

**PENENTUAN JENIS KELAMIN ITIK ALABIO (*Anas platyrhynchos*
Borneo) BERDASARKAN *VENT SEXING*, MORFOMETRIK,
PEMBEDAHAN, DAN *MOLECULAR SEXING***

SKRIPSI

diajukan untuk memenuhi sebagian dari persyaratan untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Program Studi Biologi



Oleh:

Zeranita Ageng Nur Anisa

2007705

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA
BANDUNG
2024**

**PENENTUAN JENIS KELAMIN ITIK ALABIO (*Anas platyrhynchos*
Borneo) BERDASARKAN *VENT SEXING*, MORFOMETRIK,
PEMBEDAHAN, DAN *MOLECULAR SEXING***

Oleh:

Zeranita Ageng Nur Anisa
2007705

Skripsi yang diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains Program Studi Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan
Ilmu Pengetahuan Alam

© Zeranita Ageng Nur Anisa 2024
Universitas Pendidikan Indonesia
Agustus 2024

Hak Cipta dilindungi undang-undang
Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya atau sebagian dengan dicetak
ulang, fotokopi, atau cara lainnya tanpa izin dari penulis.


LEMBAR PENGESAHAN

ZERANITA AGENG NUR ANISA

**PENENTUAN JENIS KELAMIN ITIK ALABIO (*Anas platyrhynchos*
Borneo) BERDASARKAN VENT SEXING, MORFOMETRIK,
PEMBEDAHAN, DAN MOLECULAR SEXING**

Disetujui dan disahkan oleh:

Pembimbing I,



Dr. Any Aryani, M.Si.

NIP. 197105302001122001

Pembimbing II,



Dr. Hernawati, M.Si.

NIP. 197003311997022001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi FPMIPA UPI



Dr. Wahyu Surakusumah, M.T.

NIP. 197212031999031001

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Penentuan Jenis Kelamin Itik Alabio (*Anas platyrhynchos Borneo*) Berdasarkan *Vent Sexing*, Morfometrik, Pembedahan, dan *Molecular Sexing*” ini beserta seluruh isinya adalah benar-benar karya saya sendiri. Saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika ilmu yang berlaku dalam masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini, saya siap menanggung sanksi apabila di kemudian hari ditemukan adanya pelanggaran etika keilmuan atau ada klaim dari pihak lain terhadap keaslian karya saya ini.

Bandung, Agustus 2024
Yang membuat pernyataan,

Zeranita Ageng Nur Anisa
2007705

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala yang senantiasa mencurahkan anugerah, rahmat, taufik, dan hidayah serta nikmat sehat dan kasih sayang kepada hamba-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini tepat pada waktunya. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada manusia terbaik, junjungan Nabi Besar Muhammad Shallallahu 'Alaihi wa Sallam, keluarga, sahabat, dan para pengikutnya.

Skripsi yang berjudul “Penentuan Jenis Kelamin Itik Alabio (*Anas platyrhynchos Borneo*) Berdasarkan *Vent Sexing*, Morfometrik, Pembedahan, dan *Molecular Sexing*” ini penulis susun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains Program Studi Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Namun, berkat bantuan, bimbingan, dan arahan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung, skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi para pembaca.

Bandung, Agustus 2024

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada berbagai pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penyusunan dan penulisan skripsi ini, maka dengan segala hormat dan penuh kerendahan hati penulis ucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Any Aryani, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik dan dosen pembimbing I atas segala bimbingan, dukungan, waktu, nasihat, saran, dan motivasi kepada penulis selama mulai dari pelaksanaan penelitian, proses, hingga terselesaikannya skripsi ini.
2. Ibu Dr. Hernawati, M.Si. selaku dosen pembimbing II atas segala bimbingan, dukungan, waktu, nasihat, saran, dan motivasi kepada penulis selama mulai dari pelaksanaan penelitian, proses, hingga terselesaikannya skripsi ini.
3. Bapak Dr. Wahyu Surakusumah, M.T., selaku Ketua Program Studi Biologi FPMIPA UPI.
4. Ibu Dr. Hj. Diah Kusumawaty, M.Si. dan Bapak Rahadian D. Juansyah, S.Pd., selaku ketua dan penanggung jawab laboratorium riset FPMIPA UPI yang selalu membantu dan memberikan arahan selama penelitian skripsi.
5. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Prodi Biologi FPMIPA UPI yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama masa perkuliahan berlangsung hingga terselesaikannya perkuliahan.
6. Seluruh staf Prodi Biologi FPMIPA UPI yang telah membantu dalam menyelesaikan administrasi perkuliahan.
7. Kedua orang tua tercinta dan tersayang, Bapak Zunaedi dan Ibu Elih Erlinawati, Adik Zeralita Ageng Nur Anisa dan Zenira Berliana Nur Azizah yang dengan tulus dan penuh kasih sayang, tidak pernah berhenti dan bosan memberikan doa dan dukungan, yang selalu memberikan segalanya baik secara moral maupun materi kepada penulis selama menempuh pendidikan di bangku perkuliahan.
8. Seluruh keluarga besar yang telah membantu, mendukung dan mendoakan penulis selama masa perkuliahan.
9. Rekan seperjuangan dan satu dosen pembimbing, Siti Ratu Rahayu Ningrum, yang telah memberi dukungan dan semangat selama proses penulisan skripsi.

10. Rekan-rekan lab riset, Aris Muhamad Nurjamil, Datia Siti Nur Lisa, Fiqha Azkiya, Ignatius Marcelino K. P., Nur Aziema, Nurul Ilma A., Razib Ikbil A., Revani Ayu Nabila, dan William Junino S yang selalu memberikan semangat dan motivasi satu sama lain selama penelitian skripsi berlangsung.
11. Kakak Tingkat Program Studi Biologi C 2019, Hilma Durotul Fatimah, S.Si., yang telah membantu, membimbing, dan memberikan saran selama penelitian skripsi.
12. Teman-teman kelas Biologi C 2020 yang telah menjadi teman seperjuangan sekaligus keluarga selama menempuh pendidikan di bangku perkuliahan.
13. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dan memberikan motivasi sehingga terselesaikannya skripsi ini.

**Penentuan Jenis Kelamin Itik Alabio (*Anas platyrhynchos Borneo*)
Berdasarkan *Vent Sexing*, Morfometrik, Pembedahan, dan *Molecular Sexing***

ABSTRAK

Itik alabio (*Anas platyrhynchos Borneo*) merupakan salah satu sumber plasma nutfah unggas lokal yang berasal dari Kalimantan Selatan dan memiliki potensi sebagai ternak unggul. Kebutuhan itik alabio yang meningkat mendorong peternak untuk mempercepat produksi, namun kendala utama yang sering dihadapi adalah lamanya waktu dan tenaga yang dibutuhkan dalam proses pemisahan jenis kelamin itik. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas penggunaan metode *vent sexing*, morfometrik, pembedahan, dan *molecular sexing* dalam menentukan jenis kelamin itik alabio. Analisis perkembangan kloaka (*vent sexing*) dilakukan saat itik berusia tiga, empat, dan 23 minggu, sedangkan analisis morfometrik dan pembedahan masing-masing dilakukan satu kali saat itik berusia 20 minggu dan 23 minggu. Metode *molecular sexing* dilakukan dengan mengamplifikasi DNA menggunakan *sexing primer* P2/P8 dan InSex-(F)/InSex-(R), kemudian hasilnya dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarose. Hasil analisis perkembangan kloaka (*vent sexing*), morfometrik, dan pembedahan dapat membedakan itik jantan dan betina. Analisis *vent sexing* menunjukkan bahwa itik alabio jantan memiliki kloaka yang lebih menonjol dan runcing, sedangkan betina memiliki kloaka yang lebih datar/rata dan lebar. Analisis morfometrik menunjukkan bahwa itik jantan memiliki ukuran tubuh yang lebih besar dibandingkan itik betina. Analisis secara anatomi menunjukkan bahwa organ reproduksi itik jantan terdapat dua buah testis dan betina terdapat ovarium. Analisis *molecular sexing* menggunakan primer P2/P8 tidak mampu membedakan jenis kelamin itik alabio jantan dan betina, sementara primer InSex-(F)/InSex-(R) berhasil membedakan jenis kelamin itik alabio jantan dan betina. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa teknik non-molekuler (*vent sexing*) dan teknik molekuler dengan menggunakan *sexing primer* InSex-(F)/InSex-(R) lebih efektif dalam penentuan jenis kelamin itik alabio.

Kata kunci: Itik alabio (*Anas platyrhynchos Borneo*), penentuan jenis kelamin, *vent sexing*, morfometrik, pembedahan, dan *sexing primer*

Determining the Sex of Alabio Ducks (*Anas platyrhynchos* Borneo) Based on Vent Sexing, Morphometrics, Surgery, and Molecular Sexing

ABSTRACT

*The alabio duck (*Anas platyrhynchos* Borneo) is a local poultry germplasm from South Kalimantan that has the potential to serve as superior breeding stock. The increasing demand for alabio ducks has encouraged farmers to accelerate production, but the main challenge is the time and labor required to perform duck sexing. This study aimed to evaluate the effectiveness of vent sexing, morphometric, surgical, and molecular sexing methods in determining the sex of alabio ducks. Vent sexing was performed at 3, 4, and 23 weeks of age, while morphometric analysis and surgery were performed at 20 and 23 weeks of age, respectively. Molecular sexing was performed by amplifying DNA using primers P2/P8 and InSex-(F)/InSex-(R), then analyzed by agarose gel electrophoresis. The results showed that vent sexing, morphometric and surgical methods can distinguish male and female ducks. Vent sexing analysis showed that male ducks have a more prominent and pointed cloaca, while female ducks have a flatter and wider cloaca. Morphometric analysis showed that males have a larger body size, and anatomical analysis confirmed the presence of two testes in males and ovaries in females. The P2/P8 primers did not successfully differentiate between male and female sexes, while the InSex-(F)/InSex-(R) primers successfully differentiated between male and female ducks. This study concludes that vent sexing and molecular sexing techniques using InSex-(F)/InSex-(R) primers are effective methods for determining the sex of alabio ducks.*

Keywords: *Alabio duck (*Anas platyrhynchos* Borneo), sex determination, vent sexing, morphometrics, dissection, and sexing primers*

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Pertanyaan Penelitian	5
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Batasan Penelitian	5
1.6 Manfaat Penelitian	6
1.7 Struktur Organisasi Skripsi	6
BAB II PENGGUNAAN METODE <i>VENT SEXING</i>, MORFOMETRIK, PEMBEDAHAN, DAN <i>MOLECULAR SEXING</i> DALAM PENENTUAN JENIS KELAMIN ITIK ALABIO (<i>Anas platyrhynchos Borneo</i>)	8
2.1 Itik Alabio (<i>Anas platyrhynchos Borneo</i>)	8
2.2 Penentuan Jenis Kelamin pada Unggas	10
2.3 Sistem Reproduksi pada Unggas	14
2.4 Sumber DNA Total.....	20
2.5 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	22
2.6 Gen <i>Chromodomain Helicase DNA-binding (CHD)</i> dan <i>Sexing Primer</i>	24
2.7 Elektroforesis	26
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	29
3.1 Jenis Penelitian.....	29
3.2 Populasi dan Sampel Penelitian	29
3.3 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	29

3.4	Prosedur Penelitian	30
3.4.1	Secara Non-molekuler.....	30
a.	Analisis Perkembangan Kloaka (<i>Vent Sexing</i>) Jantan dan Betina	30
b.	Analisis Morfometrik.....	30
c.	Analisis Secara Anatomi pada Organ Reproduksi (Pembedahan).....	31
d.	Analisis Data.....	31
3.4.2	Secara Molekuler.....	31
a.	Persiapan Alat dan Bahan	31
b.	Persiapan Sampel.....	31
c.	Isolasi DNA	32
d.	Elektroforesis Sampel Hasil Isolasi DNA/Uji Kualitatif DNA	33
e.	Uji Kuantitatif DNA	34
f.	Amplifikasi DNA dengan <i>Sexing Primer</i>	34
g.	Elektroforesis Sampel DNA Hasil PCR.....	36
h.	Analisis Data (Analisis Pita/Larik DNA yang Muncul)	37
3.5	Alur Penelitian	38
BAB IV TEMUAN DAN PEMBAHASAN		39
4.1	Hasil Analisis Perkembangan Kloaka (<i>Vent Sexing</i>) Itik Alabio Jantan dan Betina	39
4.2	Hasil Analisis Morfometrik.....	44
4.3	Hasil Pengamatan Secara Anatomi Organ Reproduksi Itik Alabio (<i>Anas platyrhynchos Borneo</i>).....	46
4.4	Hasil Isolasi DNA/Uji Kualitatif DNA Itik Alabio (<i>Anas platyrhynchos Borneo</i>)	48
4.5	Hasil Uji Kuantitatif DNA Itik Alabio (<i>Anas platyrhynchos Borneo</i>).....	49
4.6	Hasil Amplifikasi DNA Menggunakan <i>Sexing Primer P2</i> dan <i>P8</i>	52
4.7	Hasil Amplifikasi DNA Menggunakan <i>Sexing Primer InSex-(F)</i> dan <i>InSex-(R)</i>	55
BAB V SIMPULAN, IMPLIKASI, DAN REKOMENDASI		59
5.1	Simpulan	59
5.2	Implikasi	59
5.3	Rekomendasi.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....		61
LAMPIRAN.....		73

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Itik Alabio	8
Gambar 2.2. Tubuh Itik Alabio yang Membentuk Sudut 60 Derajat.....	9
Gambar 2.3. Organ Reproduksi Unggas Betina	15
Gambar 2.4. Organ Reproduksi Unggas Jantan.....	19
Gambar 2.5. Bagian <i>Calamus</i> pada Aves.....	21
Gambar 2.6. Proses <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	24
Gambar 2.7. Gen CHD yang Berada pada Kromosom W dan Z Unggas.....	25
Gambar 2.8. Sistem Elektroforesis	27
Gambar 2.9. Perbandingan Migrasi Fragmen DNA	28
Gambar 3.1. Pengukuran Morfometrik pada Itik	30
Gambar 3.2. Program PCR Menggunakan <i>Sexing Primer</i> P2/P8.....	35
Gambar 3.3. Program PCR Menggunakan <i>Sexing Primer</i> InSex-(F)/InSex-(R)	36
Gambar 3.4. Alur Penelitian Skripsi	38
Gambar 4.1. Kloaka Itik Alabio Jantan dan Betina Saat Berusia Tiga Minggu	40
Gambar 4.2. Kloaka Itik Alabio Jantan dan Betina Saat Berusia Empat Minggu	41
Gambar 4.3. Ilustrasi Perkembangan Kloaka pada Itik	42
Gambar 4.4. Kloaka Itik Alabio Jantan dan Betina Saat Berusia 23 Minggu	43
Gambar 4.5. Hasil Pembedahan Secara Anatomi Organ Reproduksi Itik Alabio Jantan dan Betina.....	47
Gambar 4.6. Elektroforesis Hasil Isolasi DNA Itik Alabio dan Stok DNA Ayam Cemani Koleksi Aryani (2016).....	48
Gambar 4.7. Elektroforesis Hasil Pengenceran Sampel DNA Itik Alabio dan Stok DNA Ayam Cemani Koleksi Aryani (2016).....	51
Gambar 4.8. Elektroforesis Hasil Amplifikasi DNA Itik Alabio dan DNA Ayam Cemani Koleksi Aryani (2016) Menggunakan Primer P2/P8	53
Gambar 4.9. Elektroforesis Hasil Amplifikasi DNA Itik Alabio dan DNA Ayam Cemani Koleksi Aryani (2016) Menggunakan Primer InSex-(F)/ InSex-(R)	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan yang Digunakan dalam Penelitian.....	73
Lampiran 2. Pembuatan Larutan dan Bahan	75
Lampiran 3. Dokumentasi Morfometrik Itik Alabio Jantan dan Betina.....	76
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian	78
Lampiran 5. Surat Pembebasan Etik	81

DAFTAR PUSTAKA

- Archawaranon, M. (2004). Rapid Sexing Hill Mynah *Gracula religiosa* by Sex Chromosomes. *Biotechnology*, 3(2), 160-164. <https://doi.org/10.3923/biotech.2004.160.164>
- Ahiagbe, K. M. J., Kayang, B. B., Naazie, A., Botchway, P. K., & Agbolosu, A. A. (2018). Comparison of vent sexing and polymerase chain reaction for reliable sex determination in guinea fowls. *Ghana Journal of Agricultural Science*, 52(1), 17–23.
- Apperson, K. D., Bird, K. E., Cherian, G., & Löhr, C. V. (2017). Histology of the ovary of the laying hen (*Gallus domesticus*). *Veterinary Sciences*, 4(4), 9–12. <https://doi.org/10.3390/vetsci4040066>
- Aryani, A., Solihin, D. D., Sumantri, C., Afnan, R., & Sartika, T. (2019). Genetic diversity of the structure of HSP70 Gene in Kampung Unggul Balitbangtan (KUB), Walik, and Kate Walik Chickens. *Tropical Animal Science Journal*, 42(3), 180–188. <https://doi.org/10.5398/taej.2019.42.3.180>
- Asif, S., Khan, M., Waqar Arshad, M., & Shabbir, M. I. (2021). PCR Optimization for Beginners: A Step by Step Guide. *Research in Molecular Medicine*, 9(2), 81–102. <https://doi.org/10.32598/rmm.9.2.1189.1>
- Baehaqi, I., Saraswati, T. R., Yusuf, E., Yuniwanti, W., & Article, H. (2018). Sex Determination in Male and Female *Melopsittacus undulates* using a Morphometric Method. *Biosaintifika*, 10(3), 533–538.
- Bazzano, G., Lèche, A., Martella, M. B., & Navarro, J. L. (2012). Efficiency of the cloacal sexing technique in greater rhea chicks (*Rhea americana*). *British Poultry Science*, 53(3), 394–396. <https://doi.org/10.1080/00071668.2012.692470>
- Bernardi, O., Estienne, A., Reverchon, M., Bigot, Y., Froment, P., & Dupont, J. (2021). Adipokines in metabolic and reproductive functions in birds: An overview of current knowns and unknowns. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 534, 111370. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2021.111370>

- Bhadauria, P., & Bhanja, S. K. (2017). Practicing behavioural observations for assessment of welfare in poultry. *Stress and Welfare: Concept and Strategies For Addressing Current Challenges in Poultry Production, February*, 297–310. <http://krishi.icar.gov.in/jspui/handle/123456789/25671>
- Bowles, H. L. (2009). *Clinical Avian Medicine: Evaluating and Treating the Reproductive System*. Florida: Spix Publishing, Inc.
- Brahmantiyo, B., Prasetyo, L. H., Setioko, A. R., & Mulyono, R. H. (2003). Pendugaan Jarak Genetik dan Faktor Peubah Pembeda Galur Itik (Alabio, Bali, Khaki Campbell, Mojosari, dan Pegagan) melalui Analisis Morfometrik. *Indonesian Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 8(1), 1–7. <https://doi.org/10.14334>
- Brennan, P. L. R., Clark, C. J., & Prum, R. O. (2010). Explosive eversion and functional morphology of the duck penis supports sexual conflict in waterfowl genitalia. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1686), 1309–1314. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.2139>
- Briskie, J. V. (2019). Gamete Sharing by “Cloacal Kissing.” In *Encyclopedia of Animal Behavior, Second Edition: Volume 1-5*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.90126-2>
- Broadus, L. J., Lee, B., & Makagon, M. M. (2022). The Impacts of Female Access during Rearing on the Reproductive Behavior and Physiology of Pekin Drakes, and Flock Fertility. *Animals*, 12(21), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ani12212979>
- 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. <https://doi.org/10.1177/1040638716675197>
- Cambrone, C., Motreuil, S., Reyes, F. O., Landestoy, M. A., Cézilly, F., & Bezault, E. (2022). Obtaining DNA Samples from Sensitive and Endangered Bird Species: A Comparison of Saliva and Blood Samples. *Ardeola*, 69(2), 263–278. <https://doi.org/10.13157/arla.69.2.2022.sc1>
- Carney, S. M. (1992). Species, age and sex identification of ducks using wing plumage. *U.S. Department of the Interior, U.S. Fish and Wildlife Service*, 1–107. <http://www.npwrc.usgs.gov/resource/tools/duckplum/duckplum.htm>

- Cerit, H., & Avanus, K. (2007). Sex identification in avian species using DNA typing methods. *World's Poultry Science Journal*, 63(1), 91–99. <https://doi.org/10.1079/WPS2006131>
- Chang, H. W., Chou, T. C., Gu, D. L., Cheng, C. A., Chang, C. C., Yao, C. Te, Chuang, L. Y., Wen, C. H., Chou, Y. C., Tan, K. Y., & Cheng, C. C. (2008). An improved PCR method for gender identification of eagles. *Molecular and Cellular Probes*. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2007.12.004>
- Cherry, P. & Morris, T. R. (2008). *Domestic Duck Production: Science and Practice*. London: Cabi.
- Chiara, V., Velando, A., & Kim, S. Y. (2022). Relationships between male secondary sexual traits, physiological state and offspring viability in the three-spined stickleback. *BMC Ecology and Evolution*, 22(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12862-021-01958-8>
- Cordeiro, C. D., Goncer, N., Dorus, S., Crill, J. E., Moshayoff, V., Lachman, A., Moran, A., Vilenchik, D., & Fedida-Metula, S. (2023). Fast, accurate, and cost-effective poultry sex genotyping using real-time polymerase chain reaction. *Frontiers in Veterinary Science*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1196755>
- Dawson, D. A., dos Remedios, N., & Horsburgh, G. J. (2016). A new marker based on the avian spindlin gene that is able to sex most birds, including species problematic to sex with CHD markers. *Zoo Biology*, 35(6), 533–545. <https://doi.org/10.1002/zoo.21326>
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. (2015). *Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Tentang Pelepasan Galur Itik Alabimaster-1 Agrinak*. [Online]. Diakses dari <https://ditjenpkh.pertanian.go.id/uploads/download/ea8bb0fe5eb0f36688b5f27b325d16af.pdf>
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. (2023). *Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2023*. Jakarta: Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian RI.
- Dubiec, A., & Zagalska-Neubauer, M. (2006). Molecular techniques for sex identification in birds. *Biological Lett*, 43(1), 3–12. http://www.biollett.amu.edu.pl/biollett_43_1_1.pdf

- Ellegren, H. (2001). Hens, cocks and avian sex determination. *EMBO Reports*, 2(3), 192–196. <https://doi.org/10.1093/embo-reports/kve050>
- Faith, E. A., Yakubu, A., Agade, Y. I., Abimiku, H. K., & Mohammed, J. (2018). *Sexual Dimorphisms on Body Weight , Morphometric and Haematological Parameters of Indigenous Chicken Reared in Lafia*. 3(4), 36–41.
- Fatchiyah. (2005). Dasar Teknik Amplifikasi DNA. [Online]. Diakses dari <http://fatchiyah.lecture.ub.ac.id/teaching-responsibility/general/bbbb/>
- Fitriyanti, S., & Pradana, H. (2021). Strategi Pemasaran Itik Alabio sebagai Produk Unggulan Daerah Kalimantan Selatan. *Jurnal Kebijaksanaan Pembangunan*, 16(2), 165–179. <https://doi.org/10.47441/jkp.v16i2.193>
- Fournier, A. M. V., Sheildcastle, M. C., Fries, A. C., & Bump, J. K. (2013). A morphometric model to predict the sex of virginia rails (*Rallus limicola*). *Wildlife Society Bulletin*, 37(4), 881–886. <https://doi.org/10.1002/wsb.323>
- Fridolfsson, A. K., Cheng, H., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Liu, H. C., Raudsepp, T., Woodage, T., Chowdhary, B., Halverson, J., & Ellegren, H. (1998). Evolution of the avian sex chromosomes from an ancestral pair of autosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(14), 8147–8152. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.14.8147>
- Fridolfsson, A. K., & Ellegren, H. (2000). Molecular evolution of the avian chd1 genes on the Z and W sex chromosomes. *Genetics*, 155(4), 1903–1912. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.4.1903>
- Fridolfsson, A. K., & Ellegren, H. (1999). A simple und universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal of Avian Biology*, 30(1), 116–121.
- Grant, A. (2001). DNA sexing of brown kiwi (*Apteryx mantelli*) from feather samples. *DOC Science Internal Series: 13*, 15. <http://ezproxy.massey.ac.nz/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat00245a&AN=massey.b1758178&site=eds-live&scope=site%5Cnhttp://www.doc.govt.nz/upload/documents/science-and-technical/DSIS13.pdf%5Cnhttp://kea.massey.ac.nz/search>

- Griffiths, R. & Phil, D. (2000). Sex identification in birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 9(1), 14–26. [https://doi.org/10.1016/s1055-937x\(00\)80012-2](https://doi.org/10.1016/s1055-937x(00)80012-2)
- Griffiths, R., Double, M. C., Orr, K., & Dawson, R. J. G. (1998). A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*, 7, 1071-1075. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00389.x>
- Griffiths, R., & Tiwari, B. (1995). Sex of the last wild Spix's macaw. *Nature*, 375(6531), 454. <https://doi.org/10.1038/375454a0>
- Gupta, N. (2019). DNA extraction and polymerase chain reaction. *Journal of Cytology*, 36(2), 116-117. https://doi.org/10.4103/JOC.JOC_110_18
- Hardani, Andriani, H., Ustiawaty, J., Utami, E. F., Istiqomah, R. R., Fardani, R. A., Sukmana, D. J., & Auliya, N. H. (2020). *Metode Penelitian: Kualitatif & Kuantitatif*. Yogyakarta: CV. Pustaka Ilmu Group.
- Herliani, Sumantri, I., Sulaiman, A., Mulyawan, R., & Irfa, K. (2021). Edukasi Terhadap Kelompok Peternak Itik di Desa Murung Asam, Kabupaten Hulu Sungai Utara untuk Melestarikan Itik Alabio Education for the Duck Farmer Group in Murung Asam Village, Hulu Sungai Utara Regency to Conserve Alabio Duck Breed. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 5(4), 612–618. <http://journal.unhas.ac.id/index.php/panritaabdi>
- Herrera, A. M., Brennan, P. L. R., & Cohn, M. J. (2015). Development of avian external genitalia: Interspecific differences and sexual differentiation of the male and female phallus. *Sexual Development*, 9(1), 43–52. <https://doi.org/10.1159/000364927>
- Hirschauer, M. T., Zimunya, T., Wolter, K., & Monadjem, A. (2018). Sexing Cape Vulture *Gyps coprotheres* based on head morphometrics. *Ostrich*, 89(2), 187–190. <https://doi.org/10.2989/00306525.2017.1415990>
- Ismoyowati. (2017). Keragaman Genetik dan Konservasi Unggas Lokal. *Prosiding Seminar Teknologi Dan Agribisnis Peternakan V: Teknologi Dan Agribisnis Peternakan Untuk Mendukung Ketahanan Pangan*.
- Jacob, J., & Pescatore, T. (2013a). *Avian Male Reproductive System*. Kentucky: College of Food, Agricultural, and Environmental Sciences, Ohio State University.

- Jacob, J., & Pescatore, T. (2013). *Avian Female Reproductive System*. Kentucky: College of Food, Agricultural, and Environmental Sciences, Ohio State University.
- Jacob, J. (2017). *Basic Information About Chickens: Select Articles from Extention*. Kentucky: College of Food, Agricultural, and Environmental Sciences, Ohio State University.
- Johari, S., Kusumadani, N. D., & Kurnianto, E. (2013). Multivariate analysis of the morphological traits of female duck, muscovy-duck and mule-duck. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 38(3), 143-148. <https://doi.org/10.14710/jitaa.38.3.143-148>
- Kahn, N. W., St. John, J., & Quinn, T. W. (1998). Chromosome-specific intron size differences in the avian CHD gene provide an efficient method for sex identification in birds. *Auk*, 115(4), 1074-1078. <https://doi.org/10.2307/4089527>
- 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. <https://doi.org/10.5398/medpet.2013.36.2.85>
- Klug, W. S. & Cummings, M. R. (1994). *Concept of Genetics*. 4th Edition. Prentice Hall: Englewood Cliffs.
- Koressaar, T., & Remm, M. (2007). Enhancements and modifications of primer design program Primer3. *Bioinformatics*, 23(10), 1289–1291. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm091>
- Lai, F. Y., Chang, K. C., Chang, C. S., & Wang, P. H. (2022). Development of a Rapid Sex Identification Method for Newborn Pigeons Using Recombinase Polymerase Amplification and a Lateral-Flow Dipstick on Farm. *Animals*, 12(21), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ani12212969>
- Liang, S. J., Chen, M. X., Gao, C. Q., Yan, H. C., Zhang, G. L., & Wang, X. Q. (2019). Sex identification of pigeons using polymerase chain reaction analysis with simple DNA extraction. *Avian Biology Research*, 12(2), 45–48. <https://doi.org/10.1177/1758155919832141>

- Liu, W. Y., Zhao, C. J., & Li, J. Y. (2010). A non-invasive and inexpensive PCR-based procedure for rapid sex diagnosis of Chinese gamecock chicks and embryos. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(5), 962-970. <https://doi.org/10.3923/javaa.2010.962.970>
- Livezey, B. C. (1993). Comparative Morphometrics of Anas Ducks, with Particular Reference to the Hawaiian Duck *Anas wyvilliana*, Laysan Duck *A. laysanensis*, and Eaton's Pintail *A. eatoni*. *Wildfowl Journal*, 44, 75-100.
- Livolsi, M. C., Williams, C. K., Coluccy, J. M., & Dibona, M. T. (2015). Morphometrics of mid-atlantic dabbling ducks for use in thermoregulation models. *Condor*, 117(4), 644-649. <https://doi.org/10.1650/CONDOR-15-63.1>
- Lucena-Aguilar, G., Sánchez-López, A. M., Barberán-Aceituno, C., Carrillo-Ávila, J. A., López-Guerrero, J. A., & Aguilar-Quesada, R. (2016). DNA Source Selection for Downstream Applications Based on DNA Quality Indicators Analysis. *Biopreservation and Biobanking*, 14(4), 264-270. <https://doi.org/10.1089/bio.2015.0064>
- Malagó, W., Franco, H. M., Matheucci, E., Medaglia, A., & Henrique-Silva, F. (2002). Large scale sex typing of ostriches using DNA extracted from feathers. *BMC Biotechnology*, 2(19), 1-4. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-2-19>
- Marrero, P., Fregel, R., Cabrera, V. M., & Nogales, M. (2009). Extraction of high-quality host DNA from feces and regurgitated seeds: A useful tool for vertebrate ecological studies. *Biological Research*, 42(2), 147-151. <https://doi.org/10.4067/S0716-97602009000200002>
- Mccracken, K. G. (2000). The 20-cm spiny penis of the Argentine Lake Duck (*Oxyura vittata*). *Auk*, 117(3), 820-825. <https://doi.org/10.2307/4089612>
- Morinha, F., Cabral, J. A., & Bastos, E. (2012). Molecular sexing of birds: A comparative review of polymerase chain reaction (PCR)-based methods. *Theriogenology*, 78(4), 703-714. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.04.015>
- Mubarak, S. M. H., Al-Koofee, D. A. F., Radhi, O. A., Ismael, J. M., & Al-Zubaidi, Z. F. (2020). An optimization and common troubleshooting solving in polymerase chain reaction technique. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(2), 427-436. <https://doi.org/10.5530/srp.2020.2.63>

- Muthmainnah, A., & Jalali, K. (2022). Produktivitas Budidaya Antara Bebek Peking (*Anas platyrhynchos*) dengan Bebek Hibrida (*Anas platyrhynchos domesticus*). *Panthera : Jurnal Ilmiah Pendidikan Sains Dan Terapan*, 2(4), 255–268. <https://doi.org/10.36312/pjipst.v2i4.127>
- Nalbandov, A. V. (1990). *Reproductive Physiology of Mammals and Birds*. New York: W. H. Freeman and Company.
- Nazir. (1988). *Metode Penelitian*. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Nesheim, M. C., Austic, R. E., & Card, L. E. (1979). *Poultry Production*. Philadelphia: Lea & Febriger.
- North, M. O. (1979). *Commercial Chicken Production Manual*. Third Edition, England: AVI Publishing Company Inc.
- Nuryanto, A. B. (2019). *Karakteristik Spektrum Suara Itik Jantan dan Betina Menggunakan Analisis (Fast Fourier Transform)*. (Skripsi). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.
- O'Dwyer, T. W., Priddel, D., Carlile, N., Bartle, J. A., & Buttemer, W. A. (2006). An evaluation of three field techniques for sexing Gould's Petrels (*Pterodroma leucoptera*) (Procellariidae). *Emu*, 106(3), 245-252. <https://doi.org/10.1071/MU05058>
- Oktaviani, I., Ariyanti, Y., Leksikowati, S. S., & Asril, M. (2021). Keanekaragaman Jenis Burung di Kawasan Pengembangan Institut Teknologi Sumatera (ITERA). *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 14(1), 1–9. <https://doi.org/10.15408/kaunyah.v14i1.12323>
- Pambuko, G., Vanessa, R., & Prastowo, S. (2023). Amplification of CHD-1 gene fragment in Z and W sex chromosomes of Cemani chicken using a different set of PCR primers. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1208(1), 1-6. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1208/1/012058>
- Parkhurst, C. R. & Mountney, G. J. (1988). *Poultry Meat and Egg Production*. New York: Springer Link.
- Petrie, M., Schwabl, H., Brande-Lavridsen, N., & Burke, T. (2001). Sex differences in avian yolk hormone levels. *Nature*, 412(6846), 498-499. <https://doi.org/10.1038/35087652>

- Purwaningrum, M., Nugroho, H. A., Asvan, M., Karyanti, K., Alviyanto, B., Kusuma, R., & Haryanto, A. (2019). Molecular techniques for sex identification of captive birds. *Veterinary World*, *12*(9), 1506–1513. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1506-1513>
- Quintana, F., López, G. C., & Somoza, G. (2008). A cheap and quick method for DNA-based sexing of birds. *Waterbirds: The International Journal of Waterbird Biology*, *31*(3), 485-488. <https://doi.org/10.1675/1524-4695-31.3.485>
- Rahmatullah, S. N., & Sulaiman, A. (2009). *Identification of Alabio Ducks (Anas Platyrhynchos Borneo) Beak and Shanks Colour in Two Farming Center in South Kalimantan*. 289–296.
- Reddy, P. R., & Raju, N. (2000). *Gel-Electrophoresis and Its Applications*. InTech Open. <https://doi.org/10.5772/38479>
- Rey, R. A. (2021). The Role of Androgen Signaling in Male Sexual Development at Puberty. *Endocrinology (United States)*, *162*(2), 1–16. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa215>
- Richner, H. (1989). Avian Laparoscopy As a Field Technique for Sexing Birds and an Assessment of its Effects on Wild Birds. *Journal of Field Ornithology*, *60*(2), 137-142.
- Riyanti, Nova, K., & Sirat, M. P. P. (2020). *Produksi Aneka Ternak Unggas*. Lampung: Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
- Rositawati, I. Saifut, N., & Muharlién. (2010). Upaya Peningkatan Performan Itik Mojosari Periode Starter Melalui Penambahan Temulawak (*Curcuma xanthoriza*, Roxb) Pada Pakan. *Jurnal Ternak Tropika*, *11*(2), 32-40.
- Rotmistrovsky, K., Jang, W., & Schuler, G. D. (2004). A web server for performing electronic PCR. *Nucleic Acids Research*, *32*(WEB SERVER ISS.), 108–112. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh450>
- Safitri, E., Srianto, P., & Hernawati, T. (2020). *Peningkatan Reproduksi Unggas: Melalui Keilmuan Pembibitan & Pemuliabiakan*. Surabaya: Airlangga University Press.

- Saitoh, Y., Saitoh, H., Ohtomo, H., & Mizuno, S. (1991). Occupancy of the majority of DNA in the chicken W chromosome by bent-repetitive sequences. *Chromosoma*, 101(1), 32-40. <https://doi.org/10.1007/BF00360684>
- Sakas, P. S. (2012). *Sex Determination in Birds*. Niles Animal Hospital and Bird Medical Center, Milwaukee Ave. Niles, 60714: 1-2.
- Setiati, N., Partaya, & Hidayah, N. (2020). The use of two pairs primer for CO1 gene amplification on traded stingray at fish auction Tasik Agung Rembang. *Journal of Physics: Conference Series*, 1567(3). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1567/3/032056>
- Shizuka, D., & Lyon, B. E. (2008). Improving the reliability of molecular sexing of birds using a W-specific marker. *Molecular Ecology Resources*, 8(6), 1249-1253. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2008.02342.x>
- Silalahi, D., Wirawan, I. G. P., & Sasadara, M. M. V. (2021). Optimization of annealing temperature for amplification of EhoscnOla locus in pranajiwā (Euchresta horsfieldii) plant collected from mountains, urban and coastal areas in Bali. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 913(1), 1-7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/913/1/012059>
- Silva, S. T. D. De, Pagthinathan, M., Bandara, S., & Pathirana, I. N. (2023). Sex identification methods of birds: a review. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 9(4), 134-144. <https://doi.org/10.3329/ajmbr.v9i4.69414>
- Staley, A. M., Blanco, J. M., Dufty, A. M., Wildt, D. E., & Monfort, S. L. (2007). Fecal steroid monitoring for assessing gonadal and adrenal activity in the golden eagle and peregrine falcon. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 177(6), 609-622. <https://doi.org/10.1007/s00360-007-0159-2>
- Stavy, M., Gilbert, D., & Martin, R. D. (1979). Routine determination of sex in monomorphic bird species using faecal steroid analysis. *International Zoo Yearbook*, 19(1) 209-214. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.1979.tb00566.x>
- Suharno, B. & Amri, K. (2010). *Panduan Beternak Itik Secara Intensif*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Sulaiman, A., & Rahmatullah, S. N. (2011). Karakteristik Eksterior, Produksi dan Kualitas Telur Itik Alabio (*Anas platyrhynchos Borneo*). *Bioscientiae*, 8(2008), 46–61.
- Sun, F., Huang, X., & Yang, S. (2017). Sex identification and the sex-related genes of *Nipponia nippon*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 13(2), 81-84. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2017.81.84>
- Suryana, N., Noor, R. R., Hardjosworo, P. S., & Prasetyo, L. H. (2011). Karakteristik Fenotipe Itik Alabio (*Anas platyrhynchos Borneo*) di Kalimantan Selatan. *Buletin Plasma Nutfah*, 17(1), 61. <https://doi.org/10.21082/blpn.v17n1.2011.p61-67>
- Tan, S. C., & Yiap, B. C. (2009). DNA, RNA, and protein extraction: The past and the present. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2009, 574398. <https://doi.org/10.1155/2009/574398>
- Utaminingsih, S., & Sophian, A. (2022). Analysis of Purity and Concentration of DNA Isolation Results on Chondroitin Samples. *BiosciED: Journal of Biological Science and Education*, 3(2), 56–61. <https://doi.org/10.37304/bed.v3i2.5425>
- Vera, F., Wajjwalku, W., Yuda, P., & Daryono, B. S. (2021). Short Communication: A new primer set in CHD1 gene for bird sex identification. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(11), 4977-4982. <https://doi.org/10.13057/BIODIV/D221133>
- Von Engelhardt, N., & Groothuis, T. G. G. (2005). Measuring steroid hormones in avian eggs. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1046, 181–192. <https://doi.org/10.1196/annals.1343.015>
- Vucicevic, M., Stevanov-Pavlovic, M., Stevanovic, J., Bosnjak, J., Gajic, B., Aleksic, N., & Stanimirovic, Z. (2013). Sex Determination in 58 Bird Species and Evaluation of CHD Gene as a Universal Molecular Marker in Bird Sexing. *Zoo Biology*, 32(3), 269–276. <https://doi.org/10.1002/zoo.21010>
- Watson, J. D., Baker, T. A., Bell, S. P., Gann, A., Levine, M., & Losick, R. (2014). *Molecular Biology of the Gene*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Yilmaz-Dikmen, B., & Dikmen, S. (2013). A morphometric method of sexing white layer Eggs. *Revista Brasileira de Ciencia Avicola / Brazilian Journal of Poultry Science*, 15(3), 203–210. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2013000300006>

Yuwanta, T. (2004). *Dasar Ternak Unggas*. Yogyakarta: Kanisius.