

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Jenis kelamin merupakan informasi dasar dari makhluk hidup yang penting untuk diketahui, sayangnya tidak semua makhluk hidup mudah untuk dibedakan antara jantan dan betinanya. Beberapa spesies memiliki kenampakan morfologis yang sama antara jantan dan betinanya, sehingga sulit dibedakan, contohnya pada burung (Dubiec, 2006). Lebih lanjut menurut Dubiec, lebih dari separuh jenis burung perlu identifikasi khusus guna mengetahui jenis kelaminnya. Hal ini karena burung memiliki sifat monomorfik, yaitu memiliki kenampakan sama antar jenis kelamin. Perbedaan yang ada pada spesies burung yang dimorfik juga sangat kecil. Burung usia muda yang baru menetas kerap tidak dapat dibedakan jenis kelaminnya (Cerit dan Avanus, 2007).

Sampai saat ini, pada dasarnya telah tersedia berbagai metode dalam menentukan jenis kelamin burung. Metode paling sederhana adalah *vent sexing*, yang mengandalkan kemampuan seorang ahli dalam mengindikasikan jenis kelamin burung berdasarkan kenampakan luar dan karakter kelamin jantan pada kloaka burung. Kelemahan metode ini adalah kemungkinan kesalahan identifikasi, yang dapat dilakukan oleh seorang ahli sekalipun. Metode lain yang sering digunakan untuk menentukan jenis kelamin pada burung monomorfik antara lain *laparoscopi*, *sexing steroid* dan *karyotyping*. Metode *laparoscopy* menyakitkan dan dapat mengakibatkan kematian bagi burung. Selain itu, metode-metode tersebut rumit, memakan waktu yang lama dan mahal. Dibutuhkan alternatif

metode yang tepat, cepat dan efektif untuk melakukan *sexing* tersebut (Cerit dan Avanus, 2007).

Seiring perkembangan di bidang teknobiologi yang memungkinkan berbagai analisis hingga level DNA (*deoxyribo nucleic acid*), muncul teknik *molecular sexing* guna menjawab tantangan di atas. *Molecular sexing* berdasarkan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan salah satu pilihan yang menarik karena teknik ini mudah digunakan, cepat, dan hanya memerlukan sedikit sampel DNA. Sampel ini dapat diambil dari selembur bulu atau setetes darah burung (Reddy, 2007).

Penanda yang digunakan selama ini adalah kromosom seks berupa kromosom W pada burung betina (ZW) yang tidak dimiliki oleh pejantan (ZZ). Gen penanda pertama yang ditemukan adalah CHD (*chromo-helicase-DNA-binding*) yang terletak di kromosom W pada aves (Griffiths dkk., 1998). Hasil amplifikasi PCR dengan metode *molecular sexing* berdasarkan gen penanda CHD akan menunjukkan jenis kelamin sampel berdasarkan jumlah pita yang terbentuk. Hal ini karena gen CHD-W dan CHD-Z pada betina akan teramplifikasi menjadi dua sekuen, sedangkan dua gen CHD-Z pada jantan akan menghasilkan satu sekuen saja (Quintana dkk., 2008).

Primer-primer yang telah ada dan digunakan untuk amplifikasi gen CHD antara lain pasangan P2-P8 (Griffiths dkk., 1998), pasangan primer 2550F-2718R (Fridolfson dan Ellegren, 1999), serta pasangan primer 1237L-1272H (Khan dkk., 1998). Metode ini juga terus berkembang, khususnya pada tahap ekstraksi, dimana

telah ditemukan metode perebusan tanpa melalui prosedur ekstraksi fenol-kloroform sehingga lebih mudah dan murah.

Metode PCE (*Phenol Chloroform Extraction*) merupakan metode yang umum digunakan untuk ekstraksi DNA. Meskipun beresiko karena menggunakan fenol dan kloroform, metode ini sering digunakan. Ekstraksi dengan metode PCE cukup efektif dalam mengisolasi DNA dari berbagai macam sampel (Tenriulo, 2001). Fenol berbahaya karena merupakan asam kuat yang dapat menyebabkan kebakaran serius. Kloroform adalah bahan kimia yang bersifat karsinogen. Penggunaan fenol-kloroform mulai dikurangi penggunaannya karena resiko gandanya, (Gaaib, 2011). Tahun 2002, Tomasulo dkk. menggunakan metode perebusan untuk menghindari pemakaian proteinase-K dan fenol. Metode ini diadaptasi oleh Quintana dkk. (2008), dan disebutkan bahwa hasilnya tidak jauh berbeda dengan ekstraksi dengan metode PCE.

Berbagai penelitian yang telah dilakukan memiliki berbagai tujuan dan manfaat. Manfaat yang didapat antara lain guna proses penangkaran, kepentingan niaga maupun guna studi lain seperti studi ekologi. Pasangan primer yang paling banyak digunakan adalah pasangan P2-P8 (Griffiths dkk., 1998), yang telah berhasil dalam identifikasi 27 dari 28 berbagai jenis dan ordo burung yang diuji.

Beberapa penelitian mengenai aplikasi *molecular sexing* di Indonesia sendiri telah dimulai terhadap spesies-spesies burung asli Indonesia. Tahun 2002, Zaniar menggunakan primer P2-P8 melakukan *molecular sexing* terhadap burung Betet Jawa (*Psittacula alexandri-alexandri*). Penelitian mengenai *molecular sexing* di lingkup Universitas Atma Jaya Yogyakarta sendiri telah

dilakukan oleh Yuda (2008), menggunakan pasangan primer 2550F-2718R terhadap Gelatik Jawa. Penelitian serupa terhadap burung Jalak Bali (*Leucopsar rothschildi*) dilakukan oleh Wirastika (2013), menggunakan tiga pasang primer yaitu pasangan P2-P8, pasangan 2550F-2718R, serta pasangan 1237L-1272H.

Burung air bermigrasi adalah bagian penting dari ekosistem lahan basah di dunia. Kehadiran burung air merupakan indikator penting dalam pengkajian mutu dan produktivitas suatu lingkungan lahan basah. Indonesia diketahui sebagai salah satu negara penting dalam hal tersedianya habitat yang mendukung kehidupan burung air bermigrasi (pendatang) (Alamsyah dkk., 2007). Metode *molecular sexing* sebagai metode yang paling akurat dan cepat saat ini, perlu dikembangkan di wilayah Indonesia yang memiliki sumber daya alam begitu besar, termasuk berbagai jenis aves. Penelitian ini dilakukan dengan harapan mengetahui keefektifan metode ekstraksi maupun primer yang paling sesuai guna identifikasi jenis kelamin spesies-spesies di Indonesia, khususnya spesies burung air. Sampel burung yang digunakan dalam penelitian ini adalah Trinil Pantai (*Tringa/Actitis hypoleucos*), Trinil Kaki Merah (*Tringa totanus*), Cerek Jawa (*Charadrius javanicus*), Berkik Kembang Besar (*Rostratula benghalensis*), dan Kedidi Leher Merah (*Calidris ruficollis*).

B. Rumusan Masalah

1. Apakah metode ekstraksi DNA dengan metode perebusan lebih efektif dibanding metode standar PCE (*phenol-chloroform extraction*) guna mendapatkan DNA?

2. Seberapa besar efektifitas pasangan primer P2-P8, pasangan 2550F-2718R, serta pasangan 1237L-1272H untuk mengidentifikasi jenis kelamin burung air?

C. Tujuan Penelitian

1. Membandingkan kualitas DNA hasil ekstraksi metode perebusan dengan metode standar PCE (*phenol-chloroform extraction*).
2. Menentukan primer molekuler yang paling efektif untuk mengidentifikasi jenis burung air.

D. Manfaat Penelitian

Pengetahuan mengenai jenis kelamin suatu makhluk hidup penting kaitannya dengan berbagai studi dan kepentingan lain seperti dalam penelitian evolusi, ekologi, *sex ratio*, demografi dan konservasi. Menurut Cerit dan Avanus (2007), identifikasi jenis kelamin diperlukan antara lain guna kepentingan manajemen dan konservasi spesies burung, studi mengenai ekologi, perilaku, struktur populasi dan sejarah hidup. *Sex ratio* yang seimbang dalam populasi yang kecil sangat penting bagi manajemen konservasi terhadap spesies yang terancam. Keberhasilan identifikasi jenis kelamin secara tepat akan memberikan kontribusi terhadap keberhasilan kepentingan-kepentingan tersebut di atas.

Hasil penelitian ini sendiri diharapkan dapat memberikan informasi mengenai metode yang sesuai dalam melakukan identifikasi jenis kelamin terhadap spesies burung di Indonesia, khususnya jenis burung air. Metode yang dimaksud ditinjau dari cara ekstraksi guna mendapatkan sampel, serta pemilihan primer yang tepat guna teknik *molecular sexing* lebih lanjut. Metode yang tepat

akan membantu penelitian serupa selanjutnya, sehingga akan menghemat waktu maupun biaya.

