

Diversitas Genetik Populasi Monyet Ekor Panjang di Mekori Menggunakan Marka Molekul Mikrosatelit D3S1768

Evi kumala dewi¹, I gede soma², I nengah wandia¹

¹Lab Anatomi Hewan, ²Lab Fisiologi Hewan,
³Lab molekuler Pusat Penelitian Satwa Primata LPPM UNUD
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.
Jl. P.B. Sudirman Denpasar bali tlp. 0361-22379
Email : evikumaladewi@gmail.com

ABSTRAK

Diversitas genetik memainkan peran yang sangat penting dalam proses adaptasi suatu spesies. Diversitas genetik yang tinggi pada suatu populasi akan membuat potensial evolusi yang baik terhadap faktor-faktor yang bersifat stokastik. Seperti perubahan alam, *inbreeding* dan penyakit. Diversitas genetik populasi dapat diungkapkan pada tingkat DNA menggunakan marka molekul mikrosatelit yang merupakan segmen langsung dari genom (DNA). Pada penelitian ini, lokus mikrosatelit D3S1768 digunakan untuk mengkaji variabilitas genetik populasi monyet ekor panjang di Mekori meliputi jumlah dan jenis alel, frekuensi alel, serta heterosigositas. Sejumlah 14 sampel darah dikoleksi dari populasi monyet ekor panjang di Mekori sebagai sumber DNA. DNA total diekstraksi menggunakan QIAamp DNA Blood Mini Kit dari Qiagen. Lokus mikrosatelit D3S1768 di amplifikasi dengan tehnik *polymerase chain reaction* (PCR), sebanyak 30 siklus dengan suhu *annealing* 54° C. Selanjutnya, Alel dipisahkan dengan elektroforesis pada gel poliakrilamid 7% dan dimunculkan dengan pewarnaan perak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ditemukan dua jenis alel pada lokus D3S1768 dalam populasi monyet ekor panjang di Mekori dengan panjang basa 188 dan 196. Frekuensi alel 188 sangat tinggi (0,96) sedangkan alel 196 rendah (0,04).

Heterosigositas populasi monyet ekor panjang di Mekori menggunakan lokus D3S1768 sebesar ($h= 0,08$). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa lokus D3S1768 pada populasi monyet ekor panjang di Mekori bersifat monomorfik, dikarenakan nilai frekuensi paling umum lebih dari 0,95 (0,96) dan nilai heterosigositasnya rendah.

Kata Kunci : Diversitas Genetik, Monyet Ekor Panjang, Mikrosatelit D3S1768.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara pengekspor monyet ekor panjang terbesar di dunia (Djuwantoko, 2000). Di dunia ada sekitar 195 jenis primata, dari jumlah itu 40 jenis dimiliki Indonesia, 21 diantaranya adalah endemik, hanya ada di Indonesia. Keadaan geografis Indonesia yang berupa pulau-pulau, mengakibatkan terbentuknya jenis yang endemik (Supriatna dan Wahyono, 2000). Manfaat sumber daya biologi ini, diantaranya adalah untuk penelitian bidang farmasi dan kedokteran (Supriatna, 2000). Selain itu satwa primata ini juga bisa memberikan manfaat dalam gatra kepariwisataan (Newsome *et al.* 2005). Salah satu primata endemik dikawasan pariwisata Bali adalah monyet ekor panjang yang berada dalam beberapa populasi lokal yang saling terpisah dan diduga berasal dari Jawa.

Pada kawasan wisata Pura Luhur Mekori yang berada di kabupaten Tabanan Bali terdapat lebih kurang 55 ekor monyet ekor panjang yang terbagi dalam 2 kelompok. Tipe habitatnya adalah hutan sekunder (Loudon *et al.* 2006). Hutan ini dikelilingi oleh lahan atau ladang penduduk yang menyebabkan populasi monyet ekor panjang ini terisolasi dari yang lainnya. Populasi demikian cukup rentan terhadap kehanyutan genetik akibat tidak adanya *gene flow* dan tekanan silang dalam.

Diversitas genetik populasi dapat diungkapkan pada tingkat DNA. Pengungkapan pada tingkat DNA akan memberikan informasi yang lebih pasti karena DNA merupakan materi genetik yang diwariskan ke generasi berikutnya. Materi genetik yang berupa untaian ganda DNA, belakangan ini, menjadi target yang di

eksplorasi secara intensif untuk dapat menguak tabir atau rahasia kehidupan di atas dunia. Semenjak ditemukannya mesin PCR, yakni alat untuk menggandakan segmen DNA *secarain vitro*, oleh C. Mullis pada tahun 1986 (Mullis *et al.* 1986), penelitian di bidang molekular meningkat pesat.

Penelitian monyet ekor panjang di Bali menggunakan marka molekul mikrosatelit telah dilakukan oleh beberapa peneliti, seperti misalnya Kanthaswamy *et al.* (2008), dan Wandia *et al.*(2009). Tetapi penelitian menggunakan marka molekul mikrosatelit D3S1768 belumlah dilakukan. Berdasarkan informasi tersebut, peneliti tertarik melakukan penelitian mengenai diversitas genetik populasi monyet ekor panjang di Mekori menggunakan marka molekul mikrosatelit D3S1768.

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, permasalahan yang diangkat dari penelitian ini adalah: Berapa jumlah alel pada lokus mikrosatelit D3S1768 pada populasi monyet ekor panjang di Mekori? Berapa frekuensi alel pada lokus mikrosatelit D3S1768 pada populasi monyet ekor panjang di Mekori? Berapa heterosigositas populasi monyet ekor panjang di Mekori dengan menggunakan marka molekul mikrosatelit D3S1768?

Penelitian ini bertujuan untuk: Mengetahui jumlah alel lokus mikrosatelit D3S1768 pada populasi monyet ekor panjang di Mekori. Mengetahui tingkat frekuensi alel lokus mikrosatelit D3S1768 pada populasi monyet ekor panjang di Mekori. Mengetahui heterosigositas populasi monyet ekor panjang di Mekori menggunakan marka molekul mikrosatelit D3S1768.

Manfaat penelitian ini adalah: Tersedianya informasi yang akurat mengenai diversitas genetik monyet ekor panjang di kawasan wisata Pura Luhur Mekori. Tersedianya informasi yang dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut. Diperoleh informasi yang dapat memberi pengetahuan dan pemahaman pada dunia konservasi terutama pengetahuan mengenai genetika konservasi dan dapat digunakan sebagai dasar untuk membuat strategi konservasi.

METODE PENELITIAN

Materi

Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah yang diambil dari populasi monyet ekor panjang di Mekori sebagai sumber DNA. Perlengkapan ekstraksi DNA dengan QIAamp DNA Blood Kits dari Qiagen, Taq DNA Polymerase, MgSO₄, larutan buffer, dan dNTP, TAE (Tris Acetic EDTA), akrilamid, TBE, APS, TEMED, loading dye, marker (100-bp ladder, Invitrogen), zylasin, ketamin HCl dan primer D3S1768.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sentrifugator, mesin PCR (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler), alat pendingin, tabung eppendoft besar dan kecil beserta rak, gelas ukur, pipet mikro, tips, oven, alat elektroforesis, seperangkat alat pewarnaan perak, ultraviolet iluminator, kamera digital, sarung tangan dan masker.

Metode

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *observasional deskriptif* yang bersifat *crosssectional*.

Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini adalah: Jumlah alel, banyaknya alel pada lokus mikrosatelit D3S1768 dalam populasi monyet ekor panjang di Mekori. Frekuensi alel, proporsi relatif masing-masing alel lokus D3S1768 populasi monyet ekor panjang di Mekori. Heterosigositas, nilai untuk mencerminkan keragaman genetik yang diduga menggunakan frekuensi alel.

Cara Pengumpulan Data

Populasi yang akan diteliti adalah populasi monyet ekor panjang di Mekori. Cara pengumpulan data menggunakan teknik sampling *convenient*. Sejumlah 14

sampel darah monyet ekor panjang yang berasal dari populasi Mekori, Bali telah terkoleksi, Sampling monyet ini telah dilakukan oleh Pusat Penelitian Satwa Primata (PPSP) Universitas Udayana pada tahun 2007, sehingga sampel telah tersedia di Laboratorium Molekuler Pusat Kajian Primata Universitas Udayana.

Prosedur Penelitian

Koleksi Darah

Sejumlah 14 sampel darah monyet ekor panjang yang berasal dari populasi Mekori, Bali telah dikoleksi. Monyet dibius menggunakan ketamin HCl (dosis 10 mg/kg bobot badan), dikombinasi dengan zylasin(dosis 1-2 mg/kg bobot badan) dengan cara ditulup. Darah sebanyak 5-10 ml diambil dari vena femoralis dengan menggunakan alat suntik 10 ml yang telah diisi 0,1-0,4 ml EDTA 10% sebagai antikoagulan.

Ekstraksi DNA Total

Ekstraksi DNA menggunakan *QIAamp DNA Blood Kits* produksi Qiagen dengan cara sebagai berikut: (1) Sebanyak 20 µl protease Qiagen, 200 µl sampel darah, dan 200 µl buffer AL dimasukkan ke dalam eppendorf 1,5 ml yang selanjutnya dicampur dengan menggunakan vortex selama 15 detik. Campuran ini diinkubasi pada suhu 56⁰C selama 10 menit, kemudian dipusingkan beberapa saat untuk menurunkan embun yang menempel pada tutup eppendorf. (2) Sebanyak 200 µl etanol (96-100%) ditambahkan pada sampel, dicampur menggunakan vortex selama 15 detik, dan dipusingkan beberapa saat untuk menurunkan embun yang menempel pada tutup eppendorf. (3) Campuran ini dimasukkan ke dalam *QIAamp spin column* dan dipusingkan pada 6000 x g selama 1 menit setelah ditutup terlebih dahulu. Selanjutnya, *spin column* ini diletakkan didalam tabung 2 ml yang bersih, dan tabung yang mengandung filtrat dibuang. (4) Tutup *spin column* dibuka dengan hati-

hati, dan 500 µl buffer AW1 dimasukkan. *Spin column* ditutup kembali, dan dipusingkan pada 6000 x g 1 menit. *Spin column* diletakkan di dalam tabung 2ml yang bersih, dan tabung yang mengandung filtrat dibuang. (5) Sebanyak 500 µl buffer AW2 dimasukkan ke dalam *spin column*, dan dipusingkan pada 20000 x g selama 3 menit. (6) *Spin column* dimasukkan ke dalam tabung 1,5 ml, ditambahkan 200 µl buffer AE, diinkubasi pada suhu ruangan (15-25⁰C) selama 1 menit, dan dipusingkan pada 6000 x g selama 1 menit.

Hasil ekstraksi dilihat dengan cara elektroforesis pada gel agarosa 0,5% volume 80 ml dalam larutan 1xTAE (Tris Acetat EDTA, pH 8,0) dengan menggunakan marka DNA λ HindII untuk mengetahui adanya fragmen DNA dengan berat molekul tinggi (*high molecular weightDNA*). Fragmen dimunculkan dengan pewarna etidium bromide setelah diimigrasi selama 35 menit dengan voltase 50 V. Fragmen DNA yang diperoleh dalam tabung 1,5 ml disimpan pada -20⁰C untuk proses berikutnya.

Amplifikasi lokus Mikrosatelit

Marka molekul mikrosatelit D3S1768 digunakan untuk mengungkapkan diversitas genetik populasi monyet ekor panjang di Mekori, Bali. Lokus mikrosatelit diamplifikasi melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan satu set primer yang mengapit lokus mikrosatelit tersebut.

Setiap unit reaksi PCR mengandung 1mM MgCl₂; dNTP masing-masing 0,2mM; sepasang primer masing-masing 0,2mM; Taq DNA polymerase sebanyak 0,2U. Ke dalamnya ditambahkan 1,25 µl *buffer* 10x 1 µl *template* DNA, dan sejumlah air deionase sehingga volume akhir 12,5 µl. Urutan pencampuran dilakukan secara bebas, kecuali Taq DNA Polymerase dicampur untuk yang terakhir. Campuran divorteks dan dipusingkan sebentar (Hillis *et al.* 1996).

Amplifikasi lokus mikrosatelit menggunakan mesin Applied Biosystem 2720 Thermal Cycler. Kondisi PCR sebagai berikut: pre PCR selama satu siklus (94⁰C) 5 menit. PCR dilakukan selama tiga puluh siklus dengan tahapan sebagai berikut:

tahapan *Denaturasi* (94⁰C) selama 45 detik, *annealing* (54⁰C) selama 45 detik, dan *Elongasi*(72⁰C) selama 40 detik. Sedangkan post PCR: *Elongasi*(72⁰C) selama 5 menit.

Elektroforesis

Pembuatan Gel Akrilamid 7%.

Pembuatan gel poliakrilamid 7% vertikal untuk sediaan 25 ml adalah sebagai berikut: (1) Menyiapkan cetakan gel vertikal yang akan digunakan. (2) Menyiapkan gelas beker dan menambahkan air (DW) sebanyak 15 ml. (3) Sebanyak 5 ml 5 x TBE dimasukkan dan goyang campuran hingga homogen (jernih). (4) Menambahkan akrilamid 30% sebanyak 5 ml. (5) Selanjutnya menambahkan APS sebanyak 150 µl, dan digoyang kembali hingga homogen. (6) Terakhir masukkan TEMED sebanyak 15 µl. (7) Tuangkan campuran kedalam cetakan gel vertikal yang telah disiapkan. (8) meletakkan sumur diatas cetakan gel dan didiamkan hingga campuran memadat (menjadi gel).

Elektroforesis pada Gel Poliakrilamid Vertikal

Gel poliakrilamid vertikal yang telah disiapkan sebelumnya dimasukkan kedalam alat elektroforesis. Selanjutnya, 1 mikroliter produk PCR dicampur dengan 0,2 µl 5x loading dye kemudian masukan kedalam sumur gel poliakrilamid yang telah dibuka. Alat elektroforesis dihidupkan dengan tegangan 125 volt selama 90 menit.

Pewarnaan Perak

Pita dapat dimunculkan dengan pewarnaan perak (*silver staining*) dengan langkah-langkah sebagai berikut: (1) Setelah elektroforesis, gel dilepas dari cetakan dan ditempatkan pada wadah gel. Tuangkan larutan ke-1 (terdiri dari CTAB 0,2 g dalam air deionase dengan volume akhir 200 ml) ke dalam wadah gel, dan biarkan gel terendam selama 5 menit sambil digoyang. (2) Larutan 1 dibuang, kemudian gel dicuci dengan 200 ml air deionase selama 5 menit. (3) Air dibuang, lalu tuangkan

larutan ke-2 (2,4 ml NH_4OH dalam air deionase dengan volume akhir 200 ml) sambil digoyang selama 5 menit. (4) Larutan ke-2 dibuang, selanjutnya masukkan larutan ke-3 (0,32 g AgNO_3 , 0,08 ml NaOH 10 N, 0,8 ml NH_4OH dalam air deionase dengan volume akhir larutan 200 ml), dan digoyang selama 7 menit. (4) Buang larutan ke-3, dan cuci dengan 200 ml air deionase selama 3 menit. (5) Air deionase dibuang, dan cuci dengan air deionase lagi selama 3 menit. (6) Air bekas pencucian dibuang, lalu tambahkan larutan ke-4 (4 g Na_2CO_3 , 100 μl formaldehida dalam air deionase sehingga volume akhir 200 ml) sambil digoyang sampai muncul pita. Larutan ke-4 segera dibuang setelah pita muncul, dan dimasukkan larutan ke-5 (asam asetat glasial 1% dengan volume 200 ml) untuk menghentikan reduksi perak. (7) Selanjutnya, gel dapat dipres atau direndam dulu dengan gliserol 20% sebelum dipres untuk tujuan penyimpanan yang lama.

Identifikasi Varian Alel

Hasil amplifikasi dipisahkan secara elektroforesis dengan gel poliakrilamid 7 % dalam larutan 1x penyangga TBE (Tris Borak EDTA, pH 8,0) pada voltase 125 V selama 90 menit. Sejumlah 1 μl produk PCR dicampur dengan 0,2 μl penyangga pemuat (5x dye), untuk selanjutnya dimasukkan ke dalam sumur gel poliakrilamid yang telah disiapkan. Pita dimunculkan dengan pewarnaan perak dan panjang basa diukur dengan membandingkan terhadap penanda standard 100 bp DNA *ladder* (Gibco BRL, LIFE Technologies).

Analisis Data

Identifikasi alel dan jumlah alel

Pita yang muncul pada gel poliakrilamid adalah suatu alel mikrosatelit. Keragaman alel mikrosatelit dapat dilihat dari beda jarak migrasi alel pada gel (Krawczak and Schmidtke, 1994). Dengan asumsi kodominansi, genotip ditentukan berdasarkan variasi pita alel.

Frekuensi alel

Frekuensi alel tiap lokus dalam satu sub populasi dihitung dengan rumus Nei (1987), sebagai berikut :

$$x_i = \frac{(2n_{ii} + \sum n_{ij})}{(2n)}$$

ket;

x_i : frekuensi alel i

n : jumlah sampel

n_{ii} : jumlah individu bergenotip homozigot ii

n_{ij} : jumlah individu heterozigot dengan alel i

Heterosigositas

Nilai heterosigositas merupakan ukuran keragaman genetik, dengan nilai heterosigositas dihitung menggunakan rumus tidak bias dari Nei (1987) sebagai berikut:

$$h = \frac{2n(1 - \sum x_i^2)}{(2n-1)}$$

ket:

h: heterosigositas

n: jumlah sampel

x_i : frekuensi alel i

Lokasi dan Waktu Penelitian

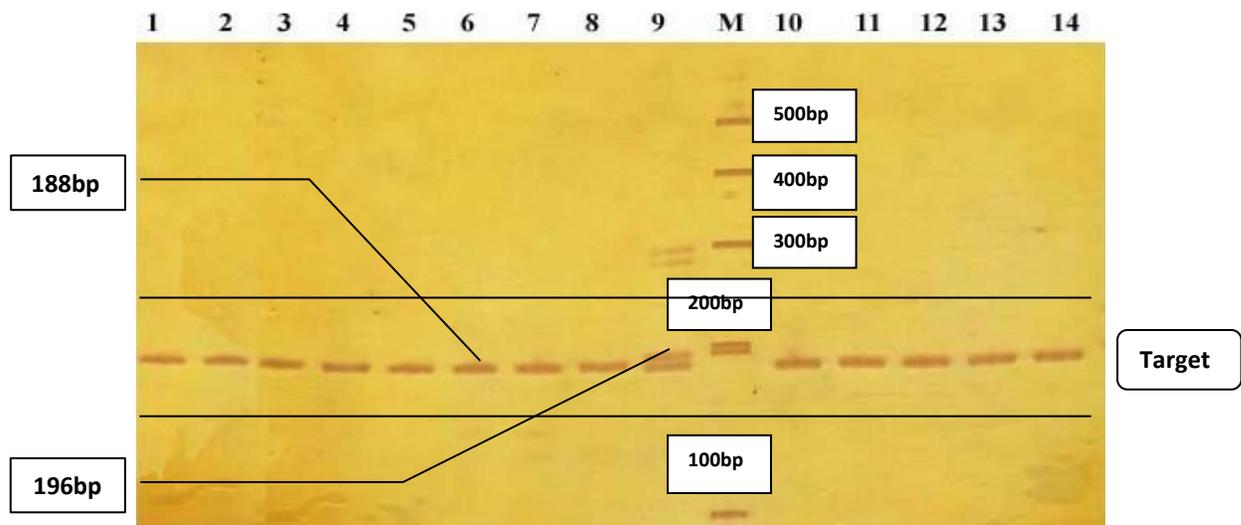
Analisis dilakukan di laboratorium molekuler Pusat Penelitian Satwa Primata, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, pada bulan April 2011.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Alel dan Jumlah Alel

Alel mikrosatelit merupakan pita yang muncul pada gel poliakrilamid. Keragaman alel mikrosatelit dapat dilihat dari beda jarak migrasi alel pada gel (Krawczak and Schmidtke 1994). Alel dapat diidentifikasi berdasarkan migrasi pita setelah dielektroforesis. Pemisahan jarak migrasi alel terjadi karena adanya kecepatan pergerakan yang berbeda pada setiap alel yang berbeda. Menurut Wandia *et al* (2009), Locus dinyatakan polimorfik apabila jumlah alel bersama dalam populasi pada lokus tersebut lebih dari satu dengan frekuensi alel paling umum kurang atau sama dengan 0.95.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dua alel teridentifikasi dari 14 sampel DNA monyet ekor panjang yang ada di Mekori menggunakan lokus mikrosatelit D3S1768. Panjang alel adalah 188bp dan 196bp (Gambar 4).



Gambar 4. Alel lokus D3S1768. Nomor menyatakan sampel (individu), huruf M menyatakan penanda (100 base pairs ladder). Genotip 1,2,3,4,5,6,7,8,10,11,12,13,14 = 188/188; 9 = 188/196

Dari 14 monyet ekor panjang, satu individu bergenotip heterosigot (188/196) dan lainnya bergenotip homosigot (188/188) (Tabel 1).

Tabel 1. Genotip Monyet Ekor Panjang di Mekori Menggunakan Lokus Mikrosatelit D3S1768

No	Genotip	Jumlah Monyet (ekor)
1	188/188	13
2	188/196	1
Total		14

Frekuensi Alel

Kemunculan pita-pita alel yang teridentifikasi pada saat elektroforesis dihasilkan jumlah relatif masing-masing alel pada lokus mikrosatelit D3S1768 dalam populasi monyet ekor panjang di Mekori yang dinyatakan dalam persen (%) atau desimal. Dari dua alel yang terdeteksi, alel 188 memperlihatkan frekuensi yang sangat tinggi (0.96) sedangkan alel 196 hanya 0.04 (Tabel 2).

Tabel 2. Frekuensi Lokus Mikrosatelit D3S1768 Alel Monyet Ekor Panjang di Mekori

No	Jenis Alel	Jumlah Alel	Frekuensi Alel (%)
1	188	27	0.96
2	196	1	0.04
Total	2	28	1.00

Heterosigositas

Nilai heterosigositas merupakan cara yang paling akurat untuk mengukur variasi genetik (Nei, 1987). Heterosigositas populasi monyet ekor panjang di Mekori

menggunakan lokus mikrosatelit D3S1768 yang dihitung menggunakan rumus tidak bias dari Nei (1987) adalah 0.08

Perkembangan-perkembangan yang terjadi pada teknik molekuler telah banyak membantu dalam menghasilkan data tentang variasi genetik pada tingkat DNA. Berbagai penelitian eksplorasi polimorfisme lokus mikrosatelit pada satwa primata dengan menggunakan primer mikrosatelit manusia telah dilakukan (Kanthasmawy *et al.* 2006). Identifikasi alel pada populasi monyet ekor panjang di Mekori menggunakan lokus mikrosatelit D3S1768 yang dikaji pada penelitian ini, teridentifikasi 2 jenis alel dengan frekuensi alel tertinggi 0.96 sehingga digolongkan monomorfik. Sedangkan pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Wandia *et al.* (2009) dengan menggunakan lokus yang sama (D3S1768) pada populasi monyet ekor panjang di Pulaki, Alas Kedaton, Sangeh, Uluwatu, Ubud dan Bukit Gumang menunjukkan hasil yang polimorfik. Perbedaan jumlah alel suatu lokus antar populasi sangat terkait dengan sejarah penyebaran dan evolusi suatu populasi atau spesies (Bonhomme *et al.*, 2005).

Alel 196 dengan nilai frekuensi 0.04 yang merupakan frekuensi alel terendah perlu mendapat perhatian. Wandia (2001), mengungkapkan bahwa rendahnya frekuensi sejumlah alel kemungkinan besar sebagai akibat *random genetic drift*. Kemungkinan lain bahwa alel tersebut produk mutasi terkini sehingga belum tersebar keseluruh anggota populasi.

Heterosigositas merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam populasi (Tanabe *et al.*, 1999). Nilai heterosigositas monyet ekor panjang di Mekori menggunakan lokus mikrosatelit D3S1768 adalah 0.08. Nilai heterosigositas ini termasuk rendah jika dibandingkan dengan nilai heterosigositas populasi sama dengan lokus berbeda (D4S243) yang dilakukan Wandia (2009) ($h=0.64$). Keragaman genetik rendah akan menurunkan potensial evolusi populasi terhadap faktor stokastik, seperti perubahan alam, meningkatkan pemunculan alel letal, dan menurunkan *fitness* (Frankham *et al.*, 2004)

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa diversitas genetik populasi monyet ekor panjang di Mekori menggunakan marka molekul mikrosatelit D3S1768 cukup rendah. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan diversitas genetik populasi tersebut dengan marka molekul yang lebih banyak. Penilaian diversitas genetik juga perlu dilakukan secara reguler sehingga erosi genetik populasi dapat diketahui sedini mungkin dan usaha pencegahan dapat dilakukan dengan tepat.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa: Lokus D3S1768 pada populasi monyet ekor panjang di Mekori bersifat polimorfik. Terdapat 2 alel pada lokus D3S1768 dalam populasi monyet ekor panjang di Mekori dengan frekuensi alel 188 (0.96) dan alel 196 (0.04). Heterosigositas populasi monyet ekor panjang di Mekori menggunakan marka molekul mikrosatelit D3S1768 sebesar 0.08.

SARAN

Adapun saran setelah dilakukan penelitian ini adalah: Untuk melengkapi data diversitas genetik populasi monyet ekor panjang di Mekori, perlu dilakukan penelitian serupa menggunakan lokus yang berbeda. Sehingga dapat dipastikan apakah populasi ini dalam status terancam atau aman. Monitoring dan evaluasi variabilitas genetika populasi perlu dilakukan secara reguler untuk mengetahui lebih dini status diversitas genetik suatu populasi sebagai bahan pertimbangan dalam penyusunan langkah konservasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada kepala laboratorium molekuler pusat penelitian satwa primata LPPM UNUD beserta staff-staff yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini. Serta teman-teman terdekat dan seperjuangan yang banyak membantu saat penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Avise, J.C. 1994. *Molecular Markers, Natural History, and evolution*. Chapman and Hall Inc. New York.
- Bonhomme, M., Blancher, A., and Crouau-Roy, B. 2005. *Multiplexed Microsatellite for Rapid Identification and Characterization of Individuals and Populations of Cercopithecidae*. *American Journal of Primatology*. 67: 385-391.
- Campbell, N.A., and Reece, J.B. 2002. *Genetika Populasi*. Biologi. Erlangga. Jakarta.
- Djuwantoko. 2000. *Pendekatan ekosistem dalam konservasi primata*. Seminar *Primatologi Indonesia 2000*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Hewan dan Fakultas Kehutanan UGM.
- Frankham, R., Ballou, J.D., and Briscoe, D.A. 2004. *A Primer of Conservation Genetics*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Hillis, D.M., Moritz, C., and Mable, B.K. 1996. *Molecular Systematics*. 2 edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.
- Jolly, A. 1985. *The Evolution of Primate Behavior*. 2nd Ed. Macmillan Publishing company. New York.
- Kanthalaswamy, S., Satkoski, J., George, D., Kou, A., Erickson, B.A., and Smith, D.G. 2008. *Interspecies Hybridization And The Stratification of Nuclear Genetic Variation of Rhesus (Macaca Mulatta) and Long-Tailed Macaques (Macaca Fascicularis)*. *Int. J. Primatol*. 29(5): 1295–1311.
- Kanthalaswamy, S., A. Von, Dolen., J.D. Kurushima. Ona, Alminas., J. Roger., B. Ferguson., N.W. Lerche., P.C. Allen., and D.G. Smith. 2006. *Microsatellite Markers for Standardized Genetic Management of Captive Colonies of Rhesus Macaques (Macaca mulatta)*. *American Journal of Primatology*. 68: 73-95.
- Krawczak, M. and Schmidtke, J. 1994. *DNA Fingerprint*. BIOS Scientific Publishers Limited. Oxford.
- Li, W.H. 1997. *Molecular Evolution*. Sinauer Associates Inc. Publisher. Sunderland, Massachusetts, USA.
- Loudon, J.E., Howells, M.E., and Fuentes, A. 2006. *The Importance of Integrative Anthropology: A Preliminary Investigation Employing Primatological and Cultural Anthropological Data Collection Methods in Assessing Human-Monkey Co-existence in Bali, Indonesia*. *Articles: Ecological and Environmental Anthropology*.
- Mullis, K.B., Faloona, F.A., Scharf, S.J., saiki, R.K., Horn, G.T., and ERlich, H.A. 1986. *Specific Enzymatic Amplification of DNA In Vitro: the Polymerase Chain Reaction*. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol*. 51: 263-273

- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetic*. Colombia University Press. New York.
- Newsome, D., R. Dowling, and S. More. 2005. *Wildlife Tourism, Aspects of Tourism*. Clevedon: Channel View Publications.
- Supriatna, J. 2000. *Konservasi Satwa Primata. Tinjauan Aspek Ekologi, Sosial Ekonomi, dan Medis dalam Pengembangan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Seminar Primatologi Indonesia 2000*. Yogyakarta:
- Tanabe, Y., H. Yokohama., J. Murakami., H. Kano., O. Tanawaki., H. Okabayashi., Y. Maeda., C. Koshimoto., K. Nozawa., K. Tumennasan., B. Dashnyman., and T. Zhanciv. 1999. *Polimorphisms of The Plumage Colors, The Skin Variations and Blood Proteins in The Chirkens in Mongolia*. Report of The Society for Researches on Native Livestock 17: 139-153
- Wandia, I.N. 2001. *Variasi Genetik Populasi Monyet Ekor Panjang (Macaca fascicularis) di Beberapa Lokasi di Bali*. Tesis. Program Pasca sarjana IPB: Bogor.
- Wandia, I.N., Putra Arta, I.G.A., dan Soma, I.G. 2009. *Polimorfisme Genetik Populasi Monyet Ekor Panjang (Macaca Fascularis) di Lokasi Pariwisata, Bali*. Fakultas Kedokteran Hewan. Laporan Fundamental Dana DIPA Universitas Udayana tahun anggaran 2009.
- Warren, K.S., Nijman, I.J., Lenstra, J.A., Swan, R.A., Heriyanto, and Den Boer, M. 2000. *Microsatellite DNA variation in Bornean orangutans (Pongo pygmaeus)*. *J. Med. Primatol.* 29: 57-62