempat pengukuran dibersihkan dengan air milipore dan tisu halus.
- Analisis statistic dilakukan untuk melihat kenormalan data dan perbedaan pada ketiga sampel yaitu Uji statistik non-parametrik dan uji statisik non-parametrik Kruskal Wallis.

**Temuan dan Hasil**

- Rata-rata konsentrasi DNA dari jenis sampel *buffy coat* lebih tinggi dibandingkan sampel *whole blood* yaitu sebesar 30,32 ng/µl.

<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pengambilan <i>buccal swab</i> konsentrasi DNA terendah, namun paling reliable dan dapat diterima karena tidak invasive untuk pengumpulan DNA.</li> <li>- Sampel <i>buffy coat</i> dan <i>whole blood</i> dapat digunakan dalam proses isolasi DNA karena konsentrasinya lebih tinggi daripada sampel buccal swab.</li> </ul>
<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p>
<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- dapat mengetahui sampel mana yang memiliki kuantitas DNA tertinggi.</li> <li>- dapat mengetahui sampel mana yang memiliki tingkat invasif terendah.</li> <li>- Dapat mengetahui cara penggunaan nanodrop.</li> <li>- Mengetahui metode isolasi DNA dari darah</li> </ul>
<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Perbandingan sampel darah dan <i>swab</i> trakea</li> <li>- Metode isolasi DNA dari darah.</li> <li>- Cara pengambilan sampel <i>swab</i></li> <li>- Cara pengoperasian nanodrop</li> </ul>
<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b>  <i>Molecular sexing</i>, Teknologi DNA</p>
<p><b>Lain-lain</b></p>

8.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Rodrigues, P., Campos, E., Micael, J., Verdugo, C. 2019. Sex determination of Neotropic cormorant (<i>Phalacrocorax brasilianus</i>) by molecular sexing. <i>Avian Biology Research</i> 12(1): 10-12.  DOI: 10.1177/1758155919832130.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Neotropic cormorant (<i>Phalacrocorax brasilianus</i>) adalah spesies monomorfik yang tidak menunjukkan perbedaan antara jantan dan betina secara fenotip. Diperlukan metode identifikasi secara molekuler yang cepat dan tepat dalam penentuan jenis kelamin dalam studi konservasi.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Menentukan jenis kelamin Neotropic cormorant (<i>Phalacrocorax brasilianus</i>) berbasis DNA untuk memberikan informasi untuk rencana pengembangan dan pengelolaan di sepanjang wilayah distribusi yang luas.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b>  Bagaimana menentukan jenis kelamin Neotropic cormorant (<i>Phalacrocorax brasilianus</i>) berbasis DNA?</p>

<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Neotropic cormorant (<i>Phalacrocorax brasilianus</i>) adalah spesies monomorfik. Penentuan jenis kelamin penting dalam parameter reproduksi tertentu.</li> <li>- Gen chromo-helicase-DNA binding protein (CHD) adalah penanda yang banyak digunakan untuk penentuan jenis kelamin pada burung</li> <li>- Penggunaan teknik molekuler cepat dan efisien yang berpusat pada gen yang mengikat CHD untuk membedakan kromosom sex jantan dan betina berdasarkan ukuran intron.</li> </ul>
<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b></p> <p><b>Waktu Penelitian:</b> Musim kawin 2016</p> <p><b>Lokasi Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Santuario de la Naturaleza Carlos Anwandter (39.704°S, 73.189°W), Valdivia dan Chile.</li> </ul> <p><b>Total Sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 15 burung yang ditangkap dan 2 sampel tambahan dari hewan mati yang ditemukan dikoloni.</li> </ul> <p><b>Pengumpulan Sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sampe darah (1 ml) diekstraksi dari vena jugularis kanan dari hewan hidup.</li> <li>- Jaringan otot dikeluarkan dua hewan mati dari kedua jenis kelamin.</li> </ul> <p><b>Metode:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ekstraksi sampel darah dengan DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) dengan mengikuti protokol dari pabrik.</li> <li>- Primer yang digunakan yaitu primer 2550F/2718R</li> <li>- Amplifikasi dengan PCR thermocycler AERIS-BG096 (ESCO), yaitu 10 µL reaksi mengandung 1x reaksi saphireAmp mastermix (Takara), 1 mM MgCl dan 0,5 µM sampel DNA.</li> <li>- Protokol termal terdiri dari: siklus denaturasi awal pada suhu 94°C selama 2 menit, 34 siklus denaturasi pada suhu 94°C selama detik, siklus <i>annealing</i> pada suhu 51°C selama 30 detik dan siklus <i>extension</i> pada suhu 72°C selama 4 menit.</li> <li>- Produk PCR dijalankan pada gel agarose 2% selama 50 menit pada 90V dalam Tris-borate-EDTA.</li> </ul>
<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Amplifikasi pada semua sampel berhasil.</li> <li>- Produk PCR menunjukkan hasil jenis kelamin yang sesuai dengan jenis kelamin dari pemeriksaan gonad.</li> <li>- Jantan menunjukkan pita tunggal dengan 664 bp dengan kromosom Z, sedangkan betina menunjukkan pita ganda dengan dengan ukuran 664 bp dan 459 bp dengan kromosom W.</li> <li>- Teknik genetik mungkin terbukti sangat berguna di mana analisis morfometrik tidak dapat memisahkan jantan dari betina secara akurat, atau ketika seseorang perlu membedakan jenis kelamin anak ayam, anak burung atau cormorant remaja yang sulit dibedakan jenis kelaminnya.</li> <li>- Teknik identifikasi secara molekuler dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis kelamin <i>P. Brasilianus</i> pada studi berbeda dalam</li> </ul>

	aplikasinya pada konservasi.
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pengumpulan sampel darah tidak dijelaskan secara lengkap.</li> <li>- Tidak diketahui metode yang digunakan untuk mengesktraksi sampel otot dari hewan mati.</li> <li>- Pada metode tidak dijelaskan tentang pemeriksaan gonad namun pada hasil dibandingkan dengan produk PCR yang dihasilkan.</li> </ul>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dapat mengetahui jenis kelamin secara akurat dan secara cepat dengan metode <i>molecular sexing</i>.</li> <li>- Penting dalam studi konservasi</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Metode ekstraksi darah</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b>  <i>Molecular sexing</i>, Teknologi DNA</p>
	<b>Lain-lain</b>

9.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Seki, S. 2003. Molecular sexing of individual Ryuku Robins <i>Erithacus komadori</i> using buccal cells as a non-invasive source of DNA. <i>Ornithological Science</i> 2: 135-137.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Darah adalah sumber DNA yang paling umum digunakan untuk studi ekologi molekuler, namun sulit dilakukan pengambilan darah pada Ryuku Robin (<i>Erithacus komadori</i>) karena ditentang oleh pemerintah di Jepang karena statusnya yang terancam punah.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Melaporkan hasil pengelompokan molekuler Ryuku Robin (<i>Erithacus komadori</i>) dewasa menggunakan DNA yang diekstraksi dari swab bukal, kemudian membandingkannya dengan sel-sel darah dan memeriksa keandalan sel-sel bukal sebagai sumber DNA untuk penentuan jenis kelamin unggas.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bagaimana perbandingan DNA antara sampel swab bukal dengan sampel darah?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Swab bukal telah digunakan sebagai sumber DNA yang baik dan non-invasif untuk manusia, namun belum digunakan untuk hewan percobaan penelitian.</li> <li>- Darah adalah sumber DNA yang paling umum digunakan karena efektif dan dikembangkan dengan baik, namun dapat mengancam bagi burung-burung</li> </ul>

yang terancam punah.

#### **Metode Penelitian, Sampel, Variabel**

**Waktu Penelitian:** Musim kawin pada 15 April hingga 30 Juni 2002

**Lokasi Penelitian:** Pulau Nakanoshima, Kagoshima, Jepang

#### **Total Sampel:**

- 20 jantan dan 20 betina yang telah dikelompokkan berdasarkan karakter morfologis.

#### **Pengumpulan Sampel:**

- Sel-sel bukal dikumpulkan dengan menggulung kapas ke bagian dalam mulut dan tenggorokan sebanyak 5 kali. Setiap swab dimasukkan ke dalam microtube 1 ml buffer pengawet (150 mM NaCl, 10mM Tris-HCl pH 8,0, 10mM EDTA), dan disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu, dapat disimpan pada suhu 5°C hingga 1 bulan.
- Sampel ditambahkan 10 ml SDS 10%, sampel dicerna dengan proteinase K (5 ml dari 20 mg/ml) pada suhu 55°C selama 1 jam dan tambahan 16 jam pada suhu 37°C. DNA kemudian diekstraksi dengan metode fenol/kloroform konvensional.
- 30 ml sampel darah diperoleh dari pengambilan dari vena brankialis dan tidak ada efek buruk yang tercatat. Sampel darah disimpan dalam larutan GenTLE I (Takara) pada suhu kamar dan diekstraksi dengan kit ekstraksi (QIAamp DNA Blood Mini Kit, QIA-GEN) dalam waktu 10 hari pengambilan sampel.

#### **Amplifikasi DNA:**

- Primer yang digunakan yaitu 3007F/3112R.
- Semua reaksi PCR dilakukan dalam volume 25 ml pada Perkin Elmer 9600 Thermal Cycler menggunakan Taq DNA polymerase.
- Setiap campuran reaksi mengandung ,625 unit Taq, 200mM dNTPs, 20mM Tris-HCl pH 8,0, 50mM KCl, 2mM MgCl<sub>2</sub>, 5 pmol primer.
- Profil termal terdiri dari: denaturasi awal 94°C selama 2 menit, skema "touch-down" dimana suhu *annealing* diturunkan sebesar 1°C per siklus, mulai dari 60°C hingga 50°C tercapai. Kemudian 35 siklus tambahan dijalankan pada suhu *annealing* konstan 50°C. Denaturasi pada 94°C selama 30 detik, *annealing* selama 30 detik, dan ekstensi pada 72 ° C selama 40 detik, dan langkah *extension* akhir lima menit ditambahkan setelah siklus terakhir.
- Produk PCR dipisahkan dalam agarose 2,5%, dijalankan dalam buffer TBE standard dan menggunakan pewarnaan etidium bromide.

#### **Temuan dan Hasil**

- Produk PCR dari DNA darah memberikan pita yang jelas pada 40 sampel.
- Pola pita dari sampel sel-sel bukal sama dengan pola darah dari sampel darah untuk semua individu, sehingga dapat dibuktikan bahwa swab bukal telah terkonfirmasi sebagai sumber DNA yang dapat diandalkan dari burung liar.
- Pengambilan sampel sel bukal sangat cocok untuk penentuan jenis kelamin molekuler karena pengambilan sampel membutuhkan waktu lebih sedikit daripada pengambilan darah, karena tidak perlu untuk infeksi dan homeostasis dan akan mengurangi stress pada saat pengambilan sampel.

#### **Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan**

Kekurangan sampel sel bukal yaitu menghasilkan DNA yang lebih rendah dibanding dengan darah, namun cukup untuk penentuan jenis kelamin.

	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dapat mengetahui teknik pengumpulan sampel swab bukal dan mengetahui metode ekstraksi yang digunakan.</li> <li>- Dapat mengetahui sampel yang dapat digunakan tanpa melukai sehingga meningkatkan stress pada burung.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Metode ekstraksi sample swab</li> <li>- Perbandingan sampel invasive dan non-invasif pada burung</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b>  <i>Molecular sexing, Teknologi DNA</i></p>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

10.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Bosnjak, J., Stevanov-Pavlovic, M., Vucicevic, M., Stevanovic, J., Simeunovic, P., Resanov, R., Stanimirovic, Z. 2013. Feasibility of non-invasive molecular method for sexing of parrots. <i>Pakistan Journal Zoology</i> 45(3):715-720.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Burung nuri dari ordo Psittaciformes masuk dalam daftar merah IUCN untuk spesies terancam punah disebabkan karena perdagangan liar, hilangnya habitat dan persaingan spesies invasive.</li> <li>- Pengembangan metode molekuler yang efisien untuk identifikasi jenis kelamin sebagai bantuan dalam penelitian dan konservasi banyak spesies burung.</li> <li>- Pemilihan sampel sangat penting untuk kelangsungan hidup dan ekstraksi DNA tanpa resiko.</li> <li>- Pengelolaan spesies yang rentan dan terancam punah (sebagai mayoritas burung beo), potensi bias dalam rasio jenis kelamin menjadi perhatian besar.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Menguji kemungkinan dan efisiensi dari metode molekuler non-invasif untuk identifikasi jenis kelamin Psittaciformes menggunakan berbagai jenis sampel (darah, bulu, swab bukal dan feses) dan gen CHD sebagai penanda molekuler.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b>  Sampel non-invasif mana yang memiliki kemungkinan digunakan sebagai sumber DNA (darah, bulu, swab bukal dan feses) dengan tingkat kesuksesan tertinggi?</p>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Penggunaan gen CHD telah banyak digunakan karena terbukti berhasil pada semua spesies burung.</li> <li>- Gen CHD adalah penanda yang penting yang memberikan peluang untuk mengembangkan metode universal untuk identifikasi jenis kelamin secara molekuler Psittaciformes.</li> </ul>
	<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b></p>

**Asal Sampel:** Zoological Gardens dan peternak.

**Total Sampel:**

- 239 ekor burung diambil dari identifikasi jenis kelamin, 32 sampel termasuk dalam spesies nuri.
- Diantara 398 total sampel, terdapat 239 sampel bulu, 15 sampel darah, 72 sampel swab bukal dan 72 sampel feses.

**Pengumpulan Sampel:**

- Darah dikumpulkan dengan kapas steril dengan mengusap kuku setelah dipotong.
- Satu sampai dua bulu dada diambil dengan pencabutan dan dipotong 2-5 mm.
- Penyeka kapas steril digunakan untuk mengumpulkan sampel swab bukal dan feses.

**Isolasi DNA:**

- DNA diisolasi dengan mengikuti protokol kit KAPA Express Extract (KAPA Biosystems Cat. No. KK7152).
- Langkah inkubasi berlangsung 20 menit pada 75 ° C dan tambahan 5 menit pada 95 ° C. Lima puluh µL dari isolat DNA yang diperoleh ditambahkan ke 200 µl 1x TE buffer (Serva, Cat. No. 39799.01). Sepuluh µL hasil pengenceran isolat DNA digunakan dalam reaksi PCR.

**Amplifikasi PCR:**

- Primer yang digunakan yaitu 2550F dan 2718R.
- Amplifikasi dilakukan dalam 25 µL volume reaksi yang mengandung 12,5 µL KAPA2G Robust HotStart ReadyMix (Kat. No. KK7152, Kapa Biosystems), volume 1,25 µL konsentrasi akhir 1µM setiap primer dari 2550F / 2718R primer set dan 10 µL sampel DNA
- Protokol termal yang direkomendasikan KAPA2G Robust HotStart ReadyMix digunakan: 3 menit denaturasi awal pada 95 °C, diikuti oleh 45 siklus denaturasi (15 detik pada 95 °C), annealing primer (15 detik pada 52 ° C), dan extension (15 detik pada 72 ° C). Langkah extension terakhir pada 72 ° C berlangsung 8 menit.

**Visualisasi Produk PCR:**

- Produk PCR divisualisasi dengan UV setelah pewarnaan gel agarose 2% dengan Etidium bromide.
- Ladder yang digunakan yaitu OrangeRuler 50 bp DNA ladder (fermentas) dan Nippon 100 bp DNA ladder sebagai penanda ukuran pita Z dan W.

**Temuan dan Hasil**

- Jenis kelamin burung sampel (N=239) berhasil diidentifikasi menggunakan sampel bulu, hasilnya juga dikonfirmasi menggunakan sampel lain.
- Primer 2550F / 2718R untuk pertama kalinya berhasil digunakan untuk amplifikasi gen CHD dari *Amazona finschi*, *A. leucocephala*, *Aratinga aurea*, *Barnardius zonarius*, *Coracopsis nigra* dan *Nymphicus hollandicus*. Semua spesies sampel dalam penelitian ini ada di IUCN daftar merah spesies terancam.
- Empat spesies (*Amazona finschi*, *A. leucocephala*, *Cacatua moluccensis* dan *C. sulphurea*) ada dalam daftar CITES Appendix 1 (Konvensi Perdagangan

	<p>Internasional Spesies Fauna dan Flora Liar yang Terancam Punah).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Set primer 2550F / 2718R memberikan tingkat kepercayaan yang lebih tinggi untuk menentukan jenis kelamin burung.</li> <li>- Sampel bulu dapat diandalkan pada semua individu sampel sebesar 100%. Sumber DNA darah dan swab bukal juga dapat diandalkan sebesar 100% namun, pada sampe feses hanya menunjukkan tingkat keberhasilan sebagai sampel sebesar 25% karena inhibitor PCR seperti pigmen dll.</li> <li>-</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak diketahui berapa kali dilakukan apusan pada bagian bukal.</li> </ul>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Membantu dalam konservasi burung nuri yang terancam punah.</li> <li>- Membantu membandingkan sampel invasive yang cocok digunakan sebagai sumber DNA yang tidak menyakitkan namun dapat diandalkan.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Penggunaan sampel darah, bulu, swab bukal sebagai sampel non-invasif untuk mengetahui sampel mana yang dapat memiliki tingkat keberhasilan tertinggi dalam identifikasi jenis kelamin burung-burung yang terancam punah.</li> <li>- Metode pengambilan sampel darah yang berasal dari kuku kaki yang dipotong dan pengambilan sampel DNA dari bulu yang dicabut.</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b>  <i>Molecular sexing, Teknologi DNA</i></p>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

11.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Handel, C. M., Pajot, L. M., Talbot, S. L., dan Sage, G. K. 2006. Use of buccal swabs for sampling DNA from nestling and adults bird. <i>Wildlife Society Bulletin</i> 34(4): 1094-1100.  DOI: 10.2193/0091-7648(2006)34[1094:uobsfs]2.0.co;2.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Melakukan perbandingan swab bukal dan pengambilan sampel darah standard untuk menentukan apakah sampel bukal akan menghasilkan jumlah genom yang memadai untuk menentukan jenis kelamin secara molekuler secara akurat, genotip mikrosatelit dan sekuensing mtDNA dalam <i>Poecile atricapillus</i> dan <i>P. Hudsonica</i>.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Menguji kelayakan dan efisiensi penggunaan swab untuk sampel sel epitel bukal dari burung altricial kecil untuk ekstraksi dan analisis DNA genom.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bagaimana efisiensi penggunaan swab untuk sampel sel epitel bukal dari burung altricial kecil untuk ekstraksi dan analisis DNA genom?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p>



<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pengambilan darah adalah prosedur invasif yang memerlukan beberapa menit waktu penanganan dan dapat meningkatkan tingkat stres burung.</li> <li>- Pengambilan darah menjadi masalah burung dewasa yang memiliki tubuh kecil dan burung bersarang karena memiliki vena yang kecil dan volume darah rendah.</li> <li>- Pengambilan sampel sel epitel bukal diterima sebagai teknik non-invasif untuk memperoleh DNA genom manusia untuk studi forensic dan epidemiologis.</li> </ul>
<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b></p> <p><b>Waktu Penelitian:</b> Tahun 2001 sampai 2003</p> <p><b>Lokasi Penelitian:</b> Lapangan di Alaska tengah-selatan</p> <p><b>Total Sampel:</b> 42 ekor burung dewasa dan 39 burung bersarang (usia 4-8 hari).</p> <p><b>Pengumpulan Sampel Bukal:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Memegang burung dengan satu tangan dan dengan lembut memutar swab bukal yang berujung kapas steril dengan tangan yang lain sebanyak 3-5 kali pada bagian dalam melintasi lidah. <i>Cotton swab</i> dibiarkan kering selama 10-15 menit sebelum diekstraksi.</li> <li>- Swab bukal memiliki poros plastic sepanjang 150 mm.</li> </ul> <p><b>Pengumpulan Sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Darah dalam tabung-kapiler mikrohematokrit nonheparinized 70- <math>\mu</math>L oleh venipuncture basilik dengan jarum ukuran 27,5 yang disterilkan setelah mendisinfeksi kulit dengan alkohol isopropil 70%.</li> <li>- Diberikan tekanan pada luka tusukan dengan bila kapas selama 1 menit sampai pendarahan berhenti.</li> <li>- Darah dimasukan ke 400 <math>\mu</math>L larutan buffer Longmire dalam 1,7 ml tabung microsentrifuge dan disimpan selama 1-8 bulan sebelum ekstraksi DNA.</li> </ul> <p><b>Microsatellite Genotyping:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sampel bukal dan darah untuk 9 individu black-capped chickadees dan 3 boreal chickades masing-masing 5 lokus mikrosatelit (PmaGAn11, PmaGAn28, PmaTAGAn71, Escl6, PATMP2-14).</li> <li>- Empat dari 5 lokus mengandung pengulangan dinukleotida; PmaTAGAn71 mengandung pengulangan tetranukleotida.</li> </ul>
<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sampel swab bukal yang diekstraksi dengan QuickExtract lebih baik dibandingkan dengan salt extraction protocol.</li> <li>- Jumlah DNA dari sampel bukal cukup untuk penentuan jenis kelamin, genotip, dan pengurutan DNA.</li> <li>- Intensitas pita untuk penentuan jenis kelamin dan genotip sampel bukal lebih lemah daripada sampel darah.</li> </ul>
<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak diketahui metode ekstraksi untuk sampel darah</li> </ul>
<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mendapatkan sampel DNA alternative pengganti darah yang invasive bagi burung-burung bersarang.</li> </ul>
<p><b>Catatan:</b></p>

	<p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ekstraksi DNA pada sampel swab bukal dengan QuickExtracte DNA extraction.</li> <li>- Penggunaan sampel swab bukal.</li> <li>- Cara pengambilan sampel bukal.</li> <li>- Penanganan sampel swab dan darah.</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b> Teknologi DNA, <i>molecular sexing</i></p>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

12.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b> Nuradji, N., Bingham, J., Lowther, S., Wibawa, H., Colling, A., Long, N. T., dan Meers, J. 2015. A comparative evaluation of feathers, oropharyngeal swabs, and cloacal swabs for detection of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus infection in experimentally infected chickens and ducks. <i>Journal of Veterinary Diagnostic Investigation</i> 27(6): 704-715. DOI: 10.1177/1040638715611443</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Diketahui bahwa bulu kalamus adalah tempat replikasi virus H5N1 sehingga memiliki potensi untuk mendiagnosis flu burung.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Membandingkan proporsi relative dari bulu positif virus, penyeka oropharyngeal, dan penyeka kloaka dari bebek dan ayam yang terinfeksi secara eksperimental.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sampel manakah yang memiliki kualitas lebih baik untuk mendeteksi virus H5N1 yang menginfeksi ayam dan bebek secara eksperimental?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Berbagai jenis bulu dan sampel swab oropharyngeal dan kloaka dibandingkan dengan isolasi virus.</li> <li>- Apusan Oropharyngeal dilaporkan lebih andal untuk deteksi virus H5N1 HPAI, sedangkan cloacal swab lebih cocok untuk unggas air yang terinfeksi LPAI.</li> <li>- Bulu juga memiliki keunggulan dibandingkan jenis sampel lain yaitu mereka mudah dikumpulkan, dan koleksinya minimal invasive.</li> </ul>
	<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b></p> <p><b>Jenis Virus HPAI H5N1</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tiga jenis virus yaitu dua adalah isolate Indonesia A/duck/Sleman/BBVW-1003-34368/2007 (IDN 34368; GenBank accession CY091949) and A/duck/Sleman/BBVW-598-32226/2007 (IDN 32226; GenBank accession CY091864), yang masing-masing milik clades 2.1.1 dan 2.1.3.32 Yang ketiga adalah isolat Vietnam: A / Muscovy duck / Vietnam / 453/2004 (VN 453), dari clade 1 garis keturunan. Semua virus diperbanyak dua kali dalam telur ayam bebas embrio spesifik bebas pathogen.</li> </ul>

<b>Virus</b>	- Virus diisolasi dari sel-sel vero (monyet hijau afrika).
<b>Temuan dan Hasil</b>	- Bulu yang belum matang adalah sampel alternative untuk mendiagnosis HPAI pada ayam dan bebek.
<b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b>	- Tidak adanya metode pengambilan sampel
<b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti</b>	-
<b>Catatan:</b>	<b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b>
	- Perbandingan sampel DNA.
<b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b>	Teknologi DNA
<b>Lain-lain</b>	

13.	<b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b> Vilstrup, J. T., Mullins, T. D., Miller, M. P., McDearman, W., Walters, J. R., Haig, S. M. 2018. A simplified field protocol for genetic sampling of birds using buccal swabs. <i>The Wilson Journal Ornithology</i> 130(1): 326-334. DOI: 10.1676/16-105.1.
	<b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b>
	- Aplikasi swab Buccal memiliki potensi dalam bidang genetic namun masih memiliki kelemahan saat ini terkait dengan beberapa protokol, dan biaya kit komersial. Sehingga penelitian ini mengurai pengembangan protokol baru untuk pengambilan sampel dan penyimpanan sampel swab bukal di lapangan.
	<b>Tujuan:</b>
	- Membandingkan amplifikasi diantara jenis swab dengan protokol berbeda sebagai alteranatif pengganti kit swab bukal komersial dalam hubungannya dengan penyimpanan sampel bukal.
	<b>Pertanyaan Penelitian:</b>
	- Protokol manakah yang dapat digunakan sebagai alternative pengganti kit swab bukal komersial dalam hubungannya dengan penyimpanan sampel bukal?
	<b>Kerangka Teori/Konseptual</b>
	- Kunci keberhasilan analisis ini adalah perolehan sampel DNA yang cukup untuk memenuhi kebutuhan penelitian tanpa merugikan individu yang dijadikan sampel.
	- Teknik pengambilan sampel non-dan kurang invasif meminimalkan stres untuk mempelajari organisme dan ideal untuk spesies bertubuh kecil atau ketika mengambil sampel remaja.
	- Usap bukal menjadi pilihan populer untuk pengambilan sampel yang

kurang invasif karena protokol membutuhkan pelatihan minimal untuk diimplementasikan dan kemungkinan melukai burung itu rendah.

**Metode Penelitian, Sampel, Variabel**

**Waktu Penelitian:** selama musim panas 2014

**Lokasi Penelitian:**

**Total Sampel:**

**Pengambilan Sampel Lapangan:**

- Tiga genetic apusan dibandingkan untuk sampel burung pelatuk merah-cockaded (5-14 hari) yaitu busa pada plastic (n=24), kapas pada plastic (n=24) dan busa pada plastic (n=24).
- Penyeka dipotong 2-4 cm agar muat dalam tabung kriogenik 2 ml. Kapas diputar di dalam mulut secara lembut sebanyak 15 detik. Swab kemudian ditempatkan dalam botol yang berisi 1 mL buffer Longmire (100 mM Tris-HCl, 100 mM EDTA, 10 mM NaCl, 0,5% natrium dodecyl sulfate [SDS] dan disimpan pada suhu -20°C.

**Ekstraksi DNA dan Amplifikasi:**

- Buffer Longmire pada masing-masing dipindahkan ke tabung Eppendorf .
- Swab ditambahkan 40 µl proteinase, kemudian divortex dan diinkubasi pada suhu 56°C selama 3 jam sebelum diinkubasi pada 95°C selama 5 menit.
- Sampel diputar melalui Amicon Ultra 0.5 mL kolom (Milipori), kemudian dicuci 2-3 kali dengan 150 µl ultrapure water sebelum kolom digojog.
- Semua sesi ekstraksi termasuk kontrol kosong, dan semua ekstrak dihitung pada Qubit Fluorometer 2.0 (Invitrogen) menggunakan reagen sensitivitas tinggi (rentang deteksi 10 hingga 100 ng / µL).
- Keberhasilan ekstraksi didasarkan pada positive Qubit DNA quantification, di mana semua yang terbaca terlalu rendah untuk (<10 pg / µL) akan dianggap ekstraksi yang gagal.
- Amplifikasi reaksi rantai polimer (PCR) dilakukan menggunakan Thermocycler BIO-RAD dengan langkah aktivasi 5 menit pada 95°C, diikuti oleh 35-45 siklus 95°C selama 30 detik, 53,5°C selama 30 detik, 72°C selama 30 detik , diikuti oleh extension 72°C selama 10 menit

**Analisis Data:**

- Rata-rata konsentrasi DNA dan total hasil DNA yang diperoleh setelah ekstraksi dari pembacaan Qubit dibandingkan dengan 3 jenis penyeka.
- Analisis varian dua arah (ANOVA) dilakuakn dalam R versi 3 untuk menguji hubungan antara jumlah DNA dan jenis kapas yang digunakan, dan antara jumlah DNA dan lokasi pengambilan sampel.

**Temuan dan Hasil**

- Tingkat keberhasilan ekstraksi 100% di antara 72 penyeka bukal diuji. Penyeka bukal menghasilkan rata-rata  $4,7 \pm 0,58$  ng / µL dari DNA, atau total hasil 0,14-0,24 lg DNA berdasarkan volume elusi ~ 30-50 µL.
- Keseluruhan penyeka memberikan kualitas dan kuantitas DNA yang cukup untuk amplifikasi setelah diencerkan 1:50-1:120.
- Busa pada kayu dan busa pada penyeka plastik berkinerja terbaik, menghasilkan 4-5 kali jumlah DNA dibandingkan dengan kapas pada penyeka plastic sedangkan Kapas pada penyeka plastik menghasilkan hasil yang jauh lebih rendah.

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak ada perbedaan yang signifikan dalam konsentrasi DNA rata-rata antara busa pada plastik dan busa pada kayu.</li> <li>- Dengan menggunakan protokol ekstraksi DNA sederhana, menunjukkan bahwa penyeka bukal berujung busa dan berujung kapas dapat menyediakan DNA yang cukup untuk dijadikan dasar genetika populasi dan penyelidikan lainnya sambil meminimalkan tingkat trauma yang dialami oleh masing-masing hewan.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak diketahui jumlah burung yang digunakan dalam penelitian ini.</li> </ul>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Keberhasilan amplifikasi diantara jenis swab bermanfaat dalam mengoptimalkan protokol yang diuji sebagai alternatif yang murah, ramah lingkungan untuk kit swab buccal komersial dan pengambilan sampel darah.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pemilihan penyeka yang baik bagi burung-burung kecil.</li> <li>- Ekstraksi sampel swab yang baik.</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b> Teknologi DNA, molecular sexing</p>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

14.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b> Emanuela, D. D., Dhanardhono, T., dan Saebani. 2017. Perbedaan kuantitas DNA yang diekstraksi dari buccal swab dengan jumlah usapan yang berbeda. <i>Jurnal Kedokteran Diponegoro</i> 6(2): 443-450. Web: <a href="http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/medico">http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/medico</a></p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b> Sampel yang digunakan pada analisis DNA untuk individu hidup adalah darah dan buccal swab, namun pengambilan darah membutuhkan metode yang invasif yang dapat menyebabkan rasa tidak nyaman pada dapat menjadi pilihan yang baik dan nyaman dalam pengambilan sampel untuk pemeriksaan DNA, namun belum ada standar Buccal swab yang mengatur tentang jumlah usapan yang diperlukan dalam pengambilan buccal swab yang optimal.</p> <p><b>Tujuan:</b> Mengetahui perbedaan kuantitas DNA yang diekstraksi dari buccal swab dengan jumlah usapan yang berbeda.</p> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bagaimana perbandingan kuantitas DNA yang diekstraksi dari buccal swab dengan jumlah usapan yang berbeda?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Secara umum pilihan utama yang digunakan untuk pemeriksaan DNA adalah darah. Spesimen darah dapat diperoleh dari darah vena, arteri atau kapiler namun prosedur ini membutuhkan tindakan yang invasif yang dapat menyebabkan rasa tidak nyaman bagi individu yang diperiksa, harga yang relatif mahal dan tidak praktis jika digunakan untuk pengambilan</li> </ul>

	<p>sampel dalam jumlah yang banyak.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pemeriksaan buccal swab dapat menjadi pilihan yang baik dan nyaman untuk individu yang diperiksa terutama pada balita atau anak-anak. Disamping itu sampel dari buccal swab lebih ekonomis, praktis dan lebih mudah untuk dilakukan pengiriman.</li> </ul>
	<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b></p> <p><b>Pengumpulan Sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kriteria inklusi penelitian ini adalah buccal swab dengan Jumlah usapan 5x 10x 20x 30x yang dilakukan pada Mahasiswa laki-laki Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro angkatan 2013 yang tidak merokok tidak minum alkohol, tidak mempunyai riwayat diabetes, anemia dan radioterapi di sekitar mulut.</li> <li>- Variabel bebas penelitian ini adalah jumlah usapan pada mukosa bukal. Variabel terikat penelitian ini adalah kuantitas DNA yang diekstraksi dari buccal swab. Pada keempat kelompok penelitian dilakukan pengolahan dan analisis data secara studi analitik mengenai perbedaan kuantitas DNA dari setiap kelompok usapan.</li> <li>- Ekstraksi dilakukan dengan metode <i>Chelex</i>, kemudian hasil ekstraksi dikuantifikasi dengan <i>Nanodropspectrophotometer 200</i>.</li> </ul>
	<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Berdasarkan pada pengukuran didapatkan kelompok usapan 5x, 10x, dan 20x menunjukkan peningkatan kuantitas DNA yang searah dengan peningkatan jumlah usapan yaitu 5x usapan dengan rerata 52.88 ng/μl, 10x usapan dengan rerata 70.77 ng/μl dan 20x usapan dengan rerata 119.38 ng/μl</li> <li>- Pada pengusapan 20x dan 30x didapatkan penurunan kuantitas DNA yang berbanding terbalik dengan jumlah usapan.</li> <li>- Hal ini dapat disebabkan karena efektifitas maksimal dari alat pengusap yang digunakan telah mencapai titik maksimal pada 20x usapan sehingga penambahan usapan tidak meningkatkan kuantitas DNA yang diekstraksi. Pada pengusapan berlebih, juga menyebabkan meningkatnya produksi saliva yang dapat mempengaruhi kuantitas DNA.</li> <li>- Mukosa bukal juga dapat mengalami iritasi pada pengusapan terlalu banyak oleh karena itu perlu diperhatikan jumlah usapan yang optimal dalam pengambilan sampel.</li> <li>- Terdapat perbedaan kuantitas DNA dari buccal swab dengan jumlah usapan yang berbeda dengan 20x usapan menunjukkan kuantitas DNA yang optimal.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <p>sampel terlalu sedikit, alat yang digunakan tidak spesifik human DNA (lebih disarankan menggunakan human quantifiler) dan dalam penelitian ini tidak diteliti faktor lain yang mempengaruhi kuantitas DNA dengan buccal swab seperti jenis kelamin, kebiasaan merokok, penyakit metabolik, dan lain sebagainya.</p>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bermanfaat dalam mengetahui jumlah usapan yang optimal dalam pengambilan sampel bukal sehingga tidak melukai dan dapat menghasilkan kuantitas dan kualitas DNA yang tinggi.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p>

	<p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Jumlah usapan dalam swab bukal dalam pengambilan sampe DNA yang optimal.</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b> Teknologi DNA</p>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

15.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b> Wellbrock, A. H. J., Bauch, C., Rozman, J., dan Witte, K. 2012. Buccal swabs as a reliable source DNA for sexing young and adult Common Swift (<i>Apus apus</i>). <i>Journal Ornithol</i> 153(3): 991-994. DOI: 10.1007/s10336-012-0843-1.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Umumnya sampel darah atau bulu yang diambil untuk mendapatkan DNA, namun kedua sampel ini berbahaya dan mungkin memiliki efek negative pada keberhasilan pemuliaan dan kelangsungan hidup burung-burung bersarang.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Melakukan evaluasi dengan menggunakan penyeka bukal burung bersarang (umur 0-14 hari) dan dewasa dari <i>Apus apus</i> dan membandingkannya dengan sampel darah.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Apakah penyeka bukal dapat digunakan pada burung bersarang (umur 0-14 hari) dan dewasa dari <i>Apus apus</i>?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pengambilan darah pada burung bersarang mempengaruhi kelangsungan hidup karena ukuran tubuh yang kecil dan massa tubuh yang rendah.</li> <li>- studi eksperimental, perlu untuk menentukan jenis kelamin dari sarang sesegera mungkin setelah menetas. Dengan demikian, metode pengambilan sampel noninvasif layak sebagai alternatif untuk mendapatkan DNA yaitu dengan sampel penyeka bukal.</li> </ul>
	<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b> <b>Waktu Penelitian:</b> selama musim kawin tahun 2009 dan 2010. <b>Lokasi Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Jembatan jalan raya beton federal yang membentang di Bigge Reservoir dekat Olpe, Rhine-Westphalia Utara, Jerman</li> </ul> <p><b>Total Sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 11 burung dewasa dan 53 burung burung bersarang.</li> <li>- Pada saat pengambilan sampel, 26 burung berusia 0-4 hari dan 27 burung berusia 8-14 hari.</li> </ul> <p><b>Pengumpulan Sampel:</b> <b>Sampel penyeka bukal:</b> pengambilan sampel bukal dengan mengikuti mini kit yang dikembangkan oleh Adam, dkk (pers. comm.; Adam's man- ual). <b>Sampel darah:</b> pengambilan sampel darah dari individu yang sama dengan venipuncture brakialis (disimpan dalam 1 ml buffer PBS / EDTA).</p>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pengambilan sampel pada burung bersarang dilakukan pada umur 18-21 hari.</li> </ul> <p><b>Analisis Genetik:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- DNA swab buccal diekstraksi sesuai dengan protokol manual Adam.</li> <li>- Sampel darah diekstraksi dengan NucleoSpin™ blood purification kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany) atau menggunakan standard proteinase K/chloroform-isoamyl alcohol method.</li> <li>- Sekuens diamplifikasi dengan gen CHD dengan primer P8/P2.</li> <li>- Amplifikasi PCR dilakukan dalam volume akhir 25 µl TProfessional thermocycler (Bio- metra, Göttingen, Germany).</li> <li>- PCR dengan DNA dari penyeka bukal dimulai predenaturasi pada 94 ° C selama 5 menit, dilanjutkan denaturasi selama 46 siklus 94 ° C selama 30 detik, siklus annealing 47 ° C selama 30 detik, dan extension pada 72 ° C selama 45 detik, dan selesai dengan 72 ° C selama 5 menit (manual Adam).</li> <li>- Volume reaksi dengan DNA dari darah menjalani program yang dimulai dengan predenaturasi 95 ° C selama 2 menit, dilanjutkan dengan denaturasi 31 siklus 94 ° C selama 30 detik, siklus annealing pada 47 ° C selama 1 menit, dan extension 72 ° C selama 45 detik, dan berakhir dengan 72 ° C selama 7 menit. PCR dilakukan hanya sekali per individu.</li> <li>- Panjang fragmen ditentukan dengan paket perangkat lunak Peak Scanner™, versi 1.0 (Applied Biosystems, Life Technology Corp, CA, USA).</li> <li>- Penetapan jenis kelamin berdasarkan tidak adanya (pria) atau ada (perempuan) dari sinyal 380 bp dari kromosom W</li> </ul>
	<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pada burung bersarang menunjukkan 26 jantan dan 27 betina..</li> <li>- Hasil DNA dari penyeka bukal menunjukkan bahwa 47 ekor dari 53 ekor dapat diamplifikasi.</li> <li>- Dalam 46 dari 47 sampel (98%), penentuan jenis kelamin berdasarkan DNA dari swab bukal identik dengan yang didasarkan pada DNA dari sampel darah.</li> <li>- Pada burung dewasa, 10 dari 11 ekor burung menunjukkan penyeka bukal dapat digunakan untuk penentuan jenis kelamin (91%).</li> <li>- Kecocokan dari penyeka bukal dan DNA dari darah adalah 100%.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mengetahui sampel DNA dari burung yang dapat dijadikan sebagai alternatif dalam memperoleh DNA.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sampel non-invasive yang dipakai sebagai alternative dalam memperoleh DNA.</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b> Teknologi DNA, molecular sexing</p>



	<b>Lain-lain</b>
--	------------------

16.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Harvey, M. G., Bonter, D. N., Stenzler, L. M., dan Lovette, I. J. 2006. A comparison of plucked feathers versus blood samples as DNA for molecular sexing. <i>Journal Field Ornithol</i> 77(2): 136-140.  DOI: 10.1111/j.1557-9263.2006.00033.x.</p> <p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bulu semakin banyak digunakan sebagai sumber DNA yang tidak merusak untuk penelitian genetika burung. Walaupun sampel bulu tidak optimal dalam beberapa hal penting dibanding sampel darah, namun pengambilan sampel bulu hanya membutuhkan lebih sedikit pelatihan untuk penanganan burung, membutuhkan waktu yang singkat, tidak menghasilkan limbah berbahaya, dan memerlukan prosedur penyimpanan yang lebih sederhana.</li> <li>- Oleh sebab itu, dibandingkan kegunaan dan keandalan bulu dengan sampel darah yang tradisional sebagai sumber DNA untuk PCR berbasis sexing Black-capped chickadees (<i>Poecile atricapilla</i>).</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mengevaluasi keandalan DNA yang berasal dari bulu untuk penentuan jenis kelamin pada burung berbasis PCR.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- apakah sampel bulu dapat diandalkan sebagai sumber DNA dalam penentuan jenis kelamin pada burung berbasis PCR?</li> </ul> <p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sampel bulu telah lebih jarang digunakan untuk jenis kelamin molekuler, tetapi mereka juga mewakili jenis jaringan yang menarik, karena memetik bulu tunggal adalah salah satu cara yang paling tidak invasif untuk memperoleh sampel genetik.</li> </ul> <p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b>  <b>Waktu Penelitian:</b> 29 September – 6 Desember 2004  <b>Lokasi pemasangan jaring:</b> Lima stasiun pemberian makanan dalam jarak 20 km dari Ithaca, New York, AS  <b>Total Sampel:</b> 102 sampel</p> <p><b>Pengumpulan Sampel:</b>  <b>Darah:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Masing-masing individu, dikumpul darah sebanyak 80 µl (setara 1-2 tetes) dalam tabung kapiler yang telah diheparinisasi.</li> <li>- Sampel darah dipindahkan ke tabung yang mengandung 0,5 ml buffer lisis darah.</li> <li>- Sampel darah diawetkan dengan buffer lalu disimpan pada suhu 4°C</li> </ul> <p><b>Bulu:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bulu diambil pada individu yang sama dengan menarik satu rectrix dari masing-masing burung. Sampel bulu kemudian dimasukkan pada suhu kamar dalam amplop glassine.</li> </ul> <p><b>Metode Laboratorium:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- DNA diekstraksi dari sampel darah menggunakan Perfect gDNA Blood</li> </ul>
-----	--

	<p>mini kit (Eppendorf, Westbury, NY, USA) dengan sedikit modifikasi dari protokol pabrik.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- DNA dari bulu diekstraksi dari sel-sel pulpa di dalam ranchis luar dengan DNeasy kit (QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA) mengikuti protokol pabrik dan mengambil tindakan pencegahan untuk mencegah kontaminasi silang.</li> <li>- Reaksi PCR terdiri dari denaturasi selama 1 menit pada 94°C diikuti oleh 30 siklus (darah) atau 40 (bulu dan darah) 94°C selama 30 detik, tahap annealing pada 48°C selama 45 detik, tahap extension pada 72°C selama 45 detik dan tahap elongasi selama 5 detik pada 72°C.</li> <li>- Jenis kelamin ditetapkan dengan mengitung jumlah pita pada setiap jalur dan memperkirakan panjang fragmen realit terhadap ukuran DNA.</li> </ul> <p><b>Sekuensing DNA dan identifikasi alel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Identitas lokus ditentukan dengan membandingkan urutan yang dihasilkan dengan database GenBank menggunakan pencarian BLAST.</li> <li>- Sampel dianalisis untuk absorbansi pada 260 dan 280 nm menggunakan SmartSpec 3000 Spectrophotometer dengan quartz micro spectrophotometer cell (Bio-Rad Labs., Hercules, CA, USA).</li> <li>- Pada kedua sampel diuji dengan uji t varian dua sampel yang tidak sama untuk menentukan perbedaan.</li> </ul>
	<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Berdasarkan hasil reaksi didapatkan 49 betina dan 53 jantan.</li> <li>- Bulu dapat memberikan bukti bahwa bulu dapat memberikan DNA yang cukup untuk reaksi <i>molecular sexing</i>.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tidak diketahui jenis burung apa yang digunakan dalam penelitian ini</li> <li>- Sumber sampel darah tidak diketahui dari tubuh burung bagian mana.</li> </ul>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Untuk mengetahui apakah sampel bulu dapat diandalkan sebagai sumber DNA untuk <i>molecular sexing</i>.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Terkait dalam perbandingan sampel invasive dan non-invasive yaitu darah dan bulu untuk membuktikan apakah sampel non-invasive dapat diandalkan dalam <i>molecular sexing</i>.</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b> Teknologi DNA, molecular sexing</p>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

17.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b> Çakmak, E., Pekşen, Ç. A., dan Bilgin, C. C. 2017. Comparison of three different primer sets for sexing birds. <i>Journal of Veterinary Diagnostic Investigation</i> 29(1): 59-63. DOI: 10.1177/1040638716675197.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p>

<ul style="list-style-type: none"> <li>- banyak spesies burung bersifat monomorfik yang sulit ditentukan jenis kelaminnya secara akurat.</li> <li>- Pasangan primer telah banyak dikembangkan untuk penelitian, namun belum dilakukan perbandingan keberhasilan pasangan primer tersebut. Oleh karena itu, dilakukan perbandingan antara tiga pasangan primer berbeda untuk mengetahui tingkat keberhasilannya.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Membandingkan 3 pasangan primer berbeda untuk mengetahui tingkat keberhasilan ketiga pasang primer <i>molecular sexing</i> burung.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bagaimana perbandingan tingkat keberhasilan pada ketiga pasang primer dalam <i>molecular sexing</i> burung?</li> </ul>
<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- mengetahui jenis kelamin pada suatu individu penting dalam pembiakan, konservasi, ilmu sains dan berkontribusi terhadap keanekaragaman hayati.</li> <li>- Penentuan jenis kelamin berbasis DNA menggunakan PCR dengan gen CHD biasa dikuatkan dengan primer tertentu yang member pola pita berbeda pada gel agarose.</li> <li>- Ketiga primer yang digunakan pada penelitian ini adalah primer-primer yang sering digunakan oleh peneliti.</li> </ul>
<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b></p> <p><b>Waktu Penelitian:</b></p> <p><b>Lokasi Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- kebun binatang Bursa, Antalya, dan Ankara</li> <li>- Fasilitas penangkaran di Birecik, Turki</li> </ul> <p><b>Total Sampel:</b> 230 sampel (bulu=57; darah= 173)</p> <p><b>Pengumpulan Sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sampel darah sebanyak 10-100 <math>\mu</math>L dikumpulkan dan disimpan dalam tabung yang berisi K3-EDTA.</li> <li>- Sampel bulu sebanyak 1-8 dipetik dari bagian ekor dan sayap kemudian dimasukkan kedalam amplop kecil dalam keadaan kering.</li> <li>- Semua sampel disimpan pada suhu 4°C sampai dilakukan isolasi DNA.</li> </ul> <p><b>Amplifikasi DNA:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tiga pasangan primer yang digunakan yaitu CHD1F/CHD1R, 2550F/2718R dan P2/P8.</li> <li>- Amplifikasi dengan P2/P8 diawali inkubasi awal pada 94°C selama 4 menit, diikuti 40 siklus pada 94°C selama 30 detik, 51 ° C selama 45 detik, dan 72 ° C selama 45 detik, dan perpanjangan lebih lanjut pada 72 ° C selama 5 menit.</li> <li>- Amplifikasi 2250F/2718R dan CHD1F/CHD1R, mengikuti touchdown scheme7 dimana suhu annealing akan beerkurang 1°C per siklus, mulai dari 57°C, hingga mencapai 50 ° C, diikuti 30 siklus dan final extension pada 74°C selama 5 menit.</li> <li>- Produk PCR di jalankan pada agarose 3% selama 75 menit pada 90 V dalam buffer Tris-borate EDTA standard.</li> </ul>
<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Analisis produk P2 / P8 PCR pada agarosa gel menunjukkan band tunggal yang jelas dengan ukuran yang sama pada kedua jenis kelamin dalam ordo Galliformes, Ciconiiformes, Phoenicopteriformes, Gruiformes,</li> </ul>

	<p>Accipitriformes, Columbiformes dan Piciformes.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kualitas DNA yang relatif tinggi berkaitan langsung dengan jumlah bulu yang diambil dari burung dan ukurannya daripada kesegaran atau jenis sampel bulu.</li> <li>- Tingkat keberhasilan 3 pasangan primer berbeda dalam sampel bulu adalah 70,2%, 57,9%, dan 64,9% untuk CHD1F/CHD1R, 2550F/2718R, dan P2/P8.</li> <li>- Berdasarkan elektroforesis gel agarosa, tingkat keberhasilan pasangan primer CHD1F/CHD1R, 2550F/2718R dan P2/P8 adalah 91,2% (n=230), 56,2% (n=230) dan 50,9% (n=230).</li> <li>- Primer CHD1F/CHD1R dan P2/P8 mampu menentukan jenis kelamin berbagai spesies burung dari ordo yang berbeda, sedangkan 2550F/2718R hanya sebagian yang berhasil.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b> sumber sampel darah tidak diketahui dari tubuh burung bagian mana.</p>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Membandingkan tiga pasangan primer yang paling sering digunakan oleh peneliti sehingga dapat diketahui primer mana yang paling baik digunakan untuk berbagai macam ordo dengan tingkat keberhasilan tertinggi.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b> <b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Perbandingan sampel invasive dan non-invasif.</li> <li>- Perbandingan primer yang paling baik digunakan untuk ordo Passeriformes.</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b> Teknologi DNA, molecular sexing</p>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

18.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b> Purwaningrum, M., Nugroho, H.A., Asvan, M., Karyanti, K., Alviyanto, B., Kusuma, R., dan Haryanto, A. 2019. Molecular techniques for sex identification of captive birds. <i>Veterinary World</i> 12(9): 1506-1513. <a href="http://www.veterinaryworld.org/Vol.12/September-2019/23.pdf">www.veterinaryworld.org/Vol.12/September-2019/23.pdf</a></p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sulit menentukan jenis kelamin pada beberapa spesies burung monomorfik, terutama burung muda berdasarkan analisis eksternal.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Menilai kegunaan penanda molekuler non-invasif untuk identifikasi jenis kelamin berbagai burung monomorfik burung yang ditawan sebagai strategi untuk konservasi.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Apakah penanda molekuler secara non-invasif dapat diandalkan dalam mengidentifikasi jenis kelamin monomorfik pada burung yang ditawan sebagai strategi untuk konservasi?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Identifikasi jenis kelamin yang akurat sangat penting untuk penangkaran burung dan studi evolusi. Metode dengan tingkat invasif yang bervariasi</li> </ul>

<p>seperti ventilasi seks, bedah laparoskopi, steroid, dan pemeriksaan kromosom (karyotyping) digunakan untuk identifikasi jenis kelamin pada burung monomorfik</p>
<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b></p> <p><b>Lokasi Pengambilan sampel:</b> Kebun binatang gembira loka Yogyakarta dan Fasilitas pembibitan pusat penelitian biologi, LIPI, Indonesia.</p> <p><b>Total Sampel:</b> 52 individu yang mewakili 16 spesies dari 11 famili dari Indonesia dan beberapa dari tempat lain.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Gen CHD diperkuat menggunakan reaksi rantai polimeras dengan MP, NP dan primer PF untuk memperkuat intron dengan panjang yang berbeda antara CHD-W dan CHD-Z.</li> </ul> <p><b>Ekstraksi DNA:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- bulu diambil sebanyak tiga bulu, termasuk calamus (n=54) dipotong dan dipindahkan kedalam tabung Eppendorf.</li> <li>- Ekstraksi DNA menggunakan kit komersial gSYNC DNA extraction kit sesuai dengan dari pabrik dengan beberapa modifikasi.</li> </ul> <p><b>PCR:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Produk ekstraksi DNA dapat langsung diamplifikasi oleh PCR: Fragmen DNA diamplifikasi dengan menargetkan gen CHD pada DNA kromosom seks menggunakan primer P2, NP, dan MP.</li> <li>- Kontrol positif, DNA yang diisolasi dari burung monomorfik betina dan jantan dari jenis kelamin diketahui</li> </ul> <p><b>Elektroforesis:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Elektroforesis dilakukan pada 2,5% agarose gel dengan pewarnaan FluoSaf e dalam 100 ml larutan buffer 1 x Trisborate EDTA.</li> <li>- Hasil PCR dari sampel bulu burung jantan dan betina diharapkan menunjukkan hasil yang sangat berbeda, dengan pita DNA tunggal pada jantan dan dua pada betina.</li> </ul>
<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Identifikasi jenis kelamin dapat dilakukan secara non-invasif pada burung, karena jantan hanya memiliki kromosom seks Z, sedangkan betina memiliki kromosom Z dan W.</li> <li>- Jenis kelamin burung sangat penting untuk penelitian ilmiah, dan untuk meningkatkan tingkat keberhasilan program pemuliaan konservasi.</li> </ul>
<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p>
<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mengetahui bahwa penentuan jenis kelamin secara molekuler penting dalam program pemuliaan burung-burung yang ditawan.</li> </ul>
<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Penggunaan sampel bulu sebagai sumber DNA untuk identifikasi jenis kelamin burung yang ditawan.</li> </ul>
<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b> Teknologi DNA, <i>molecular sexing</i></p>
<p><b>Lain-lain</b></p>

--	--

19.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b>  Arima, H., Ohnishi, N. 2006. Usefulness of avian buccal cells for molecular sexing. <i>Ornithological Science</i> 5: 139-143.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pengambilan sampel non-invasif telah menjadi penting dalam analisis DNA dalam ekologi unggas.</li> <li>- Penelitian sebelumnya membandingkan sampel non-invasif untuk studi molekuler, namun hanya satu spesies yang digunakan yaitu <i>Erithacus komadori</i>.</li> <li>- Penelitian ini dilakukan penentuan jenis kelamin berdasarkan DNA yang diekstraksi dari sel-sel bukal dari 12 spesies burung liar.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Menentukan jenis kelamin berdasarkan DNA yang diekstraksi dari sel-sel bukal dari 12 spesies burung liar dan membandingkan efisiensi sel sel-sel bukal burung sebagai sampel non-invasif untuk studi molekuler.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Apakah DNA yang diekstraksi dari sel-sel bukal dapat diandalkan sebagai sampel non-invasif untuk analisis DNA dalam ekologi unggas?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sampel non-invasif penting dalam studi analisis DNA dalam studi ekologi unggas .</li> <li>- Sampel non-invasif yang banyak digunakan saat ini adalah sampel darah, bulu atau sampel urin.</li> <li>- Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sampel dari sel-sel bukal mudah dilakukan, aman, dan memakan waktu lebih sedikit daripada pengambilan sampel darah.</li> <li>- Fragmen CHD1Z yang diperoleh oleh set primer biasanya berukuran 600-650 bp, dan fragmen CHD1W terdiri dari 400-450 bp pada sebagian besar spesies unggas</li> </ul>
	<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b>  <b>Waktu Pengambilan sampel:</b> Februari dan Juni Tahun 2004 dan 2005.  <b>Lokasi Pengambilan sampel:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hutan Stasiun Eksperimental Kamigamo, Pusat Pendidikan dan Penelitian Ilmi Pengetahuan Lapangan, Universitas Kyoto.</li> <li>- Gunung Dai-monji</li> <li>- Kota Tanba.</li> <li>- Pulau Kanmuri</li> <li>- Sungai Yasu, Kota Moriyama</li> <li>- Taman Danau Koyaike, Kota Itami.</li> </ul> <p><b>Total Sampel:</b> 107 individu dari 12 spesies burung liar.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Ciconiiformes</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 Great Cormorant (<i>Phalacrocorax carbo</i>)</li> </ol> </li> <li>- <b>Passeriformes</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>2 Bull-headed Shrike (<i>Lanius bucephalus</i>)</li> <li>3 Red-flanked Bluetail (<i>Tarsiger cyanurus</i>)</li> <li>4 Daurian Redstart (<i>Phoenicurus auroreus</i>)</li> <li>5 Pale Thrush (<i>Turdus pallidus</i>)</li> </ol> </li> </ul>

- 6 Narcissus Flycatcher (*Ficedula narcissina*)
- 7 Blue-and-white Flycatcher
- 8 *Cyanoptila cyanomelana*
- 9 Japanese Paradise Flycatcher
- 10 *Terpsiphone atrocaudata*
- 11 Great Tit (*Parus major*)
- 12 Japanese Bush Warbler (*Cettia diphone*)

**Pengumpulan Sampel:**

Darah:

- Darah *Phalacrocorax carbo* diambil 10 µl dan dikumpulkan, kemudian diekstraksi dengan metode dari Fridolfsson dan Ellegren (1999).

Swab bukal:

- Burung yang telah ditangkap digulung kapas ke bagian dalam mulut dan tenggorokan masing-masing selama sekitar 5 detik.
- Setiap swab ditempatkan ke dalam mikrotube yang berisi 1 ml etanol 99,5% dan diputar selama 10 detik, kemudian swab dibuang.
- Mikrotube disimpan pada suhu -20°C sekitar tiga bulan.

**Ekstraksi DNA:**

- Setiap mikrotube disentrifugasi pada suhu 4°C pada 14.000 rpm selama 15 menit, etanol dibuang dan pellet tetap dibiarkan sampai mengering.
- Masing-masing sampel dilarutkan dengan 400 µl buffer STE dengan 4 µl SDS 10% dan Protein K pada suhu 37°C semalaman.
- Pemurnian dilakukan dengan metode fenol/kloroform konvensional.

**Amplifikasi DNA:**

- Pasangan primer yang digunakan yaitu 2550F/2718R.
- Semua PCR dilakukan dalam volume 10ml pada Perkin Elmer 9600 Thermal Cycler.
- Penelitian ini menggunakan tiga metode PCR untuk semua sampel yaitu one step PCR dengan Ampli *taq* Gold (Applied Biosystems) sebagai *taq* DNA polymerase (PCR tunggal); PCR kedua menggunakan 0,5 µl produk PCR tunggal sebagai template (PCR dua langkah); dan 2 µl dari 5 amplitudo (buffer reagen untuk DNA semi-murni, Shi-madzu).
- Genotip ditentukan oleh elektroforesis pada gel agarose 2% yang mencakup 100 bp DNA ladder (Takara) selama 30 menit pada 100 Volt.

**Temuan dan Hasil**

- PCR tunggal menghasilkan pita bening dari 82,2% (88/107) dari semua sampel sel bukal
- PCR dua langkah menghasilkan pita jernih dari 95,3% (102/107) dari semua sampel sel bukal
- PCR Ampdirect menghasilkan pita jernih dari 98,1% (105/107) dari semua sampel sel bukal.
- Hasil penentuan jenis kelamin berdasarkan karakteristik morfologis atau DNA darah dan DNA bukal konsisten 100%.
- PCR tunggal dari DNA darah adalah 100% (14/14), namun tingkat PCR tunggal menggunakan DNA bukal hanya 57,1% (8/14).
- Tingkat keberhasilan PCR dua-langkah dan Ampdirect dari DNA bukal adalah 71,4% (10/14) dan 85,7% (12/14), masing-masing. Dalam dua metode tambahan ini, meskipun tingkat keberhasilan dari DNA bukal (71,4% dan 85,7%) kurang dapat diandalkan daripada menggunakan DNA darah (100%), perbedaan dalam tingkat antara sampel tidak signifikan

	secara statistic.
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b> Sumber sampel darah tidak diketahui dari tubuh burung bagian mana dan dengan alat apa.</p>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dapat mengetahui tingkat keberhasilan tiga metode PCR yang digunakan sehingga dapat diketahui metode mana yang lebih baik.</li> <li>- Dapat mengetahui teknik pengambilan sampel DNA dengan swab trakea.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b> <b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Menguji keandalan sampel non-invasif yang digunakan.</li> <li>- Teknik pengambilan sampel DNA dengan swab</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b> Teknologi DNA, <i>molecular sexing</i></p>
	<b>Lain-lain</b>

20.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b> Eiben, K., Fay, R., Jung, A., Rasmussen, A., dan Russel, J. 2019. Determination of the boreal owl (<i>Aegolius funereus</i>) using buccal swabs and improved molecular techniques. <i>Journal Raptor</i> 51(1): 68-71.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Penentuan jenis kelamin burung penting untuk penelitian evolusi, pertumbuhan, perilaku dan ekologi, tetapi sulit untuk burung yang bersifat monomorfik secara seksual.</li> <li>- Burung hantu yang tidak selamat sampai dewasa biasanya mati dalam 16 hari pertama. Oleh karena itu, penting menggunakan metode penentuan jenis kelamin secara akurat yang tidak secara negative mempengaruhi tingkat kelangsungan hidup individu.</li> </ul> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Melaporkan metode menggabungkan pengumpulan DNA non-invasif menggunakan penyeka bukal dan teknik penentuan jenis kelamin berbasis PCR yang ditingkatkan secara khusus dirancang untuk burung hantu boreal.</li> </ul> <p><b>Pertanyaan Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bagaimana tingkat keberhasilan penggabungan metode pengumpulan DNA non-invasif menggunakan penyeka bukal dan teknik penentuan jenis kelamin berbasis PCR?</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Aegolius funereus</i> adalah burung hantu yang tersebar luas dari wilayah sirkumboreal dan karena letaknya dekat bagian atas jaring makanan boreal, burung ini digunakan sebagai bioindikator penting kesehatan hutan.</li> <li>- Sebagian besar penelitian tentang penentuan jenis kelamin burung sangat bergantung pada DNA genom yang diekstraksi dari sampel darah atau jaringan, namun bagi burung hantu boreal sedikit bermasalah karena perilakunya yang kanibalisme.</li> </ul>



<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b></p> <p><b>Waktu Penelitian:</b> 30 hari</p> <p><b>Lokasi Penelitian:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Area studi dan pengumpulan sampel yang berisi sekitar 100 kotak sarang yang dipasang oleh Department of Fish and Game (ADFG) dalam jarak 161 km dari Fairbanks, AK.</li> <li>-</li> </ul> <p><b>Pengumpulan Sampel:</b></p> <p>Swab :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pengumpulan sampel swab DNA digunakan Epicenter Catch-All (Illumina, Madison, WI U.S.A.) untuk menyeka burung hantu yang muda.</li> <li>- Swab bukal dikeringkan kemudian dimasukkan ke cryotube dan ditutup. Sampel disimpan pada -20°C.</li> </ul> <p><b>Ekstraksi DNA genomic:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Isolasi DNA genom burung hantu boreal menggunakan protokol buccal swab spin dari QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) tanpa modifikasi.</li> <li>- Penentuan jenis kelamin pada burung hantu digunakan dua pasangan primer yaitu P2/P8 dan 2550F/2718R.</li> <li>- Reaksi PCR dilakukan dalam volume 50 µl Eppendorf Mastercycler Pro S (Eppendorf, Hamburg, Germany).</li> </ul> <p><b>Pemurnian Produk PCR, Sekuensing dan Protokol PCR Baru :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Permurnian primer dilakukan sekuensing DNA menggunakan QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Hilden, Germany).</li> <li>- Tiga primer yang baru dirancang adalah sebagai berikut: BOOW CHD forward (5'-TGAAGTATCGTCAGTTTCC-3'); CHDreverse (5'-GCCACACTTCACATACTAT-30); dan CHDreverse (5'-TGAGACACTGGCACAGATT-30).</li> </ul>
<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Metode penentuan jenis kelamin menggunakan metode dari Griffith dkk, (1998) menunjukkan pemisahan band yang diamplifikasi lemah, sedangkan dengan metode Fridolffson dan Ellegren (1999) dapat mengamplifikasi sebanyak 21/50 burung (42%) dan 37/50 burung (74%) untuk metode baru.</li> <li>- Ketiga sampel menunjukkan jenis kelamin betina.</li> </ul>
<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p>
<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dapat mengetahui metode mana yang dapat paling baik untuk penentuan jensi kelamin.</li> <li>-</li> </ul>
<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Penggunaan swab bukal untuk identifikasi jenis kelamin burung hantu boreal.</li> <li>- Metode isolasi DNA untuk swab bukal.</li> <li>- Metode pengambilan sampel swab bukal.</li> </ul>

	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b> Teknologi DNA, <i>molecular sexing</i></p>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

21.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b> Malagó Jr, W., Franco, H. M., Matheucci Jr<sup>2</sup>, E., Medaglia, A., dan Hendrique-Silva, F. 2020. Large scale sex typing of ostriches using DNA extracted from feathers. <i>BMC Biotechnology</i> 2: 1-4.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b> Pada banyak spesies burung, sangat sulit untuk membedakan antara jantan dan betina berdasarkan analisis morfologi luarnya, terutama burung muda. Selain itu, setiap prosedur diskriminatif yang digunakan harus aman, akurat, cepat dan murah. Kariotipe mungkin merupakan pilihan yang baik untuk jenis kelamin burung, tetapi sayangnya, perbedaan rendah kromosom Z dan W menghalangi pendekatan ini pada burung unta. Sampai saat ini, dua metode berbasis PCR telah ditetapkan untuk penentuan jenis kelamin burung unta, namun tidak satupun dari metode tersebut dimaksudkan untuk analisis skala besar. Penelitian ini melaporkan protocol yang diadaptasi untuk melakukan penilaian gender skala besar menggunakan bulu burung unta tersebut.</p> <p><b>Tujuan:</b> Penelitian ini melaporkan protocol yang diadaptasi untuk melakukan penilaian gender skala besar menggunakan bulu burung unta tersebut.</p>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Menggunakan dua metode yang melibatkan DNA yang diekstraksi dari darah dan belum diadaptasi untuk analisis skala besar.</li> <li>- Primer control yang digunakan berbeda untuk menentukan set terbaik untuk menghindari segala jenis pita palsu.</li> <li>- Prosedur yang diadaptasi menggunakan 96 sumur pelat PCT dengan menyediakan metode skala besar.</li> </ul>
	<p><b>Metode Penelitian, Sampel, Variabel</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sampel yang digunakan berasal dari 100 individu burung unta.</li> <li>- Metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi alkali. Pada pengujian ini menggunakan primer spesifik.</li> <li>- Reaksi yang digunakan menggunakan primer betina spesifik yang terkait dengan mikrosatelir L014 mikrosatelit primer.</li> <li>- Reaksi multiplex yang dilakukan dengan primer OSM5</li> </ul>
	<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Reaksi menggunakan primer betina spesifik menunjukkan pita ekstra sekitar 500 bp, yang terutama terlihat pada jantan. Pita ini menyebabkan salah tafsir, terutama dalam analisis skala besar, dimana jantan dapat diidentifikasi sebagai betina. Tidak satupun dari primer control lainnya menghasilkan pita palsu.</li> <li>- Setelah dibandingkan dengan yang lain, reaksi multiplex yang dilakukan</li> </ul>

	<p>dengan primer OSM5 menghasilkan pita amplifikasi yang lebih intens dan jelas.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Set primer digunakan untuk penentuan jenis kelamin 100 individu dan memverifikasi keakuratan 100%, karena reaksi yang dibuat.</li> <li>- DNA ekstraksi pada 96 pelat PCR yang baik bekerja dengan baik, memberikan DNA yang cukup untuk PCR dan membutuhkan waktu kurang dari satu jam untuk menyelesaikannya. Menggunakan replikator baja, DNA dengan mudah dipindahkan langsung ke pelat PCR yang berisi agen reaksi. Pendekatan ini memungkinkan tidak hanya analisis skala besar tetapi juga berguna untuk mencegah kontaminasi silang di PCR dan pertukaran sampel yang tidak disengaja, dan dapat digunakan untuk analisis lain seperti uji induk dan lain-lain.</li> </ul>
	<p><b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Metode yang digunakan tidak dijelaskan secara lengkap.</li> <li>- Tidak diketahui bagaimana mendapatkan sampel bulu..</li> </ul>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Untuk mengetahui tentang metode berbasis PCR dan sampel yang dalam penentuan jenis kelamin burung unta.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bulu sebagai sumber DNA untuk <i>Molecular sexing</i></li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b> Penentuan jenis kelamin burung menggunakan DNA dari bulu.</p>
	<p><b>Lain-lain</b></p>

22.	<p><b>Nama Penulis, Judul, Jurnal, web/doi</b> Brown, M. B., dan Brown, C. R. 2009. Blood sampling reduces annual survival in Cliff Swallows (<i>Petrochelidon pyrrhonota</i>). <i>The Auk</i> 126(4): 853-861.</p>
	<p><b>Latar Belakang Penelitian, Permasalahan, Tujuan/Pertanyaan Penelitian</b> Peneliti biasanya mengumpulkan sampel darah dari burung liar dan sebagian besar berasumsi bahwa pengambilan sampel darah tidak memiliki efek buruk pada kelangsungan hidup burung. Namun, beberapa penelitian tersebut hanya dilakukan pada burung penangkaran saja yang tidak memiliki kontrol yang memadai dengan menggunakan burung yang tidak diambil darah yang ditangani dengan cara yang sama pada saat yang sama. Hal tersebut menegaskan bahwa perdarahan tidak berpengaruh tanpa menyajikan data dengan pengamatan kembali atau menangkap kembali untuk melihat persentase perkiraan yang valid secara statistic dari kelangsungan hidup actual.</p> <p><b>Tujuan:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Membandingkan antara individu burung Walet Tebing (<i>Petrochelidon pyrrhonota</i>) yang diambil darah dan tidak diambil darah dan memperkirakan kelangsungan hidup menggunakan metodologi statistic modern.</li> </ul>
	<p><b>Kerangka Teori/Konseptual</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Menggunakan kumpulan data pada burung Walet Tebing (<i>Petrochelidon pyrrhonota</i>) yang mencakup 2.945 burung berdarah dan 7.822 burung</li> </ul>

tidak berdarah yang ditangkap pada waktu dan lokasi yang sama di Nebraska barat daya dari tahun 1986 hingga 2006 untuk memperkirakan kelangsungan hidup tahunan dan kemungkinan menangkap kembali setiap kelompok.

**Metode Penelitian, Sampel, Variabel**

**Waktu Penelitian:**

**Lokasi Penelitian:**

- Tebing burung wallet di dekat Stasiun Biologi Cedar Point (41 ° 13'N, 101 ° 39'W) di Keith County, barat daya Nebraska, di sepanjang sungai North Platte dan South Platte; wilayah studi juga mencakup bagian dari kabupaten Deuel, Garden, dan Lincoln.

**Pengumpulan Sampel:**

- Pengambilan sampel darah untuk studi induk dengan menangkap mereka di dalam sarang; burung dewasa ditangkap pada waktu yang sama dengan metode yang sama tetapi tidak diambil sampel darahnya.
- Pemilihan individu burung Walet secara acak tanpa kriteria seleksi yang telah ditentukan dan tanpa pengetahuan tentang karakteristik fenotip pemilik sarang.
- Pengambilan darah dilakukan oleh ahli yang telah memiliki pengalaman dalam hal pengambilan darah.

**Pengambilan darah:**

- Darah diambil dari vena brankialis menggunakan jarum lanset 26. Darah dikumpulkan dalam tabung kapiler 70 µL.
- Mengklasifikasikan unggas yang diambil darah ke dalam dua kelompok yaitu 1-2 tabung kapiler (sekitar 70-140 µL; ini adalah 0,3-0,6% dari masa tubuh, dengan asumsi massa rata-rata untuk burung waket tebing di lokasi penelitian) dan darah yang diambil dalam jumlah besar yaitu 3-4 tabung kapiler (sekitar 210-280 µL; 0,9-1,2% massa tubuh).
- Jika tidak berhasil mengambil darah dari burung tersebut meskipun telah menusuk kulitnya, maka individu tersebut akan dikeluarkan dari analisis.

**Metode mark and recapture:**

- Burung ditangkap pada malam hari dan mengeluarkan burung pada saat fajar. Mist net dipasang melintasi pintu masuk ke gorong-gorong atau di sepanjang sisi jembatan; Di beberapa lokasi, kami menjatuhkan jaring dari atas jembatan.

**Estimasi statistika kelangsungan hidup:**

- Ukuran sampel (AICc) seperti yang disediakan oleh MARK. Secara teori, model dengan AICc terendah disebut model terbaik. Karena kumpulan data kami tidak memenuhi asumsi varians yang melekat dalam distribusi binomial yang digunakan dalam analisis mark-recapture, kami menggunakan quasi-likelihood untuk menyesuaikan model fit dan varians estimasi parameter dengan menghitung parameter dispersi berlebih,  $\hat{c}$ , menggunakan nilai chi-square gabungan berdasarkan tes multistate goodness-of-fit 2 dan 3 di U-CARE. Nilai  $\hat{c}$  2,68 digunakan di MARK untuk menggantikan QAICc untuk AICc, nilai QAICc digunakan untuk pemilihan model dan estimasi parameter. Penyesuaian inflasi varians ini memungkinkan penggunaan kumpulan data yang berangkat dari asumsi distribusi binomial. Karena MARK terkadang salah menghitung parameter yang dapat diperkirakan dalam model, jumlah parameter seperti yang

	diberikan dalam output MARK diperiksa secara manual dan disesuaikan (bersama dengan QAICc) jika diperlukan.
	<p><b>Temuan dan Hasil</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Kelangsungan hidup burung yang diambil darah lebih rendah daripada burung yang tidak diambil darahnya.</li> <li>- Burung yang diambil darahnya mengalami penurunan rata-rata 21-33% dalam kelangsungan hidup, tergantung pada jumlah darah yang diambil dan apakah individu tersebut tinggal di tempat fumigasi (bebas parasit) atau non-fumigasi.</li> <li>- Persen penurunan kelangsungan hidup tahunan lebih tinggi untuk individu yang tinggal pada koloni non-fumigasi.</li> <li>- Semua efek pengambilan sampel darah diterapkan hanya di tahun setelah pengambilan sampel, dan tidak ada efek di tahun-tahun berikutnya.</li> <li>- Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pengambilan sampel darah brakialis bukanlah teknik yang ramah. Peneliti yang mengikuti pedoman 1% dari massa tubuh mungkin mengumpulkan terlalu banyak darah dari burung liar, terutama ketika penelitian membutuhkan sampel berulang dalam waktu singkat.</li> </ul>
	<b>Keterbatasan Penelitian/Kesenjangan</b>
	<p><b>Manfaat Penelitian (Teoritis/Prakti)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Membuktikan bahwa pengambilan sampel darah merupakan merupakan teknik yang dapat berbahaya bagi kelangsungan hidup pada burung-burung kecil.</li> </ul>
	<p><b>Catatan:</b></p> <p><b>1.Keterkaitan dengan Penelitian lain yang dikaji</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pengaruh teknik invasive dalam kelangsungan hidup burung.</li> </ul>
	<p><b>Tema yang muncul dalam isi (Body of literature)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Biologi Konservasi.</li> </ul>
	<b>Lain-lain</b>



Template 2

No. Sitasi	Permasalahan, Tujuan, dan Latar Belakang Penelitian	Kerangka Teori	Metode Penelitian, Sampel, Variabel	Temuan dan Hasil	Keterbatasan Penelitian, Kesenjangan	Manfaat Penelitian (Praktis dan Kebijakan)	Catatan: Keterkaitan Penelitian ini dengan Penelitian lain yang Dikaji	Catatan : Tema yang Muncul dalam isi ( <i>body of literature</i> )
1	Teknik identifikasi jenis kelamin berdasarkan sifat morfologi pada beberapa burung sangat sulit dan memiliki resiko kesalahan yang tinggi. Oleh karena itu, memerlukan metode identifikasi jenis kelamin yang akurat yaitu teknik molekuler. Beberapa sumber DNA invasive maupun	Pengambilan sampel darah termasuk dalam teknik yang cukup invasive yang dapat meningkatkan stress pada unggas dan dapat mempengaruhi kehidupan pada burung kecil. Sedangkan, pengambilan sampel DNA dengan swab trakea, swab kloaka dan feses termasuk	Total sampel adalah 139 yang diambil dari ayam petarung dan 12 sampel dari Sun Conure ( <i>Aratinga solstitialis</i> ) dari segala usian jenis kelamin. Diantara 151 sampel tersebut berasal dari 50 swab trakea, 53 swab kloaka, 24 sampel feses dan 24 sampel darah kering. Sel-sel epitel di trakea diambil dengan menggulung aplikator steril (cotton swab) dibagian dalam mulut dan tenggorokan selama $\pm$ 10 detik, lalu setiap swab ditempatkan dalam tabung microcentrifuge yang mengandung 10,9	Tingkat keberhasilan pada sampel darah kering sebesar 100% pada disemua sampel (n=24), pada sampel swab trakea sebesar 74% (n=50), swab kloaka sebesar 75,47% (n=53) dan feses sebesar 29,71% (n=24). Kelompok sampel feses dengan urat dan tanpa urat mampu mengidentifikasi jenis kelamin dengan tingkat keberhasilan masing-masing 18,75%	Tidak dijelaskan mengenai cara untuk mengetahui kemurniaan genom DNA, tidak diketahui pasti berapa kali kapas swab digulung di dalam trakea dan kloaka, sampel feses yang digunakan tidak diketahui apakah sampel yang sudah kering atau yang masih basah, tidak	Memberikan alternatif pengambilan sampel DNA yang non-invasif menggantikan teknik pengambilan DNA yang invasif yang dapat mengurangi stress pada burung terutama pada burung-burung kecil atau bersarang. Manfaat lain yaitu memberikan	Perbandingan beberapa sumber DNA untuk identifikasi jenis kelamin unggas	Biologi konservasi, Molekuler sexing, Teknologi DNA

	<p>non invasive belum dikaji untuk mengetahui sumber DNA mana yang memiliki tingkat keakuratan yang tinggi dalam identifikasi jenis kelamin burung. Tujuan dari penelitian ini yaitu membandingkan keakuratan sumber DNA dalam identifikasi jenis kelamin burung dengan PCR dengan sumber DNA yaitu darah kering, swab trakea, swab kloaka dan feses.</p>	<p>dalam teknik non-invasif yang dapat mengurangi stress hewan selama pengumpulan sampel.</p>	<p>NaCl. Sampel feses sebanyak 24 sampel dibagi menjadi dua kelompok, yaitu 16 sampel dengan urat dan 8 sampel tanpa urat. Setiap satu gram sampel feses ditempatkan ke dalam tabung centrifuge yang mengandung 95% etanol. Semua sampel disimpan pada suhu -20oC sebelum ekstraksi DNA genom. Sampel darah dikumpulkan dengan kertas saring (kertas saring Whatman grade 1, GE healthcare, Buckinghamshire, UK). Setiap bercak darah dalam kertas saring dipotong 2x2 mm<sup>2</sup>, difiksasi dengan methanol selama 20 menit dan dikeringkan dengan udara selama 20 menit. DNA genom diekstraksi dari sampel swab trakea dan kloaka mengikuti protocol kit Presto™ buccal swab fDNA extraction kit (Geneaid Cat. No.</p>	<p>(n=16) dan 50% (n=8). penentuan jenis kelamin dari sampel darah kering menunjukkan 9 jantan dan 15 wanita, sampel swab trakea mengidentifikasi 12 jantan dan 25 betina, sampel swab trakea mengidentifikasi 11 jantan dan 29 betina dan sampel fese mengidentifikasi 3 jantan dan 4 betina. Sensitivitas sampel swab trakea sebesar 75%, sampel swab kloaka sebesar 91,67% dan sampel feses sebesar 33,33%. Identifikasi unggas dari bercak darah kering memberikan tingkat keberhasilan tertinggi, tetapi mungkin tidak</p>	<p>diketahui dari bagian mana pada tubuh burung yang diambil sebagai sampel darah.</p>	<p>jawaban dalam studi mengenai sumber DNA yang memiliki keakuratan tertinggi dalam identifikasi jenis kelamin dari unggas.</p>		
--	---	---	--	---	--	---	--	--



			<p>GSK100). DNA dari sampel feses diisolasi menggunakan QIAamp® fast DNA stool mini b.kkit (Qiagen Cat. No. 51640), mengikuti protocol kit polymerase. Primer yang digunakan yaitu 2550F dan 2718R</p>	<p>sesuai pada burung yang bersarang. Selain itu, tingkat keberhasilan dari metode yang menggunakan sampel swab trakea dan swab kloaka tidak cukup signifikan secara statistik untuk menjadikannya sampel yang efisien untuk metode non-invasif untuk jenis kelamin burung. Sampel feses memberikan tingkat keberhasilan dan sensitivitas paling sedikit karena ada banyak jenis penghambat PCR. Bulu dan kulit telur menyediakan cukup DNA untuk identifikasi jenis kelamin secara molekuler. Semua sampel memiliki kualitas DNA yang relatif baik (1,8-2,0)</p>				
--	--	--	--	---	--	--	--	--

				kecuali untuk penyeka dan satu kulit telur, dan dua sampel ini memiliki kualitas DNA yang lebih rendah (0,610-1,639).				
2	<p>Bird ringing telah digunakan selama lebih dari satu abad untuk mempelajari migrasi dan biologi burung, dan bahkan hari ini cincin ini merupakan salah satu alat penting dalam studi burung. Nilai data bird ringing dapat meningkat jika data untuk individu yang terhubung digabungkan dengan informasi jenis kelamin. Analisis genetik non-invasif dapat memberikan</p>	<p>Burung air kolonial, seperti bangau, adalah sekelompok burung yang kelangsungan hidupnya tergantung pada tingkat dan kualitas habitat lahan basah. - Untuk mempelajari migrasi dan musim dingin mereka, pemantauan rutin dan penandaan populasi pemuliaan dilakukan selama 10 tahun terakhir.</p>	<p>Spesies yang digunakan yaitu tiga spesies, yaitu burung Kuntul Besar (<i>Ardea alba</i>), Kuntul Ungu (<i>Ardea purpurea</i>), dan Kuntul Abu-abu (<i>Ardea cinerea</i>). sampel non-invasif dari bulu yang molting dan kulit telur, disekitar sarang burung kuntul besar dan kuntul abu-abu. Sampel disimpan dalam amplop kertas pada suhu kamar dan disimpan secara terpisah untuk menghindari kontaminasi silang. Sampel berasal pada bulu calamus, cangkang telur. DNA genom diisolasi menggunakan DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN, Germany) dan protokol standar untuk isolasi</p>	<p>Bulu dan kulit telur menyediakan cukup DNA untuk identifikasi jenis kelamin secara molekuler. Isolasi DNA dengan protokol standar memberikan lebih banyak DNA genomik dari bulu pin (413–2780 ng / <math>\mu</math>L) dan bulu kontur (3–58 ng / <math>\mu</math>L), kulit telur (50–473 ng / <math>\mu</math>L), dan cangkang kulit telur (23– 30 ng / <math>\mu</math>L) bila dibandingkan dengan isolasi dengan kit komersial. Dua protokol isolasi dibandingkan, hasil menunjukkan bahwa hasil DNA</p>	<p>Kurang dilengkapi dengan proses amplifikasi dengan PCR dari kedua metode ekstraksi DNA, jumlah bulu yang diambil tidak tertera</p>	<p>Dapat mengetahui keandalan sampel bulu yang molting, bulu pin ataupun cangkang telur dalam identifikasi jensi kelamin burung, mengetahui metode ekstraksi DNA mana yang dapat mengekstraksi DNA dari ketiga sampel dengan baik dan mengetahui set primer yang efisien dalam identifikasi jenis kelamin kuntul.</p>	<p>Penggunaan sampel non-invasif dalam identifikasi jenis kelamin burung dan sampel non-invasif yang dapat dimanfaatkan untuk molecular sexing.</p>	<p>Teknologi DNA, <i>molecular sexing</i></p>

	<p>informasi tentang jenis kelamin burung, demografi populasi, dan perilaku ekologi. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengevaluasi metode untuk ekstraksi DNA dan identifikasi jenis kelamin secara molekuler dengan menggunakan sampel non-invasif pada tiga spesies bangau.</p>		<p>DNA menurut De Voldk. (2008). Kuantitas DNA (konsentrasi) dan kualitas (A260/A280) diukur menggunakan NanoPhotometer (Implen GmbH, Jerman).</p>	<p>tertinggi diperoleh dari bulu pin dan hasil terendah dari bulu molting. Prosedur isolasi tidak mempengaruhi kualitas DNA (rasio A260/A280) dalam bulu (molting dan pin) atau kulit telur. Semua sampel memiliki kualitas DNA yang relatif baik (1,8-2,0) kecuali untuk penyeka dan satu kulit telur, dan dua sampel ini memiliki kualitas DNA yang lebih rendah (0,610-1,639). Set primer 2550F dan 2718R efisien dalam identifikasi jenis kelamin kuntul untuk kedua protokol ekstraksi.</p>				
3	<p>Bahan biologis yang mengandung DNA seperti darah, sampel</p>	<p>Pengambilan sampel genetik non-invasif adalah penting dalam studi</p>	<p>Tiga sampel berbeda dari bulu yang meranggas yang ditemukan disekitar danau Burdur, bulu yang</p>	<p>Tidak dapat mengekstrak DNA dari bulu ruddy shelduck (<i>Tadorna ferruginea</i>) yang</p>	<p>DNA dari Bulu burung ruddy shelduck (<i>Tadorna ferruginea</i>)</p>	<p>Memberikan informasi mengenai pemilihan sumber DNA</p>	<p>Membandingkan mengenai sampel DNA yang dari</p>	<p>Teknologi DNA, molekuler sexing</p>

	<p>jaringan, rambut, bulu yang terlepas, feses, dan saliva dapat digunakan untuk mengukur keragaman genetic. Sampel-sampel tersebut dapat mengidentifikasi spesies yang sulit dijangkau, mengidentifikasi jenis kelamin, kebiasaan makan, keragaman genetic, struktur populasi dan perilaku reproduktif. Tujuan dari penelitian ini yaitu membandingkan metode pengambilan sampel genetic yang berbeda dari burung berdasarkan keberhasilan</p>	<p>molekuler burung. Namun, kekurangannya adalah sampel yang diperoleh memiliki kualitas rendah dan jumlah DNA rendah. Kualitas DNA yang terkandung dalam darah memiliki kualitas yang tinggi dibandingkan dengan bulu. Pengambilan darah yang bersifat invasif untuk mendapatkan DNA dapat menyebabkan stres atau bahkan merusak populasi untuk mendapatkan materi DNA dari spesies</p>	<p>dipetik dan sampel darah. Bulu yang meranggas berasal dari ruddy shelduck (<i>Tadorna ferruginea</i>) sebanyak 74 buah, ditemukan sepanjang 5-15 meter pertama dari danau tanpa menginvasi spesies. Pengambilan sampel non destruktif dilakukan dengan mencabuti bulu dada dari ayam (<i>Gallus gallus</i>) sebanyak 12 buah yang tumbuh di Suleyman Demirel University Agricultural Research and Application Center. Sampel darah dikumpulkan dari ayam yang euthanasia sebagai bagian dari penelitian lain. Percobaan pertama Ekstraksi DNA dengan Phenol Chloroform Isoamyl Alcohol, namun tidak menghasilkan DNA bulu yang meranggas. Percobaan diulangi dengan DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN)</p>	<p>meranggas yang diambil disekitar Danau Burdur dengan Phenol:Chloroform: IAA, nor Qiagen DNeasy Blood &amp; Tissue Kit. Walaupun setelah dicoba kembali namun tetap tidak ada pita DNA. Ekstraksi DNA dari kedua bulu yang dipetik menghasilkan 10 betina dan 2 jantan dan sampel darah teridentifikasi 2 betina. Sampel darah menghasilkan pita yang tebal pada gel dan menunjukkan jumlah DNA yang tinggi. Memiliki tingkat kesuksesan yang tinggi dalam identifikasi jenis kelamin burung dengan menggunakan Hot start PCR dengan</p>	<p>tidak ditemukan karena mungkin bulu burung telah terpapar sinar matahari dan karena karakteristik danau yang memiliki kandungan basa yang tinggi dan mengandung garam sehingga berdampak negative bagi bulu yang meranggas.</p>	<p>yang cocok dalam penelitian dan memberikan informasi kepada peneliti tentang pengambilan sampel non-invasif dan mempertimbangkan tentang sampel non-konstruktif seperti bulu yang dipetik sebagai pengganti pengambilan sampel darah.</p>	<p>bulu (yang sudah meranggas maupun bulu yang dipetik) dan darah.</p>	
--	---	--	---	--	--	--	--	--

	penerapan gen CHD untuk mengidentifikasi jenis kelamin burung.	yang terancam punah, namun pengambilan sampel non destruktif dari bulu dapat memberikan informasi genetik yang cukup digunakan sebagai pengganti pengambilan darah.	dan digunakan untuk percobaan selanjutnya. Ekstraksi darah dengan DNeasy Blood & Tissue Kit. Dua metode digunakan dalam amplifikasi ekstrak DNA. Pasangan primer yang digunakan yaitu 2550F-2718R. Metode kedua yang digunakan yaitu Hit Start PCR . metode ini, taq DNA polymerase tidak aktif pada suhu yang rendah sehingga sangat mengurangi amplifikasi non-spesifik.	primer 2550F/2718R. Konsentrasi DNA dari sampel darah dan hasil PCR lebih tinggi dibandingkan dengan bulu yang dipetik. Kualitas sampel DNA yang diperoleh dari darah memiliki keuntungan daripada sample yang non-destruktif yaitu sampel bulu yang dipetik karena diperlukan dalam studi di laboratorium. Namun, sampel bulu yang dipetik menyediakan DNA yang cukup untuk digunakan dalam studi molekuler.				
4	Kemampuan untuk mengidentifikasi jenis kelamin penting dalam program penangkaran hewan atau	Burung berusia juvenile dan beberapa individu dewasa, sulit untuk dibedakan jenis kelaminnya	sampel burung yang digunakan yaitu 6 ekor Barn Owls ( <i>Tyto alba javanica</i> ). Pada setiap individu, diambil darah kira-kira 1 ml dari vena basilica menggunakan syringe 25 steril. Sampel	DNA yang diekstraksi dari darah dengan pasangan primer P2/P8 menunjukkan pita berukuran 300 bp. Pita ganda berukuran sekitar	Tidak diketahui jumlah bulu yang dipetik pada masing-masing bagian.	Dapat mengetahui primer mana yang dapat menghasilkan hasil pita yang lebih bersih, dapat	Membandingkan sumber DNA invasif yaitu darah dan sampel non-invasif yaitu bulu	Teknologi DNA, molecular sexing

	<p>restorasi spesies yang terancam punah dan dilindungi. Barn owl (<i>Tyto alba javanica</i>) bersifat monomorfik. Identifikasi jenis kelamin penting dalam konservasi Barn owl dan program pemuliaan yaitu menyebabkan pelepasan jantan dan betina yang dikonfirmasi sehingga memastikan pembiakan dan perkembangbiakan yang sukses. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pasangan primer dan sumber DNA yang lebih efisien dan akurat untuk mengidentifikasi</p>	<p>karena bersifat monomorfik. Penentuan jenis kelamin menggunakan polymeras chain reaction (PCR) banyak digunakan karena memiliki akurasi yang tinggi dan reproduktifitas dibandingkan dengan data morfologis. Sampel DNA yang paling umum yaitu dari darah dan bulu karena sampelnya relative mudah diperoleh dan kurang rentan terhadap kontaminasi silang. Gen Chromo-helicase-DNA-binding (CHD) ditemukan hadir dalam</p>	<p>bulu dipetik didua bagian yaitu bagian ventral (bawah) pada bagian sayap dan bagian dada, kemudian dimasukan kedalam wadah yang mengandung etanol absolute. Ekstraksi DNA darah menggunakan Qiagen DNeasy® Blood and Tissue Kit (Hilden, Germany). Konsentrasi diukur dengan SmartSpec Plus Spectrophotometer (Bio-Rad Laboratories, California). DNA bulu diekstraksi dengan metode ekstraksi rapid alkaline. Sampel bulu masing-masing dipotong gunting kutikula yang disterilkan dan dimasukan kedalam tabun Eppendorf 1,5 mL. Pasangan primer yang digunakan yaitu P2/P8 dan 2550F dan 2718R dengan PCR. Hasil sekuensing disejajarkan dan disusun dengan Snapgene (GSL Biotech</p>	<p>50 bp secara terpisah. Sedangkan ukuran pita dengan primer 2550F/2718R menunjukkan pita berukuran 600bp dan 1000 bp. Hasil dari kedua pasangan primer yaitu sampel 1 dan 4 adalah jantan dan sampel 2, 3, dan 5 adalah betina. Analisis PCR dengan darah murni tidak membuahkan hasil namun dengan pengenceran dengan PBS 1:5 memberikan hasil yang paling konsisten. Analisis PCR dengan DNA yang berasal dari bulu memiliki konsentrasi yang rendah sehingga siklus denaturasinya diperpanjang menjadi 40 siklus. PCR dengan DNA</p>		<p>mengetahui tentang jenis kelamin dari pada burung <i>Tyto alba javanica</i> dalam program pemuliaan yaitu menyebabkan pelepasan jantan dan betina yang dikonfirmasi sehingga memastikan pembiakan dan perkembangbiakan yang sukses dan dapat mengetahui sampel mana yang mengandung konsentrasi DNA tertinggi dalam identifikasi jenis kelamin burung.</p>	<p>burung dalam <i>molecular sexing</i>.</p>	
--	---	--	--	---	--	---	--	--

	<p>jenis kelamin barn owl (<i>Tyto alba javanica</i>) dan membandingkan pengurutan gen CHD dari Barn owl (<i>Tyto alba javanica</i>) di Genbank untuk mengetahui kesamaan antara gen CHD dari kedua subspecies.</p>	<p>kromosom Z (CHD-Z) dan W (CHD-W) pada sebagian besar burung non-ratite dengan panjang intron yang berbeda sehingga dijadikan penanda yang cocok. Pasangan <b>primer yang dikembangkan untuk menentukan jenis kelamin burung yang paling umum adalah P2/P8 dan 2550F/2718R.</b></p>	<p>LLC, Chicago, USA) dan pencarian BLAST dilakukan untuk mengidentifikasi lokus CHD menggunakan database Genbank.</p>	<p>yang diekstraksi dari bulu memberikan hasil yang mirip dengan DNA yang diekstraksi dari darah untuk sampel 1, 4 dan 6. Sedangkan sampel 2 menunjukkan faint band, multiple band untuk sampel 3 dan tidak ada hasil untuk sampel 5. Sekuensing DNA dari gen CHD untuk <i>Tyto alba javanica</i> yang dibandingkan dengan gen <i>Tyto alba javanica</i> yang diperoleh dari GenBank menunjukkan keasamaan 98% hingga 99% antara gen CHD dari kedua subspecies. Penelitian ini menunjukkan bahwa untuk molecular sexing dapat dilakukan dengan menggunakan</p>				
--	---	---	--	--	--	--	--	--

				darah murni, karena metode yang efisien, hemat biaya dan waktu.				
5	<p>Penentuan jenis kelamin burung kenari muda secara fenotip memiliki akurasi sangat rendah. Penentuan jenis kelamin burung kenari muda secara fenotip memiliki akurasi sangat rendah. Pemeliharaan dan pelatihan kenari dilakukan pada usia muda agar nyanyian kenari jantan sesuai dengan keinginan, namun sulit untuk menentukan jenis kelamin kenari kurang dari empat bulan. Tujuan dari penelitian ini yaitu</p>	<p>Biasanya penentuan jenis kelamin kenari hanya berdasarkan prediksi dan melihat bentuk kloaka burung jantan yang lebih menonjol dan runcing sedangkan, betina yang cenderung datar/rata. Teknik penentuan jenis kelamin pada burung secara molekuler mulai banyak dikembangkan khususnya menggunakan metode polymerase chain reaction</p>	<p>Total sampel yang digunakan yaitu 12 ekor burung kenari yang terbagi menjadi 6 ekor burung kenari dewasa berumur 6 bulan dan 6 ekor burung kenari muda berumur 1 bulan. Pengamatan fenotip dilakukan dengan mengamati bentuk kloaka, yaitu apabila kloaka lebih menonjol dan runcing, maka akan dimasukkan sebagai burung jantan, sedangkan kloaka yang lebih rata dan lebar dimasukkan sebagai betina. Sampel darah dikoleksi dengan tabung mikrohematokrit dari kapiler ujung jari kaki, kemudian dimasukkan ke tabung Eppendorf yang berisi PBS 200 µL. Isolasi DNA dari sampel darah selanjutnya dilakukan dengan mengikuti</p>	<p>Hasil pengamatan bentuk kloaka burung kenari dewasa jantan (J1, J2, J3) memiliki kloaka yang menonjol dan meruncing dan 3 ekor kenari dewasa betina (B1, B2, B3) memiliki bentuk kloaka yang datar dan lebih lebar. Perbedaan bentuk kloaka hanya dapat diamati oleh burung dewasa yang sudah pernah bertelur. Amplifikasi gen CHD1 dengan sampel darah menunjukkan 3 ekor burung kenari jantan umur 6 bulan menghasilkan 1 pita dengan ukuran 500 bp saat</p>		<p>Membantu dalam pemeliharaan dan pelatihan burung kenari sedari dini, memastikan penentuan jenis kelamin secara fenotip pada burung dewasa akurat dengan uji genotip dan membantu dalam penentuan jenis kelamin pada burung umur 1 bulan yang belum dapat dibedakan jenis kelaminnya dengan uji fenotip.</p>	<p>Penggunaan gen CHD1 dalam penentuan jenis kelamin dengan metode PCR.</p>	<p>Teknologi DNA, molecular sexing, Phenotypic sexing, Genotypic sexing</p>



	<p>menentukan jenis kelamin burung kenari secara genotip berdasarkan gen CHD1, yang dibandingkan dengan gambaran kloaka secara fenotip dan menentukan jenis kelamin burung kenari secara genotip.</p>	<p>(PCR). Penggunaan metode PCR dalam penentuan jenis kelamin telah lazim digunakan, tetapi belum banyak dilakukan pada burung berkicau khususnya pada burung kenari.</p>	<p>protokol dari pabrik gSYNCTM DNA Extraction Kit, Cat. No. GB100 (Geneaid, Taiwan). Sampel bulu diambil dari sayap dan/atau ekor sebanyak 3 helai, bagian calamusnya dipotong-potong menjadi 0,5-1 cm, kemudian dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf. Isolasi DNA selanjutnya dilakukan dengan mengikuti protokol gSYNCTM DNA Extraction Kit, Cat. No. GB100 (Geneaid, Taiwan). Hasil amplifikasi dielektroforesis pada gel agarose 1,5% (1st Base, Singapura) dengan tegangan 70 volt selama 35 menit dan divisualisasi dengan UV transiluminator dan panjang ampikon dibandingkan dengan marker standard.</p>	<p>dilakukan visualisasi pada gel agarose dengan UV, sedangkan 3 ekor burung betina umur 6 bulan menghasilkan 2 pita dengan ukuran 500 bp dan 300 bp. Hasil PCR menunjukkan sample bulu burung kenari dewasa dapat digunakan sebagai sumber DNA karena memberikan hasil yang sama dengan DNA dari darah. Jumlah bulu yang dapat digunakan dalam penentuan jenis kelamin burung adalah dua helai bulu sekunder sayap. Dengan dua helai bulu tersebut sudah mencukupi jumlah DNA untuk amplifikasi gen CHD1. Hasil penentuan jenis kelamin secara</p>				
--	---	---	---	---	--	--	--	--

				<p>fenotip untuk burung kenari 1 bulan didapatkan bahwa semua sampel burung mempunyai kloaka yang dapat menyerupai betina, tetapi hasil penentuan genotip dengan teknik PCR menunjukkan 1 pita diidentifikasi sebagai burung jantan sebanyak 1 ekor dan 2 pita diidentifikasi betina sebanyak 5 ekor walaupun burung berumur 1 bulan. - Berdasarkan penelitian ini, penentuan genotip dari jenis kelamin secara molekuler pada burung kenari dapat dilakukan menggunakan sampel darah atau bulu dan menghasilkan kualitas yang sama.</p>				
6	Teknik sexing	Pemilihan	Sampel burung yang	Hasil visualisasi PCR		Pemilihan	Terkait	<i>Molecula</i>

	<p>pada burung secara molekuler dengan metode PCR telah banyak dikembangkan, namun masih menggunakan sampel darah dan bulu. Penggunaan kedua teknik sampling tersebut dianggap berbahaya dan memiliki dampak buruk pada kelangsungan hidup burung karena sampel darah akan mengancam kelangsungan hidup karena ukuran tubuhnya yang masih kecil, sedangkan sampel bulu pada burung membutuhkan</p>	<p>burung kenari dan merpati pada penelitian ini adalah sebagai wakil dari ordo Passeriformes dan Columbiformes yang merupakan ordo yang banyak dipelihara oleh masyarakat karena penting terkait dengan manajemen, breeding, serta tujuan pemeliharaan dari kedua ordo. - Alternatif pengambilan sampel DNA yaitu swab bukal, sampel ini dapat digunakan sebagai sumber DNA yang telah berhasil</p>	<p>digunakan yaitu 10 ekor burung kenari yang terdiri dari 6 ekor burung kenari dewasa (3 jantan dan 3 betina) dan 4 ekor burung kenari piyikan (umur 14-18 hari) yang belum diketahui jenis kelaminnya. Tiga belas ekor burung merpati yang terdiri dari 6 ekor burung merpati dewasa (3 jantan dan 3 betina) dan 7 ekor burung merpati piyikan (umur 14-25 hari) yang belum diketahui jenis kelaminnya. Burung dewasa yang digunakan adalah burung yang sudah pernah bereproduksi sehingga sudah jelas jenis kelaminnya. Swab bukal dilakukan dengan mengoleskan swab steril pada cavum oris, kemudian dimasukkan ke dalam microtube yang berisi 1 ml PBS. Sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan</p>	<p>DNA bukal burung piyikan dengan primer CHD1F/CHD1R dimasukkan ke dalam grup 1 yaitu didapatkan bahwa semua burung jantan menghasilkan satu pita pada sekitar 500 bp, sedangkan grup 2 yaitu semua burung betina menghasilkan dua pita yang berukuran sekitar 300 bp dan 500 bp. Sel epitel bukal dari burung dapat digunakan secara efektif sebagai sumber DNA genom dalam studi sexing secara molekuler. Hasil PCR yang didapatkan sesuai dengan hasil sexing burung dewasa, maka diidentifikasi bahwa burung piyikan grup 1 (2</p>		<p>burung kenari dan merpati pada penelitian ini adalah sebagai wakil dari ordo Passeriformes dan Columbiformes. Kedua ordo tersebut banyak dipelihara oleh masyarakat di Indonesia. Penentuan jenis kelamin pada kedua ordo tersebut sangat penting karena berkaitan dengan manajemen, breeding, serta tujuan pemeliharaan dari kedua ordo tersebut. Manfaat lainnya yaitu <b>membantu untuk mencari alternatif pengambilan</b></p>	<p>dengan penggunaan swab sebagai alternatif pengambilan sampel pengganti darah dan bulu yang invasif dan metode ekstraksi untuk sampel swab.</p>	<p><i>r sexing, Teknologi DNA</i></p>
--	--	--	--	---	--	--	---	---------------------------------------

	<p>manipulasi burung karena burung yang masih disarang masih dalam pertumbuhan dan belum sempurna. Tujuan dari penelitian ini yaitu mempelajari efisiensi sampel swab bukal sebagai sumber DNA dalam sexing dengan metode PCR dan mempelajari penggunaan sel bukal sebagai sumber DNA untuk sexing secara molekuler pada burung kenari dan merpati terutama pada burung piyikan.</p>	<p>digunakan untuk mendapatkan DNA genom pada manusia untuk studi forensik, namun sekarang sudah berhasil dalam bidang veteriner dan laboratorium pada mamalia non-manusia.</p>	<p>14.000 RPM. Supernatant dibuang kemudian mengikuti protokol dari pabrik gSYNCTM DNA Extraction KIT, Cat. No. GB100 (Geneaid, Taiwan). Amplifikasi dengan PCR menggunakan pasangan primer CHD1F dan CHD1R.</p>	<p>ekor kenari dan 6 ekor burung merpati) adalah berjenis kelamin jantan dan grup ke 2 (2 ekor burung kenari dan 1 ekor burung merpati) berjenis kelamin betina. Swab bukal merupakan sumber DNA yang andal dan memiliki hasil yang sama jika dibandingkan dengan sumber dari sampel darah dan bulu. Pengambilan sampel swab bukal terbukti less-invasive (burung tidak menunjukkan kesakitan) serta andal dan efektif sebagai sumber DNA dalam studi molekuler khususnya sexing burung piyikan</p>		<p><b>sampel DNA yang invasif.</b></p>		
7	<p>Retinopati prematuritas (ROP) adalah</p>	<p>Skrining pengaruh variasi gen</p>	<p>Pengumpulan sampel <i>buccal swab</i> dengan cara menggosokan <i>swab</i></p>	<p>Rata-rata konsentrasi DNA dari jenis sampel</p>		<p>dapat mengetahui sampel mana</p>	<p>Perbandingan sampel darah dan</p>	<p>Teknologi DNA</p>

	<p>gangguan perkembangan dari pembuluh darah retina yang mengenai bayi prematur. Faktor genetik diduga berperan terhadap kejadian ROP. Konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi diperlukan untuk analisis pemeriksaan genetik pada kasus ROP. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui konsentrasi dan indeks kemurnian DNA menggunakan sampel whole blood, buffy coat dan swab buccal pada kelompok bayi-bayi prematur yang masuk dalam</p>	<p>terhadap ROP mungkin akan menyediakan informasi baru mengenai patogenesis ROP yang diharapkan akan menolong identifikasi dan penanganan bayi risiko tinggi tepat pada waktunya. DNA diisolasi dari beberapa sampel yaitu whole blood, buffy coat dan swab buccal. Hasil isolasi DNA dikatakan baik apabila didapatkan DNA yang murni dan utuh. Pengukuran konsentrasi DNA maupun penentuan kemurniannya sangat penting</p>	<p>pada bagian pipi kanan bagian dalam bayi, kemudian diputar untuk memaksimalkan pemanfaatan kedua sisi kapas. Dibekukan pada suhu -80°C. Prosedur isolasi DNA dengan menggunakan high pure PCR template preparation kit EO/0/15. Konsentrasi DNA dihitung dengan spektrofotometer UV. Konsentrasi dinyatakan tinggi bila lebih dari 10mg/ml. Konsentrasi DNA murni dengan A260 dari 1.0 adalah 50mg/ml, kemudian didapatkan rumus : Konsentrasi (mg/ml) = 50 mg/ml x A260 yang terukur x factor dilusi. Kemurnian DNA dinilai dengan rasio absorbs pada 260 nm dan 280 nm, dimana DNA dinyatakan murni jika memiliki nilai rasio OD260/OD280 berkisar 1.8-2.0. Konsentrasi dan kemurnian DNA diukur</p>	<p>buffy coat lebih tinggi dibandingkan sampel whole blood yaitu sebesar 30,32 ng/µl. Pengambilan buccal swab konsentrasi DNA terendah, namun paling reliable dan dapat diterima karena tidak invasive untuk pengumpulan DNA. Sampel buffy coat dan whole blood dapat digunakan dalam proses isolasi DNA karena konsentrasinya lebih tinggi daripada sampel buccal swab.</p>		<p>yang memiliki kuantitas DNA tertinggi, dapat mengetahui sampel mana yang memiliki tingkat invasif terendah, dapat mengetahui cara penggunaan nanodrop dan mengetahui metode isolasi DNA dari darah.</p>	<p><i>swab</i> trakea, metode isolasi DNA dari darah, cara pengambilan sampel swab, rumus, cara pengoperasian nanodrop.</p>	
--	--	---	---	--	--	--	---	--

	kriteria penapisan ROP.	dalam proses isolasi DNA karena untuk melihat kandungan DNA yang diperoleh secara kuantitatif maupun untuk melihat kontaminan yang mungkin masih ada dari isolat DNA yang diperoleh.	dengan nanodrop.					
8	Neotropic cormorant ( <i>Phalacrocorax brasilianus</i> ) adalah spesies monomorfik yang tidak menunjukkan perbedaan antara jantan dan betina secara fenotip. Diperlukan metode identifikasi secara molekuler yang cepat dan	Neotropic cormorant ( <i>Phalacrocorax brasilianus</i> ) adalah spesies monomorfik. Penentuan jenis kelamin penting dalam parameter reproduksi tertentu. Penggunaan teknik molekuler cepat dan efisien yang	Total sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 15 burung yang ditangkap dan 2 sampel tambahan dari hewan mati yang ditemukan dikoloni. Sampel darah (1 ml) diekstraksi dari vena jugularis kanan dari hewan hidup. Jaringan otot dikeluarkan dua hewan mati dari kedua jenis kelamin. Ekstraksi sampel darah dengan DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen,	Amplifikasi pada semua sampel berhasil. Produk PCR menunjukkan hasil jenis kelamin yang sesuai dengan jenis kelamin dari pemeriksaan gonad. Jantan menunjukkan pita tunggal dengan 664 bp dengan kromosom Z, sedangkan betina menunjukkan pita ganda dengan ukuran 664	Pengumpulan sampel darah tidak dijelaskan secara lengkap, tidak diketahui metode yang digunakan untuk mengeskraksi sampel otot dari hewan mati, pada metode tidak dijelaskan tentang pemeriksaan gonad namun	Dapat mengetahui jenis kelamin secara akurat dan tepat dengan metode molekuler sexing dan penting dalam studi konservasi.	Metode ekstraksi darah	<i>Molecular sexing, Teknologi DNA</i>

	<p>tepat dalam penentuan jenis kelamin dalam studi konservasi. Tujuan dari penelitian ini yaitu menentukan jenis kelamin Neotropic cormorant (<i>Phalacrocorax brasilianus</i>) berbasis DNA untuk memberikan informasi untuk rencana pengembangan dan pengelolaan di sepanjang wilayah distribusi yang luas.</p>	<p>berpusat pada gen yang mengikat CHD untuk membedakan kromosom sex jantan dan betina berdasarkan ukuran intron.</p>	<p>Hilden, Germany) dengan mengikuti protokol dari pabrik. Primer yang digunakan yaitu primer 2550F/2718R. Amplifikasi dengan PCR thermocycler AERIS-BG096 (ESCO), yaitu 10 µL reaksi mengandung 1x reaksi saphireAmp mastermix (Takara), 1 mM MgCl dan 0,5 µM sampel DNA. Produk PCR dijalankan pada gel agarose 2% selama 50 menit pada 90V dalam Tris-borate-EDTA.</p>	<p>bp dan 459 bp dengan kromosom W. Teknik genetik mungkin terbukti sangat berguna di mana analisis morfometrik tidak dapat memisahkan jantan dari betina secara akurat, atau ketika seseorang perlu membedakan jenis kelamin anak ayam, anak burung atau cormorant remaja yang sulit dibedakan jenis kelaminnya. Teknik identifikasi secara molekuler dapat digunakan untuk mengidentifikasi jenis kelamin <i>P. Brasilianus</i> pada studi berbeda dalam aplikasinya pada konservasi.</p>	<p>pada hasil dibandingkan dengan produk PCR yang dihasilkan.</p>			
9	<p>Darah adalah sumber DNA yang paling umum digunakan untuk studi ekologi</p>	<p>Swab bukal telah digunakan sebagai sumber DNA yang baik dan non-invasif</p>	<p>Total sampel yang digunakan yaitu 20 jantan dan 20 betina yang telah dikelompokan berdasarkan karakter</p>	<p>Produk PCR dari DNA darah memberikan pita yang jelas pada 40 sampel. Pola pita dari sampel sel-sel</p>	<p>Kekurangan sampel sel bukal yaitu menghasilkan DNA yang lebih rendah</p>	<p>Dapat mengetahui teknik pengumpulan sampel swab bukal dan</p>	<p>Metode ekstraksi sampel swab dan perbandingan sampel</p>	<p><i>Molecular sexing, Teknologi DNA</i></p>

<p>molekuler, namun sulit dilakukan pengambilan darah pada Ryuku Robin (<i>Erithacus komadori</i>) karena ditentang oleh pemerintah di Jepang karena statusnya yang terancam punah. Tujuan dari penelitian ini yaitu melaporkan hasil pengelompokan molekuler Ryuku Robin (<i>Erithacus komadori</i>) dewasa menggunakan DNA yang diekstraksi dari swab bukal, kemudian membandingkan nya dengan sel-sel darah dan memeriksa keandalan sel-sel bukal sebagai</p>	<p>untuk manusia, namun belum digunakan untuk hewan percobaan penelitian. Darah adalah sumber DNA yang paling umum digunakan karena efektif dan dikembangkan dengan baik, namun dapat mengancam bagi burung-burung yang terancam punah.</p>	<p>morfologis. Sel-sel bukal dikumpulkan dengan menggulung kapas ke bagian dalam mulut dan tenggorokan sebanyak 5 kali. Setiap swab dimasukan ke dalam microtube 1 ml buffer pengawet (150 mM NaCl, 10mM Tris-HCl pH 8,0, 10mM EDTA), dan disimpan pada suhu kamar selama 1 minggu, dapat disimpan pada suhu 5oC hingga 1 bulan. sampel swab diekstraksi dengan metode febol/kloroform konvensional. sampel darah diambil sebanyak 30 ml sampe darah diperoleh dari pengambilan dari vena brankialis dan tidak ada efek buruk yangtercatat. Sampel darah disimpan dalam larutan GenTLE I (Takara) pada suhu kamar dan diekstraksi dengan kit ekstraksi (QIAamp DNA Blood Mini Kit, QIA-GEN) dalam waktu 10 hari</p>	<p>bukal sama dengan pola darah dari sampel darah untuk semua individu, sehingga dapat dibuktikan bahwa swab bukal telah terkonfirmasi sebagai sumber DNA yang dapat diandalkan dari burung liar. Pengambilan sampel sel bukal sangat cocok untuk penentuan jenis kelamin molekuler karena pengambilan sampel membutuhkan waktu lebih sedikit daripada pengambilan darah, karena tidak perlu untuk infeksi dan homeostasis dan akan mengurangi stress pada saat pengambilan sampel.</p>	<p>dibanding dengan darah, namun cukup untuk penentuan jenis kelamin.</p>	<p>mengetahui metode ekstraksi yang digunakan dan dapat mengetahui sampel yang dapat digunakan tanpa melukai sehingga meningkatkan stress pada burung.</p>	<p>invasif dan non-invasif pada burung.</p>	
--	---	---	---	---	--	---	--



	sumber DNA untuk penentuan jenis kelamin unggas.		pengambilan sampel. Primer yang digunakan yaitu 3007F/3112R. Semua reaksi PCR dilakukan dalam volume 25 ml pada Perkin Elmer 9600 Thermal Cycler menggunakan Taq DNA polymerase.					
10	Burung nuri dari ordo Psittaciformes masuk dalam daftar merah IUCN untuk spesies terancam punah disebabkan karena perdagangan liar, hilangnya habitat dan persaingan spesies invasive. Pengembangan metode molekuler yang efisien untuk identifikasi jenis kelamin sebagai bantuan dalam konservasi	Penggunaan gen CHD telah banyak digunakan karena terbukti berhasil pada semua spesies burung. Gen CHD adalah penanda yang penting yang memberikan peluang untuk mengembangkan metode universal untuk identifikasi jenis kelamin secara molekuler Psittaciformes.	Sampel yang digunakan yaitu - 239 ekor burung diambil dari identifikasi jenis kelamin, 32 sampel termasuk dalam spesies nuri. Diantara 398 total sampel, terdapat 239 sampel bulu, 15 sampel darah, 72 sampel swab bukal dan 72 sampel feses. Darah dikumpulkan dengan kapas steril dengan mengusap kuku setelah dipotong. Satu sampai dua bulu dada diambil dengan pencabutan dan dipotong 2-5 mm. Penyeka kapas steril digunakan untuk mengumpulkan sampel swab bukal dan feses. DNA diisolasi dengan mengikuti protokol kit	Jenis kelamin burung sampel (N=239) berhasil diidentifikasi menggunakan sampel bulu, hasilnya juga dikonfirmasi menggunakan sampel lain. Primer 2550F / 2718R untuk pertama kalinya berhasil digunakan untuk amplifikasi gen CHD dari <i>Amazona finschi</i> , <i>A. leucocephala</i> , <i>Aratinga aurea</i> , <i>Barnardius zonarius</i> , <i>Coracopsis nigra</i> dan <i>Nymphicus hollandicus</i> . Semua	Tidak diketahui berapa kali dilakukan apusan pada bagian bukal.	Membantu dalam konservasi burung nuri yang terancam punah dan membantu membandingkan sampel invasive yang cocok digunakan sebagai sumber DNA yang tidak menyakitkan namun dapat diandalkan.	Penggunaan sampel darah, bulu, swab bukal sebagai sampel non-invasif untuk mengetahui sampel mana yang dapat memiliki tingkat keberhasilan tertinggi dalam identifikasi jenis kelamin burung-burung yang terancam	<i>Molecular sexing, Teknologi DNA</i>

<p>banyak spesies burung. Pemilihan sampel sangat penting untuk kelangsungan hidup dan ekstraksi DNA tanpa resiko. Pengelolaan spesies yang rentan dan terancam punah (sebagai mayoritas burung beo), potensi bias dalam rasio jenis kelamin menjadi perhatian besar. Tujuan dari penelitian ini yaitu menguji kemungkinan dan efisiensi dari metode molekuler non-invasif untuk identifikasi jenis kelamin Psittaciformes menggunakan berbagai jenis</p>		<p>KAPA Express Extract (KAPA Biosystems Cat. No. KK7152). Primer yang digunakan yaitu 2550F dan 2718R. Protokol termal yang direkomendasikan KAPA2G Robust HotStart ReadyMix.</p>	<p>spesies sampel dalam penelitian ini ada di IUCN daftar merah spesies terancam. Empat spesies (Amazona finschi, A. leucocephala, Cacatua moluccensis dan C. sulphurea) ada dalam daftar CITES Appendix 1 (Konvensi Perdagangan Internasional Spesies Fauna dan Flora Liar yang Terancam Punah). Set primer 2550F / 2718R memberikan tingkat kepercayaan yang lebih tinggi untuk menentukan jenis kelamin burung. Sampel bulu dapat diandalkan pada semua individu sampel sebesar 100%. Sumber DNA darah dan swab bukal juga dapat</p>		<p>punah dan metode pengambilan sampel darah yang berasal dari kuku kaki yang dipotong dan pengambilan sampel DNA dari bulu yang dicabut.</p>	
---	--	--	---	--	---	--

	sampel (darah, bulu, swab bukal dan feses) dan gen CHD sebagai penanda molekuler.			diandalkan sebesar 100% namun, pada sampe feses hanya menunjukkan tingkat keberhasilan sebagai sampel sebesar 25% karena inhibitor PCR seperti pigmen dll.				
11	Melakukan perbandingan swab bukal dan pengambilan sampel darah standard untuk menentukan apakah sampel bukal akan menghasilkan jumlah genom yang memadai untuk menentukan jenis kelamin secara molekuler secara akurat, genotip mikrosatelit dan sekuensing mtDNA dalam <i>Poecile atricapillus</i> dan	Pengambilan darah adalah prosedur invasif yang memerlukan beberapa menit waktu penanganan dan dapat meningkatkan tingkat stres burung. Pengambilan darah menjadi masalah burung dewasa yang memiliki tubuh kecil dan burung bersarang karena memiliki vena yang kecil dan volume	Sampel digunakan berjumlah 42 ekor burung dewasa dan 39 burung bersarang. Pengambilan sampel bukal dilakukan dengan memegang burung dengan satu tangan dan dengan lembut memutar swab bukal yang berujung kapas steril dengan tangan yang lain sebanyak 3-5 kali pada bagian dalam melintasi lidah. Cotton swab dibiarkan kering selama 10-15 menit sebelum diekstraksi. pengumpulan sampel darah dilakukan dengan tabung-kapiler mikrohematokrit nonheparinized 70- µL	Sampel swab bukal yang diekstraksi dengan QuickExtract lebih baik dibandingkan dengan salt extraction protocol. Jumlah DNA dari sampel bukal cukup untuk penentuan jenis kelamin, genotip, dan pengurutan DNA. Intensitas pita untuk penentuan jenis kelamin dan genotip sampel bukal lebih lemah daripada sampel darah.	Tidak diketahui metode ekstraksi untuk sampel darah.	Mendapatkan sampel DNA alternative pengganti darah yang invasive bagi burung-burung bersarang.	Ekstraksi DNA pada sampel swab bukal dengan QuickExtrac te DNA extraction, penggunaa n sanpel swab bukal, cara pengambila n sampel bukal dan penangana n sampel swab dan darah.	Teknolog i DNA, molecula r sexing

	<p><i>P. Hudsonica</i>. Tujuan dari penelitian ini yaitu menguji kelayakan dan efisiensi penggunaan swab untuk sampel sel epitel bukal dari burung altricial kecil untuk ekstraksi dan analisis DNA genom</p>	<p>darah rendah. Pengambilan sampel sel epitel bukal diterima sebagai teknik non-invasif untuk memperoleh DNA genom manusia untuk studi forensic dan epidemiologis.</p>	<p>oleh venipuncture basilik dengan jarum ukuran 27,5 yang disterilkan setelah mendisinfeksi kulit dengan alkohol isopropil 70%. Sampel bukal dan darah untuk 9 individu black-capped chickadees dan 3 boreal chickades masing-masing 5 lokus mikrosatelit (PmaGAn11, PmaGAn28, PmaTAGAn71, Escl6, PATMP2-14. Empat dari 5 lokus mengandung pengulangan dinukleotida; PmaTAGAn71 mengandung pengulangan tetranukleotida.</p>					
12	<p>Diketahui bahwa bulu kalamus adalah tempat replikasi virus H5N1 sehingga memiliki potensi untuk mendiagnosis flu burung. Tujuan dari penelitian ini yaitu membandingkan</p>	<p>Berbagai jenis bulu dan sampel swan oropharingeal dan kloaka dibandingkan dengan isoasi virus. Apusan Oropharyngeal dilaporkan lebih andal untuk deteksi</p>	<p>Tiga jenis virus yaitu dua adalah isolate Indonesia A/duck/Sleman/BBVW-1003-34368/2007 (IDN 34368; GenBank accession CY091949) and A/duck/Sleman/BBVW-598-32226/2007 (IDN 32226; GenBank accession CY091864), yang masing-masing</p>	<p>Bulu yang belum matang adalah sampel alternative untuk mendiagnosis HPAI pada ayam dan bebek.</p>	<p>Tidak adanya metode pengambilan sampel.</p>	<p>Dapat mengetahui sampel yang dapat mendeteksi virus H5N1 paling yang menginfeksi ayam dan bebek.</p>	<p>Perbandingan sampel DNA.</p>	<p>Teknologi DNA.</p>

	proporsi relative dari bulu positif virus, penyeka oropharyngeal, dan penyeka kloaka dari bebek dan ayam yang terinfeksi secara eksperimental.	virus H5N1 HPAI, sedangkan cloacal swab lebih cocok untuk unggas air yang terinfeksi LPAI. Bulu juga memiliki keunggulan dibandingkan jenis sampel lain yaitu mereka mudah dikumpulkan, dan koleksinya minimal invasive.	milik clades 2.1.1 dan 2.1.3.32 Yang ketiga adalah isolat Vietnam: A / Muscovy duck / Vietnam / 453/2004 (VN 453), dari clade 1 garis keturunan. Semua virus diperbanyak dua kali dalam telur ayam bebas embrio spesifik bebas pathogen. Virus diisolasi dari sel-sel vero (monyet hijau afrika).					
13	Aplikasi swab Buccal memiliki potensi dalam bidang genetic namun masih memiliki kelemahan saat ini terkait dengan beberapa protokol, dan biaya kit komersial. Sehingga	Kunci keberhasilan analisis ini adalah perolehan sampel DNA yang cukup untuk memenuhi kebutuhan penelitian tanpa merugikan individu yang	Tiga genetic apusan dibandingkan untuk sampel burung pelatuk merah-cockaded (5-14 hari) yaitu busa pada plastic (n=24), kapas pada plastic (n=24) dan busa pada plastic (n=24). Penyeka dipotong 2-4 cm agar muat dalam tabung kriogenik 2 ml. Kapas diputar di dalam mulut secara lembut sebanyak 15	Tingkat keberhasilan ekstraksi 100% di antara 72 penyeka bukal diuji. Penyeka bukal menghasilkan rata-rata $4,7 \pm 0,58$ ng / $\mu$ L dari DNA, atau total hasil 0,14-0,24 lg DNA berdasarkan volume elusi ~ 30-50 $\mu$ L. Keseluruhan penyeka	Tidak diketahui jumlah burung yang digunakan dalam penelitian ini.	Keberhasilan amplifikasi diantara jenis swab bermanfaat dalam mengoptimalkan protokol yang diuji sebagai alternatif yang murah, ramah lingkungan untuk kit swab buccal	Pemilihan penyeka yang baik bagi burung-burung kecil dan ekstraksi sampel swab yang baik.	Teknologi DNA, molecular sexing

	<p>penelitian ini mengurai pengembangan protokol baru untuk pengambilan sampel dan penyimpanan sampel swab bukal di lapangan. Tujuan dari penelitian ini yaitu membandingkan amplifikasi diantara jenis swab dengan protokol berbeda sebagai alternatif pengganti kit swab bukal komersial dalam hubungannya dengan penyimpanan sampel bukal.</p>	<p>dijadikan sampel. Teknik pengambilan sampel non-invasif meminimalkan stres untuk mempelajari organisme dan ideal untuk spesies bertubuh kecil atau ketika mengambil sampel remaja. Usap bukal menjadi pilihan populer untuk pengambilan sampel yang kurang invasif karena protokol membutuhkan pelatihan minimal untuk diimplementasikan dan kemungkinan melukai burung itu rendah.</p>	<p>detik. Swab kemudian ditempatkan dalam botol yang berisi 1 mL buffer Longmire (100 mM Tris-HCl, 100 mM EDTA, 10 mM NaCl, 0,5% natrium dodecyl sulfate [SDS] dan disimpan pada suhu -20°C. Ekstraksi DNA yaitu swab di tambahkan pada proteinase, kemudian divortex dan diinkubasi. sampel diputar melalui Amicon ultra, kemudian dicuci 2-3 kali dengan ultra pure water dan dogojog. Semua sesi ekstraksi termasuk kontrol kosong, dan semua ekstrak dihitung pada Qubit Fluorometer 2.0 (Invitrogen) menggunakan reagen sensitivitas tinggi (rentang deteksi 10 hingga 100 ng / µL). Keberhasilan ekstraksi didasarkan pada positive Qubit DNA quantification, di mana semua yang terbaca terlalu rendah untuk</p>	<p>memberikan kualitas dan kuantitas DNA yang cukup untuk amplifikasi setelah diencerkan 1:50-1:120. BUSa pada kayu dan busa pada penyeka plastik berkinerja terbaik, menghasilkan 4–5 kali jumlah DNA dibandingkan dengan kapas pada penyeka plastic sedangkan Kapas pada penyeka plastik menghasilkan hasil yang jauh lebih rendah. Tidak ada perbedaan yang signifikan dalam konsentrasi DNA rata-rata antara busa pada plastik dan busa pada kayu. dengan menggunakan protokol ekstraksi DNA sederhana, menunjukkan bahwa penyeka</p>		<p>komersial dan pengambilan sampel darah.</p>		
--	---	--	---	---	---	--	--	--

			<p>(&lt;10 pg / <math>\mu</math>L) akan dianggap ekstraksi yang gagal. Amplifikasi reaksi rantai polimer (PCR) dilakukan menggunakan Thermocycler BIO-RAD. Rata-rata konsentrasi DNA dan total hasil DNA yang diperoleh setelah ekstraksi dari pembacaan Qubit dibandingkan dengan 3 jenis penyeka. Analisis varian dua arah (ANOVA) dilakuakn dalam R versi 3 untuk menguji hubungan antara jumlah DNA dan jenis kapas yang digunakan, dan antara jumlah DNA dan lokasi pengambilan sampel.</p>	<p>bukal berujung busa dan berujung kapas dapat menyediakan DNA yang cukup untuk dijadikan dasar genetika populasi dan penyelidikan lainnya sambil meminimalkan tingkat trauma yang dialami oleh masing-masing hewan.</p>				
14	<p>Sampel yang digunakan pada analisis DNA untuk individu hidup adalah darah dan buccal swab, namun pengambilan darah membutuhkan metode yang</p>	<p>Secara umum pilihan utama yang digunakan untuk pemeriksaan DNA adalah darah. Spesimen darah dapat diperoleh dari darah vena,</p>	<p>pengumpulan sampel yaitu dengan melakukan usapan 5x, 10x, 20x dan 30x. Variabel bebas penelitian ini adalah jumlah usapan pada mukosa bukal. Variabel terikat penelitian ini adalah kuantitas DNA yang diekstraksi dari buccal swab. Pada</p>	<p>Berdasarkan pada pengukuran didapatkan kelompok usapan 5x, 10x,dan 20x menunjukkan peningkatan kuantitas DNA yang searah dengan peningkatan jumlah usapan yaitu 5x</p>	<p>sampel terlalu sedikit, alat yang digunakan tidak spesifik human DNA (lebih disarankan menggunakan human quantifiler) dan</p>	<p>Bermanfaat dalam mengetahui jumlah usapan yang optimal dalam pengambilan sampel bukal sehingga tidak melukai dan dapat</p>	<p>Jumlah usapan dalam swab bukal dalam pengambilan sampe DNA yang optimal</p>	<p>Teknologi DNA</p>

	<p>invasif yang dapat menyebabkan rasa tidak nyaman pada dapat menjadi pilihan yang baik dan nyaman dalam pengambilan sampel untuk pemeriksaan DNA, namun belum ada standar Buccal swab yang mengatur tentang jumlah usapan yang diperlukan dalam pengambilan buccal swab yang optimal. Tujuan dari penelitian ini yaitu Mengetahui perbedaan kuantitas DNA yang diekstraksi dari buccal swab dengan jumlah</p>	<p>arteri atau kapiler namun prosedur ini membutuhkan tindakan yang invasif yang dapat menyebabkan rasa tidak nyaman bagi individu yang diperiksa, harga yang relatif mahal dan tidak praktis jika digunakan untuk pengambilan sampel dalam jumlah yang banyak. Pemeriksaan buccal swab dapat menjadi pilihan yang baik dan nyaman untuk individu yang diperiksa terutama pada balita atau anak-anak. Disamping itu</p>	<p>keempat kelompok penelitian dilakukan pengolahan dan analisis data secara studi analitik mengenai perbedaan kuantitas DNA dari setiap kelompok usapan. Ekstraksi dilakukan dengan metode Chelex, kemudian hasil ekstraksi dikuantifikasi dengan Nanodropspectrophotometer 200.</p>	<p>usapan dengan rerata 52.88 ng/μl, 10x usapan dengan rerata 70.77 ng/μl dan 20x usapan dengan rerata 119.38 ng/μl. Pada pengusapan 20x dan 30x didapatkan penurunan kuantitas DNA yang berbanding terbalik dengan jumlah usapan. - Hal ini dapat disebabkan karena efektifitas maksimal dari alat pengusap yang digunakan telah mencapai titik maksimal pada 20x usapan sehingga penambahan usapan tidak meningkatkan kuantitas DNA yang diekstraksi. Pada pengusapan berlebih, juga menyebabkan meningkatnya produksi saliva yang dapat</p>	<p>dalam penelitian ini tidak diteliti faktor lain yang mempengaruhi kuantitas DNA dengan buccal swab seperti jenis kelamin, kebiasaan merokok, penyakit metabolik, dan lain sebagainya.</p>	<p>menghasilkan kuantitas dan kualitas DNA yang tinggi.</p>		
--	---	---	---	--	--	---	--	--




	usapan yang berbeda.	sampel dari buccal swab lebih ekonomis, praktis dan lebih mudah untuk dilakukan pengiriman.		mempengaruhi kuantitas DNA. - Mukosa bukal juga dapat mengalami iritasi pada pengusapan terlalu banyak oleh karena itu perlu diperhatikan jumlah usapan yang optimal dalam pengambilan sampel. - Terdapat perbedaan kuantitas DNA dari buccal swab dengan jumlah usapan yang berbeda dengan 20x usapan menunjukkan kuantitas DNA yang optimal.				
15	Umumnya sampel darah atau bulu yang diambil untuk mendapatkan DNA, namun kedua sampel ini berbahaya dan mungkin memiliki efek	Pengambilan darah pada burung bersarang mempengaruhi kelangsungan hidup karena ukuran tubuh yang kecil dan massa tubuh	pengambilan sampel bukal dengan mengikuti mini kit yang dikembangkan oleh Adam, dkk (pers. comm.; Adam's manual). pengambilan sampel darah dari individu yang sama dengan venipuncture	Pada burung bersarang menunjukkan 26 jantan dan 27 betina. Hasil DNA dari penyeka bukal menunjukkan bahwa 47 ekor dari 53 ekor dapat diamplifikasi.		Dapat mengetahui sampel DNA dari burung yang dapat dijadikan sebagai alternatif dalam memperoleh DNA.	Sampel non-invasif yang dipakai sebagai alternative dalam memperoleh DNA.	Teknologi DNA, molecular sexing

	<p>negative pada keberhasilan pemuliaan dan kelangsungan hidup burung-burung bersarang. Tujuan dari penelitian ini melakukan evaluasi dengan menggunakan penyeka bukal burung bersarang (umur 0-14 hari) dan dewasa dari Apus apus dan membandingkan nya dengan sampel darah.</p>	<p>yang rendah. Studi eksperimental, perlu untuk menentukan jenis kelamin dari sarang sesegera mungkin setelah menetas. Dengan demikian, metode pengambilan sampel noninvasif layak sebagai alternatif untuk mendapatkan DNA yaitu dengan sampel penyeka bukal.</p>	<p>brakialis (disimpan dalam 1 ml buffer PBS / EDTA). Pengambilan sampel pada burung bersarang dilakukan pada umur 18-21 hari. DNA swab buccal diekstraksi sesuai dengan protokol manual Adam. Sampel darah diekstraksi dengan NucleoSpin™ blood purification kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany) atau menggunakan standard proteinase K/chloroform-isoamyl alcohol method. Primer yang digunakan yaitu P8/P2. Amplifikasi PCR dilakukan dalam volume akhir 25 µl TProfessional thermocycler (Bio-metra, Göttingen, Germany).</p>	<p>Dalam 46 dari 47 sampel (98%), penentuan jenis kelamin berdasarkan DNA dari swab bukal identik dengan yang didasarkan pada DNA dari sampel darah. Pada burung dewasa, 10 dari 11 ekor burung menunjukkan penyeka bukal dapat digunakan untuk penentuan jenis kelamin (91%). Kecocokan dari penyeka bukal dan DNA dari darah adalah 100%.</p>				
16	<p>Bulu semakin banyak digunakan sebagai sumber DNA yang tidak merusak untuk penelitian</p>	<p>Sampel bulu telah lebih jarang digunakan untuk jenis kelamin molekuler,</p>	<p>pengambilan sampel darah dikumpulkan sebanyak 80 µl dalam tabung kapiler yang telah diheparinisasi. Sampel darah dipindahkan ke tabung</p>	<p>Berdasarkan hasil reaksi didapatkan 49 betina dan 53 jantan. Bulu dapat memberikan bukti bahwa bulu dapat memberikan DNA</p>	<p>Tidak diketahui jenis burung apa yang digunakan dalam penelitian ini, sumber sampel</p>	<p>Dapat mengetahui apakah sampel bulu dapat diandalkan sebagai sumber DNA untuk</p>	<p>Terkait dalam perbandingan sampel invasive dan non-invasive</p>	<p>Teknologi DNA, molecular sexing</p>

	<p>genetika burung. Walaupun sampel bulu tidak optimal dalam beberapa hal penting dibanding sampel darah, namun pengambilan sampel bulu hanya membutuhkan lebih sedikit pelatihan untuk penanganan burung, membutuhkan waktu yang singkat, tidak menghasilkan limbah berbahaya, dan memerlukan prosedur penyimpanan yang lebih sederhana. Oleh sebab itu, dibandingkan kegunaan dan keandalan bulu dengan sampel</p>	<p>tetapi mereka juga mewakili jenis jaringan yang menarik, karena memetik bulu tunggal adalah salah satu cara yang paling tidak invasif untuk memperoleh sampel genetik.</p>	<p>yang mengandung 0,5 ml buffer lisis darah. Pengambilan sampel bulu yaitu bulu diambil pada individu yang sama dengan menarik satu rectrix dari masing-masing burung. Sampel bulu kemudian dimasukan pada suhu kamar dalam amplop glassine. DNA diekstraksi dari sampel darah menggunakan Perfect gDNA Blood mini kit (Eppendorf, Westbury, NY, USA) dengan sedikit modifikasi dari protokol pabrik. DNA dari bulu diekstraksi dari sel-sel pulpa di dalam ranchis luar dengan DNeasy kit (QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA) mengikuti protokol pabrik dan mengambil tindakan pencegahan untuk mencegah kontaminasi silang. Identitas lokus ditentukan dengan membandingkan urutan yang dihasilkan dengan database GenBank</p>	<p>yang cukup untuk reaksi molecular sexing.</p>	<p>darah tidak diketahui dari tubuh burung bagian mana.</p>	<p>molecular sexing.</p>	<p>yaitu darah dan bulu untuk membuktikan apakah sampel non-invasif dapat diandalkan dalam <i>molecular sexing</i>.</p>	
--	--	---	--	--	---	--------------------------	---	--

	<p>darah yang tradisional sebagai sumber DNA untuk PCR berbasis sexing Black-capped chickadees (<i>Poecile atricapilla</i>). Tujuan penelitian ini yaitu mengevaluasi keandalan DNA yang berasal dari bulu untuk penentuan jenis kelamin pada burung berbasis PCR.</p>		<p>menggunakan pencarian BLAST. Sampel dianalisis untuk absorbansi pada 260 dan 280 nm menggunakan SmartSpec 3000 Spectrophotometer dengan quartz micro spectrophotometer cell (Bio-Rad Labs., Hercules, CA, USA). Pada kedua sampel diuji dengan uji t varian dua sampel yang tidak sama untuk menentukan perbedaan.</p>					
17	<p>Banyak spesies burung bersifat monomorfik yang sulit ditentukan jenis kelaminnya secara akurat. Pasangan primer tekah banyak dikembangkan untuk penelitian, namun belum dilakukan</p>	<p>Mengetahui jenis kelamin pada suatu individu penting dalam pembiakan, konservasi, ilmu sains dan berkontribusi terhadap keanekaragaman hayati. Penentuan</p>	<p>Pengumpulan sampel sebanyak 10-100 µL dikumpulkan dan disimpan dalam tabung yang berisi K3-EDTA. Sampel bulu sebanyak 1-8 dipetik dari bagian ekor dan sayap kemudian dimasukkan kedalam amplop kecil dalam keadaan kering. Semua sampel disimpan pada suhu 4oC sampai</p>	<p>Analisis produk P2 / P8 PCR pada agarosa gel menunjukkan band tunggal yang jelas dengan ukuran yang sama pada kedua jenis kelamin dalam ordo Galliformes, Ciconiiformes, Phoenicopteriformes, Gruiformes,</p>	<p>sumber sampel darah tidak diketahui dari tubuh burung bagian mana.</p>	<p>Membandingkan tiga pasangan primer yang paling sering digunakan oleh peneliti sehingga dapat diketau primer mana yang paling baik digunakan untuk berbagai macam ordo</p>	<p>Perbandingan sampel invasive dan non-invasif dan perbandingan primer yang paling baik digunakan untuk ordo Passeriformes.</p>	<p>Teknologi DNA, molecular sexing</p>

	<p>perbandingan keberhasilan pasangan primer tersebut. Oleh karena itu, dilakukan perbandingan antara tiga pasangan primer berbeda untuk mengetahui tingkat keberhasilannya. Tujuan dari penelitian ini yaitu membandingkan 3 pasangan primer berbeda untuk mengetahui tingkat keberhasilan ketiga pasang primer molecular sexing burung.</p>	<p>jenis kelamin berbasis DNA menggunakan PCR dengan gen CHD biasa dikuatkan dengan primer tertentu yang member pola pita berbeda pada gel agarose. Ketiga primer yang digunakan pada penelitian ini adalah primer-primer yang sering digunakan oleh peneliti.</p>	<p>dilakukan isolasi DNA. Tiga pasangan primer yang digunakan yaitu CHD1F/CHD1R, 2550F/2718R dan P2/P8. Amplifikasi dengan P2/P8 diawali inkubasi awal pada 94°C selama 4 menit, diikuti 40 siklus pada 94°C selama 30 detik, 51 ° C selama 45 detik, dan 72 ° C selama 45 detik, dan perpanjangan lebih lanjut pada 72 ° C selama 5 menit. Amplifikasi 2250F/2718R dan CHD1F/CHD1R, mengikuti touchdown scheme7 dimana suhu annealing akan beerkurang 1°C per siklus, mulai dari 57°C, hingga mencapai 50 ° C, diikuti 30 siklus dan final extension pada 74°C selama 5 menit. Produk PCR di jalankan pada agarose 3% selama 75 menit pada 90 V dalam buffer Tris-borate EDTA standard.</p>	<p>Accipitriformes, Columbiformes dan Piciformes. Kualitas DNA yang relatif tinggi berkaitan langsung dengan jumlah bulu yang diambil dari burung dan ukurannya daripada kesegaran atau jenis sampel bulu. Tingkat keberhasilan 3 pasangan primer berbeda dalam sampel bulu adalah 70,2%, 57,9%, dan 64,9% untuk CHD1F/CHD1R, 2550F/2718R, dan P2/P8. Berdasarkan elektroforesis gel agarosa, tingkat keberhasilan pasangan primer CHD1F/CHD1R, 2550F/2718R dan P2/P8 adalah 91,2% (n=230), 56,2% (n=230) dan 50,9% (n=230 ). Primer CHD1F/CHD1R dan P2/P8 mampu</p>		<p>dengan tingkat keberhasilan tertinggi.</p>		
--	---	--	--	--	--	---	--	--

				menentukan jenis kelamin berbagai spesies burung dari ordo yang berbeda, sedangkan 2550F/2718R hanya sebagian yang berhasil.				
18	Sulit menentukan jenis kelamin pada beberapa spesies burung monomorfik, terutama burung muda berdasarkan analisis eksternal. Tujuan dari penelitian ini yaitu menilai kegunaan penanda molekuler non-invasif untuk identifikasi jenis kelamin berbagai burung monomorfik burung yang ditawan sebagai strategi untuk	Identifikasi jenis kelamin yang akurat sangat penting untuk penangkaran burung dan studi evolusi. Metode dengan tingkat invasif yang bervariasi seperti ventilasi seks, bedah laparoskopi, steroid, dan pemeriksaan kromosom (karyotyping) digunakan untuk identifikasi jenis kelamin pada burung monomorfik	52 individu yang mewakili 16 spesies dari 11 famili dari Indonesia dan beberapa dari tempat lain. Gen CHD diperkuat menggunakan reaksi rantai polimeras dengan MP, NP dan primer PF untuk memperkuat intron dengan panjang yang berbeda anantara CHD-W dan CHD-Z. Bulu diambil sebanyak tiga bulu, termasuk calamus (n=54) dipotong dan dipindahkan kedalam tabung Eppendorf. Ekstraksi DNA menggunakan kit komersial gSYNC DNA extraction kit sesuai dengan beberapa modifikasi. Produk	Identifikasi jenis kelamin dapat dilakukan secara non-invasif pada burung, karena jantan hanya memiliki kromosom seks Z, sedangkan betina memiliki kromosom Z dan W. Jenis kelamin burung sangat penting untuk penelitian ilmiah, dan untuk meningkatkan tingkat keberhasilan program pemuliaan konservasi.	Mengetahui bahwa penentuan jenis kelamin secara molekuler penting dalam program pemuliaan burung-burung yang ditawan.	Penggunaan sampel bulu sebagai sumber DNA untuk identifikasi jenis kelamin burung yang ditawan.	Teknologi DNA, molekuler sexing	

	konservasi.		<p>ekstraksi DNA dapat langsung diamplifikasi oleh PCR: Fragmen DNA diamplifikasi dengan menargetkan gen CHD pada DNA kromosom seks menggunakan primer P2, NP, dan MP. Kontrol positif, DNA yang diisolasi dari burung monomorfik betina dan jantan dari jenis kelamin diketahui. Elektroforesis dilakukan pada 2,5% agarose gel dengan pewarnaan FluoSafe dalam 100 ml larutan buffer 1 x Trisborate EDTA. Hasil PCR dari sampel bulu burung jantan dan betina diharapkan menunjukkan hasil yang sangat berbeda, dengan pita DNA tunggal pada jantan dan dua pada betina.</p>					
19	Pengambilan sampel non-invasif telah menjadi penting	Sampel non-invasif penting dalam studi analisis DNA	Darah <i>Phalacrocorax carbo</i> diambil 10 µl dan dikumpulkan, kemudian diekstraksi dengan	PCR tunggal menghasilkan pita bening dari 82,2% (88/107) dari	sumber sampel darah tidak diketahui dari tubuh burung	Dapat mengetahui tingkat keberhasilan	Menguji keandalan sampel non-invasif	Teknologi DNA, molekuler sexing

<p>dalam analisis DNA dalam ekologi unggas. Penelitian sebelumnya membandingkan sampel non-invasif untuk studi molekuler, namun hanya satu spesies yang digunakan yaitu Erithacus komadori. Penelitian ini dilakukan penentuan jenis kelamin berdasarkan DNA yang diekstraksi dari sel-sel bukal dari 12 spesies burung liar. Tujuan dari penelitian ini yaitu menentukan jenis kelamin berdasarkan DNA yang diekstraksi dari sel-sel bukal dari</p>	<p>dalam studi ekologi unggas. Sampel non-invasif yang banyak digunakan saat ini adalah sampel darah, bulu atau sampel urin. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sampel dari sel-sel bukal mudah dilakukan, aman, dan memakan waktu lebih sedikit daripada pengambilan sampel darah. Fragmen CHD1Z yang diperoleh oleh set primer biasanya berukuran 600-650 bp, dan fragmen CHD1W terdiri</p>	<p>metode dari Fridolfsson dan Ellegren (1999). Burung yang telah ditangkap digulung kapas ke bagian dalam mulut dan tenggorokan masing-masing selama sekitar 5 detik. Setiap swab ditempatkan ke dalam mikrotube yang berisi 1 ml etanol 99,5% dan diputar selama 10 detik, kemudian swab dibuang. Setiap mikrotube disentrifugasi pada suhu 4oC pada 14.000 rpm selama 15 menit, etanol dibuang dan pellet tetap dibiarkan sampai mengering. Masing-masing sampel dilarutkan dengan 400 µl buffer STE dengan 4 µl SDS 10% dan Protein K pada suhu 37oC semalaman. Pemurnian dilakukan dengan metode fenol/kloroform konvensional. Pasangan primer yang digunakan yaitu 2550F/2718R. Semua PCR dilakukan</p>	<p>semua sampel sel bukal, dua langkah menghasilkan pita jernih dari 95,3% (102/107) dari semua sampel sel bukal, - PCR Ampdirect menghasilkan pita jernih dari 98,1% (105/107) dari semua sampel sel bukal. Hasil penentuan jenis kelamin berdasarkan karakteristik morfologis atau DNA darah dan DNA bukal konsisten 100%. PCR tunggal dari DNA darah adalah 100% (14/14), namun tingkat PCR tunggal menggunakan DNA bukal hanya 57,1% (8/14). Tingkat keberhasilan PCR dua-langkah dan Ampdirect dari DNA bukal adalah 71,4%</p>	<p>bagian mana dan dengan alat apa.</p>	<p>tiga metode PCR yang digunakan sehingga dapat diketahui metode mana yang lebih baik dan dapat mengetahui teknik pengambilan sampel DNA dengan swab trakea.</p>	<p>yang digunakan dan teknik pengambilan sampel DNA dengan swab</p>	
--	--	---	---	---	---	---	--



	12 spesies burung liar dan membandingkan efisiensi sel sel-bukal burung sebagai sampel non-invasif untuk studi molekuler.	dari 400-450 bp pada sebagian besar spesies unggas.	dalam volume 10ml pada Perkin Elmer 9600 Thermal Cycler. Penelitian ini menggunakan tiga metode PCR untuk semua sampel yaitu one step PCR dengan Ampli taq Gold (Applied Biosystems) sebagai taq DNA polymerase (PCR tunggal); PCR kedua menggunakan 0,5 µl produk PCR tunggal sebagai template (PCR dua langkah); dan 2 µl dari 5 amplitudo (buffer reagen untuk DNA semi-murni, Shi-madzu). Genotip ditentukan oleh elektroforesis pada gel agarose 2% yang mencakup 100 bp DNA ladder (Takara) selama 30 menit pada 100 Volt.	(10/14) dan 85,7% (12/14), masing-masing. Dalam dua metode tambahan ini, meskipun tingkat keberhasilan dari DNA bukal (71,4% dan 85,7%) kurang dapat diandalkan daripada menggunakan DNA darah (100%), perbedaan dalam tingkat antara sampel tidak signifikan secara statistic.				
20	Penentuan jenis kelamin burung penting untuk penelitian evolusi, pertumbuhan, perilaku dan	<i>Aegolius funereus</i> adalah burung hantu yang tersebar luas dari wilayah sirkumboreal	Pengumpulan sampel swab DNA digunakan Epicenter Catch-Alle (Illumina, Madison, WI U.S.A.) untuk menyeka burung hantu yang muda. Swab bukal	Metode penentuan jenis kelamin menggunakan metode dari Griffith dkk, (1998) menunjukkan pemisahan band	Dapat mengetahui metode mana yang dapat paling baik untuk penentuan jensi	Penggunaan swab bukal untuk identifikasi jenis kelamin burung	Teknologi DNA, molekular sexing	

<p>ekologi, tetapi sulit untuk burung yang bersifat monomorfik secara seksual. Burung hantu yang tidak selamat sampai dewasa biasanya mati dalam 16 hari pertama. Oleh karena itu, penting menggunakan metode penentuan jenis kelamin secara akurat yang tidak secara negative mempengaruhi tingkat kelangsungan hidup individu. Tujuan dari penelitian ini yaitu melaporkan metode menggabungkan pengumpulan DNA non-invasif</p>	<p>dan karena letaknya dekat bagian atas jaring makanan boreal, burung ini digunakan sebagai bioindikator penting kesehatan hutan. Sebagian besar penelitian tentang penentuan jenis kelamin burung sangat bergantung pada DNA genom yang diekstraksi dari sampel darah atau jaringan, namun bagi burung hantu boreal sedikit bermasalah karena perilakunya yang kanibalisme.</p>	<p>dikeringkan kemudian dimasukkan ke cryotube dan ditutup. Sampel disimpan pada -20oC. Isolasi DNA genom burunghantu boreal menggunakan protokol buccal swab spin dari QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) tanpa modifikasi. Penentuan jenis kelamin pada burung hantu digunakan dua pasangan primer yaitu P2/P8 dan 2550F/2718R. Reaksi PCR dilakukan dalam volume 50 µl Eppendorf Mastercycler Pro S (Eppendorf, Hamburg, Germany). Permurnian primer dilakukan sekuensing DNA menggunakan QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Tiga primer yang baru dirancang adalah sebagai berikut: BOOW CHD forward (5' 0-TGAAGTATCGTCAGTTTC</p>	<p>yang diamplifikasi lemah, sedangkan dengan metode Fridolffson dan Ellegren (1999) dapat mengamplifikasi sebanyak 21/50 burung (42%) dan 37/50 burung (74%) untuk metode baru. Ketiga sampel menunjukkan jenis kelamin betina.</p>		<p>kelamin.</p>	<p>hantu boreal, metode isolasi DNA untuk swab bukal dan metode pengambilan sampel swab bukal.</p>	
---	---	--	--	--	-----------------	--	--

	menggunakan penyeka bukal dan teknik penentuan jenis kelamin berbasis PCR yang ditingkatkan secara khusus dirancang untuk burung hantu boreal.		C-3 0); CHDreverse (50-GCCACACTTCACATACTA T-30); dan CHDreverse (50-TGAGACACTGGCACAGA TT-30).					
21	Pada banyak spesies burung, sangat sulit untuk membedakan antara jantan dan betina berdasarkan analisis morfologi luarnya, terutama burung muda. Selain itu, setiap prosedur diskriminatif yang digunakan harus aman, akurat, cepat dan murah. Kariotipe mungkin merupakan	Menggunakan dua metode yang melibatkan DNA yang diekstraksi dari darah dan belum diadaptasi untuk analisis skala besar. Primer control yang digunakan berbeda untuk menentukan set terbaik untuk menghindari segala jenis pita palsu. Prosedur yang diadaptasi menggunakan	Sampel yang digunakan berasal dari 100 individu burung unta. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi alkali. Pada pengujian ini menggunakan primer spesifik. Reaksi yang digunakan menggunakan primer betina spesifik yang terkait dengan mikrosatelir L014 mikrosatelit primer. Reaksi multiplex yang dilakukan dengan primer OSM5.	Reaksi menggunakan primer betina spesifik menunjukkan pita ekstra sekitar 500 bp, yang terutama terlihat pada jantan. Pita ini menyebabkan salah tafsir, terutama dalam analisis skala besar, dimana jantan dapat diidentifikasi sebagai betina. Tidak satupun dari primer control lainnya menghasilkan pita palsu. Setelah dibandingkan	Metode yang digunakan tidak dijelaskan secara lengkap, Tidak diketahui bagaimana mendapatkan sampel bulu.	Untuk mengetahui tentang metode berbasis PCR dan sampel yang dalam penentuan jenis kelamin burung unta.	Sampel bulu yang digunakan sebagai sumber DNA.	Teknologi DNA, molekuler sexing

	<p>pilihan yang baik untuk jenis kelamin burung, tetapi sayangnya, perbedaan rendah kromosom Z dan W menghalangi pendekatan ini pada burung unta. Sampai saat ini, dua metode berbasis PCR telah ditetapkan untuk penentuan jenis kelamin burung unta, namun tidak satupun dari metode tersebut dimaksudkan untuk analisis skala besar. Penelitian ini melaporkan protocol yang diadaptasi untuk melakukan penilaian gender</p>	<p>96 sumur pelat PCT dengan menyediakan metode skala besar.</p>		<p>dengan yang lain, reaksi multiplex yang dilakukan dengan primer OSM5 menghasilkan pita amplifikasi yang lebih intens dan jelas. Set primer digunakan untuk penentuan jenis kelamin 100 individu dan memverifikasi keakuratan 100%, karena reaksi yang dibuat. DNA ekstraksi pada 96 pelat PCR yang baik bekerja dengan baik, memberikan DNA yang cukup untuk PCR dan membutuhkan waktu kurang dari satu jam untuk menyelesaikannya. Menggunakan replikator baja, DNA dengan mudah dipindahkan langsung ke pelat PCR yang berisi</p>				
--	---	--	--	--	--	--	--	--

	<p>skali besar menggunakan bulu burung unta tersebut. Tujuan dari penelitian ini yaitu melaporkan protocol yang diadaptasi untuk melakukan penilaian gender skali besar menggunakan bulu burung unta tersebut.</p>			<p>agen reaksi. Pendekatan ini memungkinkan tidak hanya analisis skala besar tetapi juga berguna untuk mencegah kontaminasi silang di PCR dan pertukaran sampel yang tidak disengaja, dan dapat digunakan untuk analisis lain seperti uji induk dan lain-lain.</p>			
22	<p>Peneliti biasanya mengumpulkan sampel darah dari burung liar dan sebagian besar berasumsi bahwa pengambilan sampel darah tidak memiliki efek buruk pada kelangsungan hidup burung. Namun, beberapa penelitian</p>	<p>Menggunakan kumpulan data pada burung Walet Tebing (<i>Petrochelidon pyrrhonota</i>) yang mencakup 2.945 burung berdarah dan 7.822 burung tidak berdarah yang ditangkap pada waktu dan lokasi yang sama di Nebraska barat</p>	<p>Lokasi burung walet yang sudah lama diteliti yaitu di dekat Stasiun Biologi Cedar Point (41 ° 13'N, 101 ° 39'W) di Keith County, barat daya Nebraska, di sepanjang sungai North Platte dan South Platte; wilayah studi juga mencakup bagian dari kabupaten Deuel, Garden, dan Lincoln. Pengambilan sampel darah untuk studi induk dengan menangkap mereka di</p>	<p>Kelangsungan hidup burung yang diambil darah lebih rendah daripada burung yang tidak diambil darahnya. Burung yang diambil darahnya mengalami penurunan rata-rata 21-33% dalam kelangsungan hidup, tergantung pada jumlah darah yang diambil dan apakah individu</p>	<p>Membuktikan bahwa pengambilan sampel darah merupakan teknik yang dapat berbahaya bagi kelangsungan hidup pada burung-burung kecil.</p>	<p>Pengaruh teknik invasive dalam kelangsungan hidup burung.</p>	<p>Biologi konservasi</p>

<p>tersebut hanya dilakukan pada burung penangkaran saja yang tidak memiliki kontrol yang memadai dengan menggunakan burung yang tidak diambil darah yang ditangani dengan cara yang sama pada saat yang sama. Hal tersebut menegaskan bahwa perdarahan tidak berpengaruh tanpa menyajikan data dengan pengamatan kembali atau menangkap kembali untuk melihat persentase perkiraan yang valid secara</p>	<p>daya dari tahun 1986 hingga 2006 untuk memperkirakan kelangsungan hidup tahunan dan kemungkinan menangkap kembali setiap kelompok.</p>	<p>dalam sarang; burung dewasa ditangkap pada waktu yang sama dengan metode yang sama tetapi tidak diambil sampel darahnya. Pemilihan individu burung Walet secara acak tanpa kriteria seleksi yang telah ditentukan dan tanpa pengetahuan tentang karakteristik fenotip pemilik sarang. Pengambilan darah dilakukan oleh ahli yang telah memiliki pengalaman dalam hal pengambilan darah. Darah diambil dari vena brakialis menggunakan jarum lanset 26. Darah dikumpulkan dalam tabung kapiler 70 <math>\mu</math>L. Mengklasifikasikan unggas yang diambil darah ke dalam dua kelompok yaitu 1-2 tabung kapiler (sekitar 70-140 <math>\mu</math>L; ini adalah 0,3-0,6% dari masa tubuh, dengan asumsi massa rata-rata untuk</p>	<p>tersebut tinggal di tempat fumigasi (bebas parasit) atau non-fumigasi. Persen penurunan kelangsungan hidup tahunan lebih tinggi untuk individu yang tinggal pada koloni non-fumigasi. Semua efek pengambilan sampel darah diterapkan hanya di tahun setelah pengambilan sampel, dan tidak ada efek di tahun-tahun berikutnya. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pengambilan sampel darah brakialis bukanlah teknik yang ramah. Peneliti yang mengikuti pedoman 1% dari massa tubuh mungkin mengumpulkan terlalu banyak</p>				
---	---	--	---	--	--	--	--

	<p>statistic dari kelangsungan hidup actual. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk membandingkan antara individu burung Walet Tebing (<i>Petrochelidon pyrrhonota</i>) yang diambil darah dan tidak diambil darah dan memperkirakan kelangsungan hidup menggunakan metodologi statistic modern.</p>		<p>burung waket tebing di lokasi penelitian) dan darah yang diambil dalam jumlah besar yaitu 3-4 tabung kapiler (sekitar 210-280 <math>\mu</math>L; 0,9-1,2% massa tubuh). Jika tidak berhasil mengambil darah dari burung tersebut meskipun telah menusuk kulitnya, maka individu tersebut akan dikeluarkan dari analisis. Pada metode mark and recapture burung ditangkap pada malam hari dan mengeluarkan burung pad asaat fajar. Mist net dipasang melintasi pintu masuk ke gorong-gorong atau di sepanjang sisi jembatan; Di beberapa lokasi, kami menjatuhkan jaring dari atas jembatan.</p>	<p>darah dari burung liar, terutama ketika penelitian membutuhkan sampel berulang dalam waktu singkat.</p>				
--	--	--	--	--	--	--	--	--