

EVALUASI METODE PENENTUAN JENIS KELAMIN PADA NURI KEPALA HITAM (*Lorius lory*, Linnaeus 1758)

EVALUATION OF SEXING METHODS ON BLACK CAPED LORY (*Lorius lory*, Linnaeus 1758)

Herjuno Ari Nugroho dan Moch. Syamsul Arifin Zein

Gedung Widyasatwaloka, Pusat Penelitian Biologi LIPI
Jl. Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong, Bogor, Jawa Barat 16911
e-mail: herjunoari@gmail.com

(diterima Juni 2015, direvisi September 2015, disetujui Oktober 2015)

ABSTRAK

Penentuan jenis kelamin pada burung monomorfik seperti Nuri Kepala Hitam (*Lorius lory*) kadang sulit dilakukan, meskipun hal itu penting dalam program penangkaran. Tujuan dari studi ini untuk mengevaluasi reliabilitas dan efektifitas metode penentuan jenis kelamin untuk Nuri Kepala Hitam berdasarkan pengukuran karakter morfologi (morfometri) dan identifikasi molekuler menggunakan gen CHD1 dari kromosom seks. Analisis diskriminan diterapkan pada ukuran panjang tubuh dan culmen dari 9 spesimen museum. Fungsi yang terbentuk diaplikasikan pada 6 ekor burung hidup dan mampu mengklasifikasikan dengan benar 83,33% individu (5/6). Amplifikasi gen CHD1 mampu menentukan 100% sampel (6/6) dengan jantan menunjukkan pita DNA tunggal (ZZ) dan betina menunjukkan pita DNA ganda (ZW). Berdasarkan evaluasi kedua metode, metode molekuler lebih akurat dan aplikatif digunakan untuk determinasi seksual Nuri Kepala Hitam dengan jumlah sampel kecil dibandingkan dengan metode morfometri, akan tetapi melalui metode morfometri akan diperoleh karakter morfologi pembeda antara kedua jenis kelamin. Penelitian ini menganjurkan bahwa teknik molekuler dapat digunakan dalam determinasi kelamin burung monomorfik.

Kata kunci: *Lorius lory*, nuri kepala hitam, penentuan jenis kelamin

ABSTRACT

Determining an individual sex is often difficult in monomorphic birds like Black Caped Lory (*Lorius lory*), even though it is important for captive breeding program. The objective of this study was to evaluate the reliability and effectivity of sex identification method for Black Caped Lory based on morphological measurement (morphometric) and molecular identification using CHD1 genes of sex chromosomes. Discriminant analysis was performed on total body length and culmen measurements from 9 museum specimens. The created function was applied for 6 live birds and showed correctly classified 83,33% individuals (5/6). The amplification of CHD1 genes determined 100% samples (6/6) with male showed a single DNA band (ZZ) and female showed double DNA bands (ZW). Based on comparison and evaluation between two methods, molecular method was more accurate and applicable to determine the sex of Black Caped Lory with small sample size compared with morphometric method, but from morphometric method would be obtained morphological characters that distinguish between sexes. This study suggests that molecular method can be used in the sex determination of monomorphic birds.

Keywords: *Lorius lory*, black caped lory, sexing

PENDAHULUAN

Nuri Kepala Hitam (*Lorius lory*) merupakan salah satu jenis burung endemik di Papua dan pulau kecil sekitarnya. Burung dewasa memiliki ciri warna dasar bulu tubuh berwarna merah, dari dahi hingga tengkuk berwarna hitam, pita biru gelap mengelilingi pangkal leher, sayap berwarna hijau, dada hing-

ga perut bawah berwarna biru gelap, bagian atas bulu ekor berwarna merah dengan ujung biru sedangkan bagian bawah berwarna kuning zaitun. Pada burung ini *cere* berwarna kelabu, kaki berwarna kelabu gelap, iris mata kuning hingga jingga dan pada burung dewasa memiliki paruh berwarna jingga. Burung dewasa memiliki rerata panjang sekitar 31 cm dengan kisaran berat

198-260 gram (Forshaw 1989).

Keindahan bulu dan kecerdasannya menjadikan satwa ini salah satu hewan peliharaan favorit. Penangkapan liar di alam untuk diperdagangkan sebagai hewan peliharaan dapat mengancam kelestarian burung ini di alam. Pemerintah Indonesia menetapkan *L.lory* sebagai satwa dilindungi untuk menjaga kelestariannya dalam UU No. 5 Tahun 1990 tentang Konservasi Sumber Daya Alam Hayati dan Ekosistemnya, PP No. 7 Tahun 1999 tentang Pengawetan Jenis Tumbuhan dan Satwa, dan Keputusan Menteri Kehutanan No. 301/Kpts-11/1991 tentang Inventarisasi Satwa yang Dilindungi Undang-Undang dan atau Bagian-Bagiannya yang Dipelihara oleh Perorangan. Status *L.lory* dalam *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) adalah *Least Concern* (LC), akan tetapi ditetapkan oleh *Convention on International Trade in Endangered Species* (CITES) dalam status appendiks II untuk mengatur perdagangannya dengan memberikan kuota tangkap (IUCN 2014).

Pengembangbiakan *L.lory* di penangkaran merupakan salah satu usaha untuk memenuhi kebutuhan akan *L.lory* sebagai hewan peliharaan, serta menurunkan pasokan dari hasil tangkapan alam. Dalam usaha penangkaran burung, determinasi jenis kelamin penting dilakukan sebagai referensi perjodohan calon indukan maupun data untuk anakan. Determinasi seksual pada *L.lory* relatif susah dilakukan melalui observasi saja karena burung ini bersifat monomorfik, tidak terdapat perbedaan mencolok morfologi, ukuran dan warna tubuh diantara dua jenis kelamin.

Berbagai metode penentuan jenis kelamin (*sexing*) telah dikembangkan, akan tetapi memiliki berbagai kelemahan seperti memakan waktu dan biaya (karyotipe, analisis hormon), invasif dan susah diaplikasikan di lapangan (laparotomi, laparoskopi) atau hanya dapat dilaksanakan pada masa tertentu (penentuan jenis kelamin melalui kloaka, perilaku pada musim kawin). Metode yang lain adalah teknik molekuler dan analisa morfometri (Griffiths 2000; Grant 2001; Dubiec & Zagalska-Neubaver 2006; Cerit & Avanus 2007; Kocijan *et al.* 2011; Khaerunisa dkk. 2013).

Menurut Grant (2001), aves berbeda dengan mamalia dalam hal kromosom seks. Mamalia memiliki kromosom seks heterozigot XY pada jantan dan homozigot XX pada betina. Aves berkebalikan, dengan kromosom seks heterozigot ZW pada betina dan homozigot ZZ pada jantan. Fridolf-sson & Ellegren (1999), telah mengembangkan metode penentuan jenis kelamin DNA dengan berdasarkan deteksi perbedaan ukuran intron gen *Chromodomain helicase DNA binding* (CHD) pada kromosom Z dan kromosom W. Primer yang didesain berlokasi di kedua area ekson yang urutan basa nitrogen yang mirip pada banyak spesies dan terletak diantara intron. Amplifikasi segmen gen CHD pada burung jantan hanya menghasilkan satu fragmen amplikon dari kromosom Z sedangkan pada burung betina akan menghasilkan satu fragmen dari kromosom W atau dua fragmen dari kromosom Z dan W yang memiliki perbedaan ukuran panjang pita karena perbedaan panjang intron yang teramplifikasi. Meskipun relatif mahal, penentuan jenis ke-

lamin metode molekuler dapat diaplikasikan pada burung muda dan burung monomorfik serta memiliki akurasi tinggi karena langsung menarget pada kromosom seks.

Berbagai metode penentuan jenis kelamin dengan pendekatan molekuler telah dikembangkan. Penentuan jenis kelamin molekuler tidak hanya sebatas pada amplifikasi segmen gen CHD1 saja tapi juga pada situs lain di kromosom seks. Teknik amplifikasi juga tidak hanya dengan teknik PCR konvensional tapi juga dengan teknik lain seperti Amplifikasi Mikrosatelit, *Random Amplified Polymorphism DNA (RAPD)*, *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*, *Real Time PCR* dan sebagainya. Kelebihan metode PCR konvensional seperti yang dipakai dalam uji ini relatif lebih mudah dilakukan, produktifitasnya tinggi dan relatif lebih murah dalam pengoperasian. Adapun kelemahan metode ini dibandingkan metode molekuler lain adalah tingkat sensitivitasnya yang menengah (Morinha *et al.* 2012).

Berbagai macam primer untuk amplifikasi segmen intron gen CHD1 juga telah dikembangkan. Segmen intron gen CHD1 digunakan sebagai marker determinasi seksual karena memiliki perbedaan ukuran yang nyata antara kedua jenis kelamin (Morinha *et al.* 2012). Disain primer 2550F/2718R memiliki target di dua area ekson diantara intron karena memiliki urutan basa nitrogen yang mirip pada banyak spesies dibandingkan dengan disain primer lain (Fridolfsson & Ellegren 1999).

Sulandari & Zein (2012), membandingkan efektivitas primer 2550F/2718R dengan P2/P8 untuk determinasi seksual pada 259 ekor

burung di Indonesia. Primer P2/P8 hanya dapat mendeterminasi 81,8% sampel sedangkan primer 2550F/2718R dapat mendeterminasi 100% sampel dari sebanyak 259 ekor sampel termasuk *L. lory*. Khaerunisa *et al.* (2013), juga melakukan komparasi efektivitas antara primer P2/P8 dan 2550F/2718R untuk determinasi seksual beberapa jenis unggas. Hasilnya hanya primer 2550/2718R mendeterminasi lebih banyak sampel.

Metode analisis morfometri dapat diaplikasikan pada burung dewasa, cepat, murah dan dapat diaplikasikan diluar musim kawin. Akan tetapi metode ini memiliki tingkat konfideni rendah apabila tidak didukung data lainnya terutama apabila diaplikasikan pada burung monomorfik (Fournier *et al.* 2013). Karakteristik yang dapat digunakan sebagai parameter komparasi antar jenis kelamin antara lain ukuran kepala, *tarsus*, ukuran paruh, panjang sayap dan ekor (Bourgeois *et al.* 2007; Helander *et al.* 2007; Liordos & Goutner 2008; Fournier *et al.* 2013; Kulaszewicz 2013; Audet *et al.* 2014). Percobaan ini dimaksudkan untuk mengevaluasi metode penentuan jenis kelamin morfometri dan molekuler yang aplikatif dan akurat diterapkan pada *L.lory* khususnya di Penangkaran Burung, Pusat Penelitian Biologi LIPI.

METODE PENELITIAN

Kegiatan pengujian di lakukan di tiga fasilitas di lingkungan Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi LIPI. Pengambilan sampel materi genetik dan pengukuran morfometri spesimen hidup di-lakukan di Penangkaran Bu-

rung, pengukuran morfometri spesimen awetan dilakukan di Laboratorium Ornitologi dan penentuan jenis kelamin molekuler dilakukan di Laboratorium Genetika. Kegiatan dilaksanakan pada bulan Januari hingga Februari 2015.

Penentuan jenis kelamin DNA

Isolasi materi DNA dilakukan dari potongan bulu dengan panjang sekitar 0,5-1 cm dari ujung terminal. Potongan bulu kemudian ditempatkan pada tube *Eppendorf* lalu dicampur dengan 500 µl Lysis Buffer (50 mM Tris-HCL pH 8, 20 mM ethylenediaminetetraacetic acid [EDTA]) dan 20 µl proteinase K konsentrasi 175 µg/ml. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama semalam. Selanjutnya proses isolasi dilakukan sesuai dengan metode fenol-kloroform (Bello *et al.* 2001). Sampel DNA diamplifikasi dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer 2550F dan 2718R dengan target segmen gen CHD1 yang terletak pada kromosom seks. Runutan sekuen primer 2550F adalah sebagai berikut 5'-GTT ACT GAT TCG TCT ACG AGA-3', sedangkan sekuen primer 2718R yaitu 5'-ATT GAA ATG ATC CAG TGC TTG-3' (Fridolfsson & Ellegren 1999).

Amplifikasi dilakukan dengan volume total reaksi 15 µl dengan perincian komposisi sebagai berikut 0,2 mM untuk setiap dNTP, 0,3 pmol untuk setiap primer, 2,5 Mm MgCl₂, 0,5 unit Taq DNA Polymerase dalam 1x buffer reaksi (10 mM Tris-HCl pH 8,3 dan 50 mM KCl) dan 0,3 mg/ml BSA. Reaksi amplifikasi

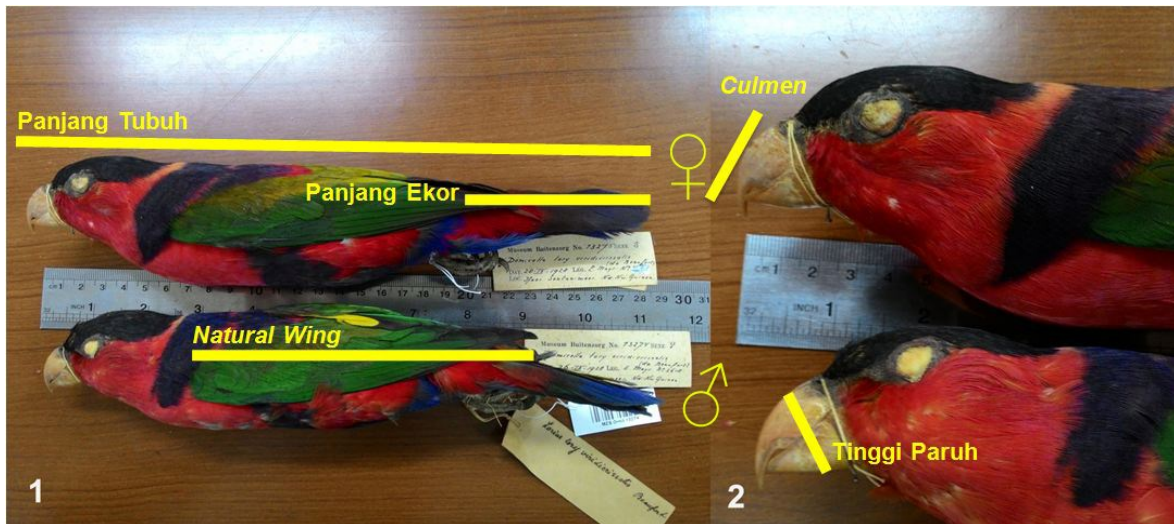
Tabel 1. Nomor dan jenis kelamin spesimen.

Nomor Sampel	Nomor Akses Spesimen	Jenis Kelamin
1	MZB.ORN.14537	Jantan
2	MZB.ORN.14536	Jantan
3	MZB.ORN.30242	Betina
4	MZB.ORN.14538	Betina
5	MZB.ORN.13278	Betina
6	MZB.ORN.13279	Jantan
7	MZB.ORN.5715	Jantan
8	MZB.ORN.21614	Jantan
9	MZB.ORN.13280	Jantan

dijalankan pada mesin *thermocycler* Gene Amp*PCR system 9700 (Applied Biosystem, USA) pada kondisi predenaturasi 94°C selama 5 menit, denaturasi 94°C selama 45 detik, *annealing* 46°C selama 45 detik dan elongasi 72°C selama 90 detik sebanyak 30 siklus. Pada akhir siklus diikuti reaksi pasca-elongasi pada suhu 72°C selama 10 menit (Sulandari & Zein 2012). Produk PCR yang diperoleh di elektroforesis pada gel agarose 2% yang telah di-*staining* dengan Flourosafe dan di-*running* dalam tegangan 100 volt selama 45 menit. Produk PCR dielektroforesis dengan dibandingkan DNA *marker* ukuran 100bp (Fermentas). Hasil elektroforesis divisualisasi dengan UV transiluminator untuk melihat munculnya pita DNA.

Morfometri

Sebanyak enam ekor *L.lory* milik Pusat Penelitian Biologi yang belum diketahui jenis kelaminnya digunakan sebagai sampel



Gambar 1. Ilustrasi pengukuran morfometrik pada spesimen museum. 1) Penampakan seluruh badan spesimen. 2) Perbesaran pada kepala. Posisi betina ada di atas dan jantan di bawah. Pada ilustrasi ini tidak ditunjukkan pengukuran tebal paruh.

penentuan jenis kelamin. Penentuan jenis kelamin dengan metode morfometri dilakukan dengan modifikasi dan kombinasi metode dari Bourgeois *et al.* (2007), Fournier *et al.* (2013), dan Audet *et al.* (2014). Pengukuran juga dilakukan pada 9 sampel spesimen museum milik *Museum Zoologicum Bogoriense*. Nomor akses spesimen dan jenis kelamin tersaji pada Tabel 1.

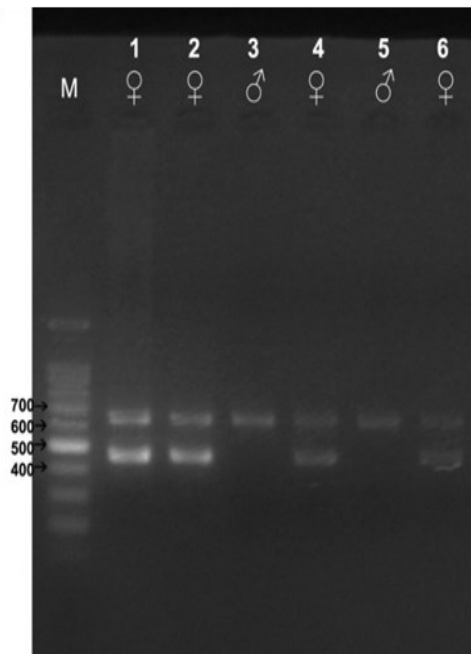
Parameter yang diukur untuk metode morfometri meliputi: panjang tubuh (ujung paruh hingga ujung ekor), panjang ekor (pangkal ekor hingga ujung bulu ekor yang paling panjang), *natural wing* (lengkung sayap hingga ujung bulu primer terpanjang), tinggi paruh (dasar paruh bawah hingga puncak paruh atas), tebal paruh (sisi kiri paruh atas hingga sisi kanan paruh atas), dan *culmen* (ujung paruh hingga bulu pertama di persambungan paruh atas-kulit).

Alat yang digunakan untuk mengukur panjang badan, sayap (*natural wing*) dan ekor

dengan penggaris besi ukuran 15 cm dan 30 cm (ketelitian 1 mm). Alat yang digunakan untuk mengukur paruh adalah kaliper (ketelitian 0,01 mm). Ilustrasi pengukuran morfometrik ditampilkan pada Gambar 1.

Analisis Statistik

Data penentuan jenis kelamin molekuler dan morfometri dianalisa sesuai Bourgeois *et al.* (2007), Helander *et al.* (2007), dan Audet *et al.* (2014), yakni dengan metode statistik uji *t-test* independen pada rerata perbedaan ukuran masing-masing parameter pada kedua jenis kelamin. Analisis diskriminan diterapkan pada parameter spesimen museum yang memiliki perbedaan signifikan untuk mendapatkan formula diskriminasi antar jenis kelamin. Analisis statistik menggunakan program *Software Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 16.0. Persentase dimorfisme seksual dari setiap pengukuran dikalkulasikan dengan formula sesuai Weidinger & van Fran-



Gambar 2. Elektroforesis produk PCR. M: Marker DNA (100bp); sampel 1, 2, 4 dan 6 berjenis kelamin betina (♀) ditunjukkan dengan dua pita yakni Z yang berukuran sekitar 450bp dan W yang berukuran sekitar 650bp, sedangkan sampel 3 dan 5 berjenis kelamin jantan (♂) ditunjukkan dengan munculnya satu pita Z yang berukuran 650bp.

eker (1998), yang tersaji pada persamaan 1.

$$100\% \times \frac{(m-f)}{m} \quad (1)$$

m = rerata ukuran jantan; f = rerata ukuran betina.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan visualisasi produk amplifikasi segmen gen CHD1 pada keenam sampel, dapat digunakan untuk membedakan jenis kelamin *L.lory*. Burung jantan akan menghasilkan satu pita produk PCR sekitar 650bp hasil amplifikasi segmen gen CHD1Z

sedangkan pada burung betina akan menghasilkan dua pita produk PCR sekitar 450bp dan 650bp, masing-masing untuk -segmen gen CHD1Z dan CHD1W. Berdasarkan hasil amplifikasi segmen gen CHD dapat diketahui bahwa sampel burung nuri kepala hitam nomor 1, 2, 4, 6 berjenis kelamin betina sedangkan nomor 3 dan 5 berjenis kelamin jantan, lihat Gambar 2.

Sampel DNA diperoleh dari sampel bulu, lebih sedikit menimbulkan stress pada burung dan lebih memperhatikan kesejahteraan hewan. Bulu memiliki sel hidup di dalam *calamus* atau endapan darah di batang bulu. Eritrosit burung memiliki nukleus sehingga isolasi DNA dari sedikit jumlah darah akan didapatkan sampel DNA. Penentuan jenis kelamin menggunakan bulu memberi hasil yang akurat baik pada burung anakan atau dewasa, aman dan tidak mengancam nyawa, cepat diperoleh, murah serta mudah dalam pengambilan sampel. Sampel bulu dapat disimpan selama 2 minggu pada suhu ruang dan hingga satu bulan pada suhu 4 °C (Bello *et al.* 2001; Cerit & Avanus 2007).

Grant (2001), memberikan beberapa catatan dalam mengambil sampel bulu untuk keperluan isolasi DNA. Bulu yang digunakan untuk isolasi DNA lebih baik dari bulu yang dicabut daripada bulu yang telah rontok karena bulu segar memiliki lebih banyak materi genetik; bulu yang dicabut tidak boleh menyentuh tanah untuk mencegah kontaminasi; bulu disimpan dalam plastik steril pada suhu dingin, kering dan steril di freezer; tidak menyentuh bagian *calamus* dan pangkal batang

untuk mencegah kontaminasi materi genetik.

Hasil penentuan jenis kelamin dengan teknik molekuler memiliki tingkat reliabilitas yang relatif lebih tinggi karena determinasi seksual berdasarkan segmen gen CHD1 yang teramplifikasi dari kromosom Z dan W. Burung jantan memiliki kromosom ZZ sedangkan betina memiliki kromosom ZW. Segmen gen CHD1 yang diamplifikasi pada kedua jenis kromosom memiliki perbedaan ukuran panjang basa sehingga jumlah pita produk am-

plifikasi yang tervisualisasi melalui proses elektroforesis dapat digunakan sebagai dasar penentuan jenis kelamin. Satu pita pada betina dan dua pita pada jantan (Fridolfsson & Ellegren 1999; Grant 2001)

Fridolfsson & Ellegren (1999), melakukan penentuan jenis kelamin dengan metode molekuler pada berbagai jenis burung. Burung jantan memiliki kromosom seks yang homozigot ZZ sehingga segmen gen yang teramplifikasi hanya segmen gen CHD1Z

Tabel 2. Hasil analisa statistik nilai morfometri.

Parameter	Jantan			Betina			P T-test	% Dimorfisme
	Jumlah Sampel	Rerata (mm)	SD	Jumlah Sampel	Rerata (mm)	SD		
<i>Natural Wing</i>	8	160,710	7,566	7	152,710	13,022	0,185	4,978
Panjang Ekor	8	97,750	6,274	7	94,670	2,338	0,278	3,151
Tinggi Paruh	8	22,834	1,793	7	22,081	2,172	0,475	3,298
Tebal Paruh	8	12,760	1,358	7	12,529	1,649	0,771	1,810
<i>Culmen</i>	8	25,575	1,165	7	23,551	2,196	0,041*	7,914 ^a
Panjang Tubuh	8	268,290	7,588	7	283,170	6,616	0,003*	-5,546

Keterangan: * memiliki perbedaan signifikan dengan $P < 0,05$; ^aderajat dimorfisme tertinggi

berukuran sekitar 600-650bp. Burung betina memiliki kromosom seks heterozigot ZW sehingga segmen gen yang ter-amplifikasi ada dua yakni segmen CHD1 Z dari kromosom Z dan segmen CHD1W dari kromosom W yang berukuran sekitar 400-450bp. Ukuran ini bervariasi untuk tiap spesies, bahkan bisa mencapai 1,2 kb pada Strigiformes. Pada *L.lory*, produk PCR yang dihasilkan untuk pita Z sekitar 650bp dan pita W sekitar 450bp.

Berdasarkan perbandingan berbagai karakteristik morfometri, didapati berbagai nilai persentase dimorfisme. *Culmen* memiliki persentase dimorfisme yang paling tinggi yak-

ni sebesar 7,914% yang menandakan bahwa *culmen* jantan lebih panjang 7,914% dibanding betina dengan rerata panjang *culmen* jantan 25,575 mm dan betina 23,551 mm. Nilai $P_{culmen} < 0,05$ sehingga terbukti terdapat perbedaan signifikan antara panjang *culmen* jantan dan betina. Panjang tubuh memiliki presentase dimorfisme sebesar -5,546%. Tanda negatif menandakan bahwa rerata ukuran betina lebih besar daripada rerata ukuran jantan sebesar 5,546%. Panjang tubuh juga terbukti memiliki perbedaan yang signifikan antara kedua jenis kelamin dengan nilai $p = 0,003$. Data pengukuran dan perhitungan

statistik tersaji pada Tabel 2.

Berdasarkan rerata hasil pengukuran karakteristik morfologi, burung betina memiliki rerata ukuran panjang tubuh yang lebih dibandingkan jantan. Akan tetapi jantan memiliki panjang sayap dan ukuran paruh yang lebih panjang daripada betina. Ukuran yang diperoleh pada panjang sayap, *culmen* dan ekor masuk dalam kisaran ukuran yang telah dilakukan oleh Forshaw (1989), yakni panjang sayap (♂ 149-187mm; ♀ 143-186mm), *culmen* (♂ 22-30mm; ♀ 20-30mm) dan ekor (♂ 85-112mm; ♀ 84-111mm). Kecenderungan rerata jantan pada keempat parameter tersebut juga lebih besar daripada rerata betina.

Analisis diskriminan diterapkan hanya pada sampel spesimen museum untuk parameter yang memiliki perbedaan yang signifikan, yakni pada panjang *culmen* (C) dan panjang tubuh (Pt) dan diperoleh formula 2:

$$Y = 0,796 + (-0,065Pt) + 0,709C \quad (2)$$

Apabila diperoleh $Y < 0$ maka burung yang diuji adalah betina, namun jika $Y \geq 0$ maka burung yang diuji adalah jantan. Formula ini dicoba kembali pada sampel museum dan memiliki tingkat akurasi 100% (9/9). Formula kemudian digunakan untuk mendeterminasi sampel hidup dan dibandingkan dengan hasil penentuan jenis kelamin molekuler. Berdasarkan perbandingan, formula mampu mendeterminasi jenis kelamin *L.lory* dengan tingkat akurasi 83,33% (5/6) dengan perincian akurasi determinasi jantan 100% (2/2) dan betina 75% (3/4).

Formula determinasi yang diperoleh

pada percobaan ini memiliki akurasi 83,34% saat diuji ke sampel hidup. Formula dapat mendeterminasi sampel jantan dengan akurasi 100% (2/2), sedangkan untuk sampel betina formula gagal mendeterminasi satu sampel sehingga akurasi hanya 75% (3/4). Dengan jumlah sampel yang sedikit, formula ini masih memiliki tingkat bias yang tinggi. Formula ini juga perlu dicoba pada sampel yang lebih banyak lagi untuk dikaji kembali akurasinya.

Evaluasi metode morfometri dengan molekuler telah dilakukan pada beberapa jenis burung monomorfik lain. Perbedaan yang signifikan pada karakter morfometri bagian tubuh tertentu dilanjutkan dengan pembuatan formula analisis diskriminan yang dapat digunakan untuk determinasi seksual. Bourgeois *et al.* (2007), mengemukakan bahwa determinasi seksual pada burung air *Puffinus yelkouan* dapat dilakukan melalui analisa perbandingan morfometri pada kepala, tarsus dan panjang sayap (*natural wing*) dengan akurasi formula 85% (akurasi jantan 80,6% dan betina 89,7%). Analisis morfometri juga dilakukan pada anakan elang ekor putih (*Haliaeetus albicilla*) yang dilakukan Helander *et al.* (2007), bahwa rerata ukuran tarsus burung anakan elang betina lebih besar dengan tingkat akurasi formula 96%. Perbandingan morfometri *culmen* dan sayap dapat dipakai sebagai acuan determinasi seksual dengan percobaan pada *Phalacrocorax carbo sinensis* dengan tingkat akurasi formula 92,6% (Liordos & Goutner 2008).

Kulaszewicz *et al.* (2013), menggunakan panjang sayap dan paruh untuk

membentuk formula determinasi seksual *Locustella lusciniodes* dengan tingkat akurasi 94% (akurasi jantan 94% dan betina 93%). Fournier *et al.* (2013), membandingkan ukuran *culmen* dan tarsus untuk digunakan dalam membedakan *Rallus limicola* dengan tingkat akurasi formula 73,7% (akurasi jantan 71% dan betina 80%). Audet *et al.* (2014), menemukan bahwa analisis morfometri pada panjang sayap dan ekor dapat membedakan jenis kelamin Finch (*Loxigilla barbadensis*) dengan tingkat akurasi formula determinasi sebesar 97%.

Penggunaan spesimen museum untuk menyusun formula diskriminasi yang dicoba pada sampel hidup riskan untuk dilakukan karena terjadi penyusutan pada ukuran spesimen museum. Menurut Winker (1993), penyusutan pada spesimen museum terjadi sekitar 1% pada ukuran ekor dan sayap, sebaliknya pada paruh justru mengalami pembesaran 1%. Pada percobaan ini perubahan ukuran 1% diasumsikan tidak mengakibatkan bias. Penyusutan pada tarsus dapat mencapai 3% sehingga pada percobaan ini tarsus spesimen tidak diukur untuk mencegah bias yang besar karena adanya kecenderungan tumpang tindih antara kisaran ukuran jantan dan betina.

Meskipun mengalami penyusutan, Schoenjahn (2000), menggunakan spesimen museum dan dibandingkan dengan hewan hidup Alap-Alap Kelabu (*Falco hypoleucos*) menemukan indikasi perbedaan ukuran antara hewan jantan dan betina dengan rerata ukuran betina lebih besar terutama berdasarkan pengukuran panjang sayap dan ekor. Montalti *et*

al. (2012), membentuk formula analisis diskriminan dari hasil morfometri tarsus dan ukuran paruh dari spesimen museum Flamingo Chili (*Phoenicpterus chilensis*) dan dicoba pada burung hidup. Formula tersebut dapat mendeterminasi jenis kelamin dengan akurasi 85%. Montalti juga mengungkapkan bahwa metode analisis diskriminan memiliki kelemahan yakni tidak akan efektif dan akurat apabila terdapat variasi ukuran dan morfologi akibat usia, variasi ukuran akibat pengaruh zonasi geografik serta variasi akibat perbedaan pertumbuhan dan perkembangan hewan.

Metode morfometri yang dicoba pada *L. lory* tidak dapat digunakan sebagai acuan utama untuk determinasi seksual. Metode morfometri memerlukan sampel uji pendahuluan yang relatif besar untuk membentuk suatu fungsi determinasi yang minim bias. Tanpa fungsi determinasi, reliabilitas dan validitas hasil morfometri lemah untuk mendeterminasi berdasar jenis kelamin burung. Selain itu, berbagai variasi yang telah dikemukakan Montalti *et al.* (2012), mungkin saja terjadi pada *L. lory*. Penentuan jenis kelamin metode morfometri dengan jumlah sampel yang kecil sebaiknya diikuti dengan metode molekuler. Melalui metode molekuler akan didapatkan jenis kelamin berdasarkan penanda gen pada kromosom seks, sedangkan melalui metode morfometri akan didapatkan karakter pembeda ukuran morfologi antara kedua jenis kelamin.

Penentuan jenis kelamin metode molekuler menjadi salah satu solusi yang relatif praktis, non-invasif dan cepat dalam

menentukan jenis kelamin burung terutama untuk burung monomer-fik seperti Nuri Kepala Hitam di Penangkaran Burung, Pusat Penelitian Biologi LIPI. Determinasi yang lebih akurat dan cepat sehingga dapat segera dilakukan perjodohan guna mendukung program pembiakan. Penentuan jenis kelamin metode molekuler dengan pengambilan sampel dari bulu juga lebih sedikit menimbulkan stress pada objek dibandingkan dengan pengambilan sampel darah maupun morfometri pada berbagai parameter tubuh. Metode penentuan jenis kelamin ini berguna untuk tujuan studi atau kepentingan program konservasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penentuan jenis kelamin molekuler dapat diketahui jenis kelamin *L.lory* jantan sebanyak 2 ekor dan betina 4 ekor dan dilanjutkan dengan metode morfometri diperoleh hasil bahwa rerata ukuran *culmen* jantan lebih panjang dari betina akan tetapi betina memiliki rerata tubuh yang lebih panjang dari jantan. Formula diskriminasi yang terbentuk dari analisis perbandingan morfometri dapat membedakan jenis kelamin burung *L.lory* dengan tingkat akurasi 83,33% (5/6) dengan perincian akurasi determinasi jantan 100% (2/2) dan betina 75% (3/4). Tingkat akurasi formula perlu ditingkatkan dengan melakukan penambahan jumlah sampel pembentuk formula. Metode molekuler dan morfometri dapat dikombinasikan untuk meningkatkan tingkat akurasi penentuan jenis kelamin. Metode morfometri dapat dilakukan

dengan jumlah sampel besar untuk menguji kembali adanya perbedaan morfometri yang signifikan antara kedua jenis kelamin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Ir. Endang Tri Margawati, M.Agr.Sc. atas bimbingan selama penulisan dan teknisi Laboratorium Genetika, Laboratorium Ornithologi serta Fasilitas Penangkaran, Pusat Penelitian Biologi LIPI atas bantuan selama pengambilan data.

DAFTAR PUSTAKA

- Audet, J. N., Ducatez, S. & Lefebvre, L. (2014). Morphological and molecular sexing of the monochromatic Barbados Bullfinch, *Loxigilla barbadensis*. *Zoological Science*, 31, 687-691
- Bello, N., Francino, O. & Sanchez, A. (2001). Isolation of genomic dna from feathers. *J.Vet.Diagn.Invest.*, 13, 162-164
- Bourgeois, K., Cure, C., Legrand, J., Gomez-Diaz, E., Vidal, E., Aubin, T. & Mathevon, N. (2007). Morphological versus acoustic analysis: what is the most efficient method for sexing Yelkouan Shearwaters *Puffinus yelkouan*?. *J.Ornitho.*, 148, 261-269
- Cerit, H. & Avanus, K. (2007). Sex determination by CHDW and CHDZ genes of avian sex chromosomes in *Nymphicus hollandicus*. *Turk.J.Vet.Anim.Sci.*, 31, 371-374
- Dubiec, A. & Zagalska-Neubaver, M. (2006). molecular techniques for sex identification in birds. *Biological Letter*, 43, 3-12
- Forshaw, J.M. (1989). *Parrots of the world*. 3rd (revised) edition. Melbourne: Lans Downe Edition: Melbourne. pp. 78-81
- Fournier, A.M.V., Sheildcastle, MC., Fries, A.C. & Bump, J.K. (2013). A morphometric model to predict the sex of Virginia Rails (*Rallus limicola*). *Wildlife Society Bulletin*, 1-6
- Fridolfsson, A.K. & Ellegren, H. (1999). A

- simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *J. Avian Biol.*, 30, 116-121
- Grant, A. (2001). *DNA sexing of brown kiwi (Apteryx mantelli) from feather samples*. DOC Science Internal Series. Wellington: Department of Conservation.
- Griffiths, R. (2000). *Sex identification in birds*. Makalah dalam Seminar in Avian and Exotic Pet Medicine.
- Helander, B., Hailer, F. & Vila, C. (2007). Morphological and genetic sex identification of white-tailed eagle *Haliaeetus albicila* nestling. *J. Ornithol.*, 148, 435-442
- Khaerunisa, 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 Peter-nakan*, 36(2), 85-90
- Kocijan, I., Dolenc, P., Sinko, T., Nenadic, D.D., Pavokovic, G. & Dolenc, Z. (2011). Sex typing bird species with little or no sexual dimorphism: an evaluation of molecular and morphological sexing. *J. Bol. Res-Thesallon*, 15, 145-150
- Kulaszewicz, I., Jakubas, D. & Wojczulanis-Jakubas, K. (2013). Sex determination in the Savi's warbler (*Locustella luscinioides*) using morphometric traits. *Ornis Fennica*, 90, 203-210
- Liordos, V. & Goutner, V. (2008). Sex determination of great cormorants (*Phalacrocorax carbo sinensis*) using morphometric measurements. *Water-bird*, 31(2), 203-210
- IUCN (2014). *Lorius lory*. The IUCN red list of threatened species. Version 2014.3. [Online]. Diambil dari <http://www.iucnredlist.org/details/22684594/0> [26 Januari 2015].
- Montalti, D., Grana-Grilli, M., Maragliano, R.E. & Cassini, G. (2012). The reliability of morphometric discriminant functions in determining the sex of Chilean Flamingos *Phoenicopterus chilensis*. *Current Zoology*, 58(6), 851-855
- Morinha, F., Cabral, J.A. & Bastos, E. (2012) Molecular Sexing of birds: a comparative review of polymerase chain reaction (PCR)-based methods. *Ther-iogenology*, 78, 703-714
- Schoenjahn, J. (2000). Morphometric data from recent specimens and live individuals of the grey falcon *Falco hypoleucos*. *Corella*, 35(1), 16-22
- Sulandari, S. & Zein, M.S.A. (2012). Application of two molecular sexing methods for Indonesian bird species: implication for captive breeding programs in Indonesia. *Hayati. J. Biosci.*, 19(4), 183-190
- Weidinger, K., & Van Franeker, J.A. (1998). Applicability of external measurement for sexing of the cape petrel *Daption capense* at within-pair, within-population and between-population scales. *Journal of Zoology*, 245, 473-482
- Winker, K. (1993). Specimen shrinkage in tennessee warblers and "Traill's" fly-catchers. *Journal of Field Ornithology*, 64, 331-333