

Keragaman Genetik Populasi Monyet Ekor Panjang di Pura Pulaki menggunakan Marka Molekul Mikrosatelit D13s765

WAODE SANTA MONICA¹, SRI KAYATI WIDYASTUTI², I NENGAH WANDIA¹

¹Lab Anatomi Veteriner, ²Lab Penyakit Dalam Hewan Kecil
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
Jln P.B. sudirman tlp 0361-223791

ABSTRAK

Keragaman genetik suatu populasi dapat memberi petunjuk mengenai keadaan populasi di masa mendatang. Variabilitas genetik suatu populasi dapat diamati pada tingkat protein (isoenzim) dan tingkat DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*). Pada tingkat DNA, variabilitas genetik populasi dapat diungkap dengan menggunakan marka molekul mikrosatelit.

Pada saat ini, DNA mikrosatelit banyak digunakan sebagai marka molekul untuk mempelajari variasi genetik. DNA mikrosatelit merupakan rangkaian molekul DNA pendek yang susunan basanya berulang dan terdapat melimpah dalam genom eukariot. Penelitian ini menggunakan satu lokus mikrosatelit yakni D13S765 untuk mengkaji variabilitas genetik populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki yang meliputi jumlah alel, nilai frekuensi alel dan nilai heterozigositas. Sejumlah 12 sampel darah dikoleksi sebagai sumber DNA. DNA total diekstraksi dengan menggunakan QIAamp DNA Blood Mini Kit dari Qiagen. Lokus mikrosatelit D13S765 diamplifikasi dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR dilakukan sebanyak 30 siklus dengan suhu *annealing* 54⁰C. Alel dipisahkan secara elektroforesis pada gel poliakrilamid 7 % dan alel dimunculkan dengan pewarnaan perak (*silver staining*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sejumlah 6 alel ditemukan pada lokus D13S765 di populasi monyet ekor panjang Pura Pulaki dengan panjang alel berkisar 238-258 panjang basa. Frekuensi alel bervariasi, alel 254 (0,38) memiliki frekuensi tertinggi disusul alel 250 (0,21), alel 258 (0,21), alel 242 (0,12), alel 246 (0,04) dan alel 238 (0,04). Heterozigositas populasi monyet ekor panjang Pura Pulaki menggunakan lokus D13S765 sebesar $h=0,78$. Dari hasil penelitian

dapat disimpulkan bahwa lokus D13S765 bersifat polimorfik pada populasi monyet ekor panjang Pura Pulaki.

Kata-kata kunci : *Macaca fascicularis*, Marka Molekul Mikrosatelit D13s765 , Pura Pulaki

PENDAHULUAN

Macaca fascicularis (monyet ekor panjang) merupakan salah satu satwa primata yang menyebar secara luas. Di kawasan Asia Tenggara monyet ekor panjang ditemukan di Vietnam, Myanmar, Muangthai, Malaysia, Filipina, dan Indonesia (Supriatna dan Wahyono, 2000). Monyet ekor panjang di Indonesia diperkirakan berasal dari daratan Asia Tenggara dan bermigrasi melebihi satu juta tahun yang lalu saat daratan Asia dan lempeng Sunda menyatu (Eudey, 1980). Monyet ekor panjang menyebar dari barat ke timur dengan pulau Jawa sebagai pintu penyebarannya (Fooden, 1995).

Monyet ekor panjang Bali diyakini migrasi langsung dari Jawa saat kedua pulau menyatu pada waktu sebelum dan saat glasiasi maksimum terakhir (\pm 18 ribu tahun yang lalu) (Eudey, 1980; Fooden, 1995). Di pulau Bali, populasi monyet ekor panjang dapat ditemukan pada 43 lokasi (Fuentes dan Garmel, 2005). Populasi monyet ekor Bali telah bertambah menjadi 46 lokasi (Pusat Kajian Primata, 2007, data tidak dipublikasikan). Di Bali populasi monyet ekor panjang dapat ditemukan di beberapa lokasi diantaranya Alas Kedaton, Alas Nenggan, Sangeh, Wanara Wana Padang Tegal Ubud, Pura Luhur Uluwatu, dan Pura Pulaki (Fuentes dan Garmel, 2005).

Pura Pulaki yang berada di kawasan Pulaki desa Banyu Poh kecamatan Gerokgak dikenal sebagai tempat wisata monyet yang berada di kabupaten Buleleng Bali. Pura Pulaki dengan luas sekitar 5 ha ditempati oleh fauna monyet ekor panjang dan merupakan cagar alam untuk melindungi dan melestarikan hutan. Menurut survei yang dilakukan oleh Wandia (2007) kawasan ini dihuni oleh \pm 68 ekor monyet ekor panjang. Satwa primata ini perlu dipertahankan keberadaannya karena telah berkontribusi besar terhadap perkembangan ekonomi masyarakat sekitar.

Ancaman terhadap kelangsungan hidup primata monyet ekor panjang bukan hanya berasal dari faktor eksternal (lingkungan) tetapi juga berasal dari faktor internal (genetik). Keragaman genetik suatu populasi dapat memberi petunjuk mengenai keadaan populasi di masa

mendatang. Keragaman genetik rendah akan membahayakan kelestarian suatu spesies atau populasi karena timbulnya populasi yang homosigot (Nozawa *et al.*, 1996). Pengungkapan keragaman genetik sangat bermanfaat karena selain mencerminkan struktur genetik saat ini, juga dapat digunakan untuk menyusun langkah penyelamatan populasi atau bahan pertimbangan untuk menetapkan strategi konservasi.

Secara molekuler keragaman genetik populasi dapat di ungkap pada tingkat DNA. Penggunaan DNA ini akan memberikan resolusi lebih baik karena DNA merupakan materi genetik yang diturunkan pada generasi selanjutnya. Salah satu marka molekul yang banyak digunakan dalam studi genetika populasi adalah mikrosatelit. Beberapa karakter mikrosatelit seperti alel mudah dibedakan, memiliki tingkat variabilitas yang tinggi, dan mudah didekati melalui teknik PCR menjadikannya sebagai penanda molekul yang paling diminati oleh ahli genetika untuk mencerminkan struktur genetik suatu populasi (Ellegren *et al.*, 1992).

Tidak semua lokus mikrosatelit baik digunakan untuk mengungkapkan keragaman genetik populasi. Meskipun berbagai keunggulan yang dimiliki mikrosatelit, lokus mikrosatelit yang bersifat polimorfik yang akan dipilih untuk studi genetik populasi. Semenjak berkembangnya Human Genom Project pada tahun 2005, banyak lokus mikrosatelit manusia diujicobakan pada Non Human Primata (NHP) (Rogers dan Hixson, 1997). Karakter mikrosatelit tersebut tidak selalu selaras dengan populasi alamiah karena karakteristiknya hanya dilakukan pada hewan NHP di stasiun penangkaran. Kegunaan mikrosatelit sebagai marka molekul untuk mengungkapkan struktur genetik populasi monyet ekor panjang di Bali telah dilakukan oleh Wandia (2003). Namun penggunaan marka molekul D13S765 untuk studi genetik pada monyet ekor panjang di Bali belum pernah dilaporkan.

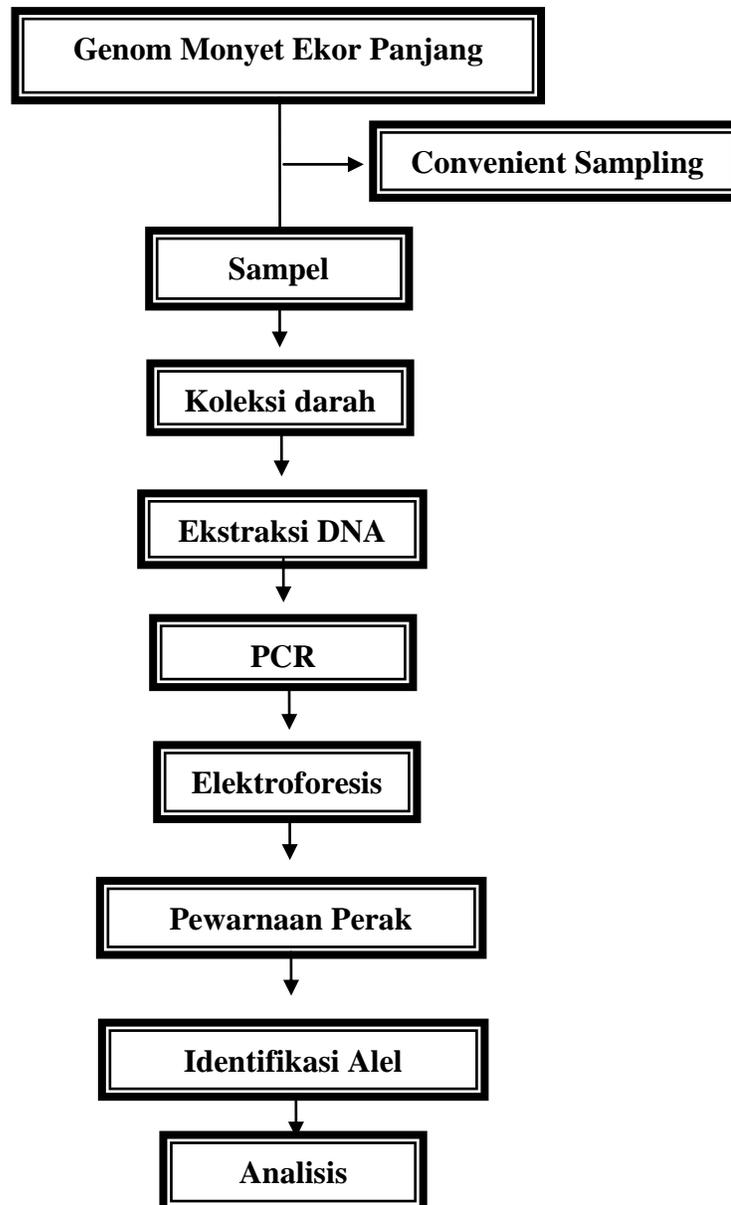
Berdasarkan pada informasi di atas, peneliti sangat tertarik untuk meneliti “Keragaman Genetik Populasi Monyet Ekor Panjang Menggunakan Marka Mikrosatelit D13S765”. Penelitian dilakukan pada populasi lokal monyet ekor panjang yang menempati kawasan Pura Pulaki, Buleleng Bali.

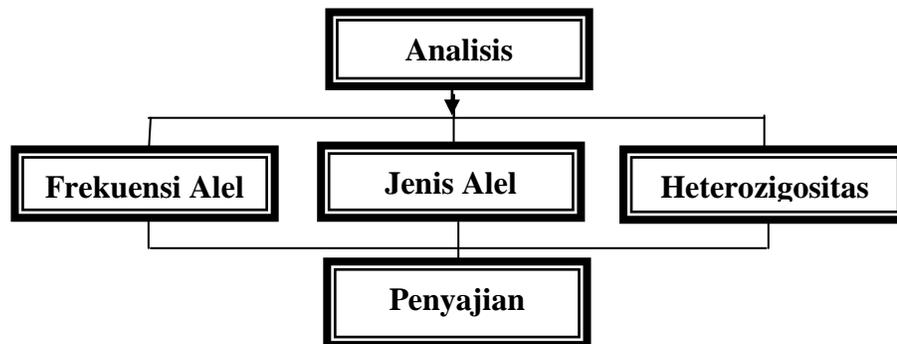
Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis alel lokus mikrosatelit D13S765 dalam populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki, untuk mengetahui frekuensi alel lokus mikrosatelit D13S765 dalam populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki, untuk menganalisis heterozigositas populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki dengan menggunakan lokus mikrosatelit D13S765.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilaksanakan adalah jenis penelitian observasional deskriptif dan pengambilan sampel dilakukan dalam satu waktu tertentu saja (*cross sectional*). Adapun langkah-langkah yang di tempuh dalam penelitian ini dapat dijelaskan secara singkat dalam kerangka penelitian (Gambar 4).





Gambar 4. Kerangka Penelitian

Variabel Penelitian

Variabel penelitian meliputi :

a. Jumlah Alel

Jumlah alel yaitu banyaknya alel yang dapat ditemukan pada lokus mikrosatelit D13S765 dalam populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki.

b. Frekuensi Alel

Frekuensi alel merupakan jumlah relatif masing-masing alel pada lokus D13S765 dalam populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki yang dinyatakan dalam persen (%) atau desimal.

c. Heterozigositas

Heterozigositas adalah keragaman genetik populasi yang diduga dengan menggunakan frekuensi alel.

Cara Pengumpulan Data

Populasi monyet ekor panjang yang akan diseleksi adalah monyet ekor panjang yang menempati lokasi wisata Pura Pulaki. Jumlah populasi \pm 68 ekor. Sampel diambil dengan menggunakan teknik convenient sampling yaitu mengambil sampel berdasarkan keberhasilan dalam menangkap atau menulup monyet.

Prosedur Penelitian

Sampel

Sejumlah 12 sampel darah monyet ekor panjang telah diambil dalam populasi di Pura Pulaki pada Mei 2007. Sampel yang diteliti telah tersedia dalam stok DNA dan tersimpan di Laboratorium Molekuler Pusat Penelitian Satwa Primata (PPSP), Universitas Udayana.

Cara pengambilan Darah

Contoh darah monyet diambil dengan cara membius dengan campuran Ketamin HCl (dosis 10 mg/kg bobot badan) dan Xylazil dengan rasio 5:1 dengan cara ditulup. Sebanyak 5-10 ml darah diambil dari vena femoralis dengan menggunakan alat suntik 10 ml yang telah diisi EDTA 10% 0,1-0,4 ml sebagai antikoagulan.

Ekstraksi DNA Total

Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan QIAamp™ DNA Mini Kit dari Qiagen dengan cara sebagai berikut (1) sebanyak 20 µl protease Qiagen, 200 µl darah, dan 200 µl buffer AL dimasukkan ke dalam eppendorf 1,5 µl yang selanjutnya dicampur dengan menggunakan vorteks selama 15 detik. Campuran ini diinkubasi pada suhu 56°C selama 10 menit, kemudian dipusing beberapa saat untuk menurunkan embun yang menempel pada tutup eppendorf. (2) Sebanyak 200 µl etanol (96-100%) ditambahkan pada sampel, dicampur menggunakan vorteks selama 15 detik, dan dipusing 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 di tutup terlebih dahulu. Selanjutnya, spin column ini diletakkan di dalam 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 dipusing pada 6000 x g selama 1 menit. Spin column diletakkan di dalam tabung 2 ml yang bersih, dan tabung yang mengandung filtrat dibuang. (5) Sebanyak 500 µl buffer AW2 dimasukkan ke dalam spin column, dan dipusing 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 (15-25°C) selama 1 menit, dan dipusing pada 6000 x g selama 1 menit. Selanjutnya, DNA yang diperoleh dalam tabung 1,5 ml di simpan pada -20°C untuk proses berikutnya (Wandia *et al.*, 2009).

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 HindIII untuk mengetahui adanya fragmen DNA dengan berat molekul tinggi (high molecular weight DNA). 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 20°C untuk proses berikutnya.

PCR Atau Amplifikasi Lokus Mikrosatelit D13S765

Lokus mikrosatelit D13S765 digunakan untuk mengungkapkan polimorfisme genetik populasi monyet ekor panjang di lokasi parawisata, Pura Pulaki. Lokus mikrosatelit diamplifikasi melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan satu set primer yang mengapit lokus mikrostelit tersebut.

Satu unit reaksi PCR mengandung 1 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 0,2 mM untuk masing-masing primer, dan Taq DNA polimerase sebanyak 0,2 U. Kedalamnya ditambahkan 1,25 μ l buffer 10x, 1 μ l templete DNA, dan sejumlah air deionase sehingga volume akhir 12,5 μ l. Urutan pencampuran dilakukan secara bebas, kecuali Taq DNA polimerase dicampur untuk yang terakhir. Campuran di vorteks dan dipusingkan sebentar (Hillis *et al.*, 1996).

Amplifikasi lokus mikrosatelit menggunakan mesin Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler. Kondisi PCR sebagai berikut: Pra PCR; denaturasi (94°C) selama 5 menit; PCR (30 siklus): denaturasi (94°C) selama 45 detik, annealing (54°C) selama 45 detik, dan elongasi (72°C) selama 40 detik; dan post PCR elongasi (72°C) selama 5 menit.

Pembuatan Gel Dan elektroforesis

Pembuatan Gel Acrilamid 7%.

Gel Poliakrilamid 7% dengan volume 25 ml dibuat dengan cara sebagai berikut: masukkan 15 ml DW ke dalam gelas beker. Selanjutnya tambahkan 5 x TBE sebanyak 5 ml, akrilamid 30 % sebanyak 5 ml, APS sebanyak 150 μ l, dan Temed sebanyak 15 μ l ke dalam gelas beker. Campuran digoyang-goyang sehingga semua zat tercampur dengan baik. Lalu tuangkan ke dalam cetakan gel vertikal yang telah disiapkan. Letakkan sisir di atas cetakan gel untuk membentuk sumur-sumur pemuat dan biarkan sampai campuran memadat menjadi gel (Gambar 5).



Gambar 5. “Slab” Gel Vertikal

Elektroforesis pada Gel Poliacrilamid Vertikal:

Mencampurkan 1 μ l produk PCR dengan 0,2 μ l 5x loading dye yang akan dimasukkan ke dalam sumur pada gel acrilamid. menyisir pada gel di lepas dan sampel yang telah di proses siap dimasukkan pada sumur-sumur yang terbentuk pada gel (Gambar 6). menghidupkan aparatan elektroforesis dengan tegangan 125 volt selama 100 menit. Setelah selesai, gel disiapkan untuk pewarnaan perak.



Gambar 6. Peletakan Sampel Dalam Cetakan Gel

Pewarnaan Perak

Pita dimunculkan dengan pewarnaan perak (*silver staining*) sebagai berikut: Setelah elektroforesis, gel di lepas dari cetakan dan ditempatkan pada wadah gel. Tuangkan larutan ke-1 (terdiri dari CTAB 0,2 gr dalam air deionase dengan volume akhir 200 ml) ke dalam wadah gel, dan biarkan gel terendam selama 5 menit sambil di goyang. Larutan 1 dibuang, kemudian gel

dicuci dengan 200 ml air deionase selama 5 menit. Air di buang, lalu tuangkan larutan ke-2 (2,4 ml NH₄OH dalam air deionase dengan volume akhir 200 ml) sambil di goyang selama 5 menit. Larutan ke-2 di buang, selanjutnya masukkan larutan ke-3 (0,32 gr AgNO₃, 0,08 ml NaOH, 0,8 ml NH₄OH dalam air deionase dengan volume akhir larutan 200 ml), dan di goyang selama 7 menit. Buang larutan ke-3, dan cuci dengan 200 ml air deionase selama 3 menit. Air deionase di sbuang dan dicuci dengan air deionase selama 3 menit. Air bekas pencucian di buang, lalu tambahkan larutan ke-4 (4 gr Na₂CO₃, 100 µl formaldehida dalam air deionase sehingga volume akhir 200 ml) sambil di goyang sampai muncul pita. Larutan ke-4 segera di buang setelah pita muncul, dan dimasukkan larutan ke-5 (asam asetat glasial 1% dengan volume 200 ml) untuk menghentikan reduksi perak. Selanjutnya, gel dapat di pres atau di rendam dulu dengan gliserol 20% sebelum di pres untuk tujuan penyimpanan yang lama.

Identifikasi Varian Genetik Alel

Hasil dari amplifikasi dipisahkan secara elektroforesis dengan gel poliakrilamid 7 % dalam larutan 1x penyangga TBE (Tri Borak EDTA, pH 8,0) pada voltase 125 V selama 100 menit. Pita-pita muncul setelah pewarnaan perak menunjukkan alel pada lokus mikrosatelit D13S765. Alel dinyatakan dengan menggunakan panjang basa.

Analisis Data

Jumlah Alel

Identifikasi jumlah alel pada lokus D13S765 dapat dilihat pada gel dengan menghitung pita-pita alel yang muncul pada gel acrilamid 7%.

Frekuensi Alel

Untuk frekuensi alel dapat dihitung dengan menggunakan rumus 7.1 (Nei, 1987) di bawah ini:

$$x_i = \frac{(2N_{ii} + N_{ij})}{2N}$$

Keterangan : x_i : Frekuensi Alel

N_{ii} : Jumlah individu yang bergenotip homozigot alel i.

N_{ij} : Jumlah individu yang bergenotip heterozigot alel i.

sN : Jumlah total individu

Heterozigositas

Keragaman genetik diukur dengan nilai heterozigositas (h). Heterozigositas (h) dihitung menggunakan rumus Nei (1987) di bawah ini:

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

Keterangan : h : heterozigositas

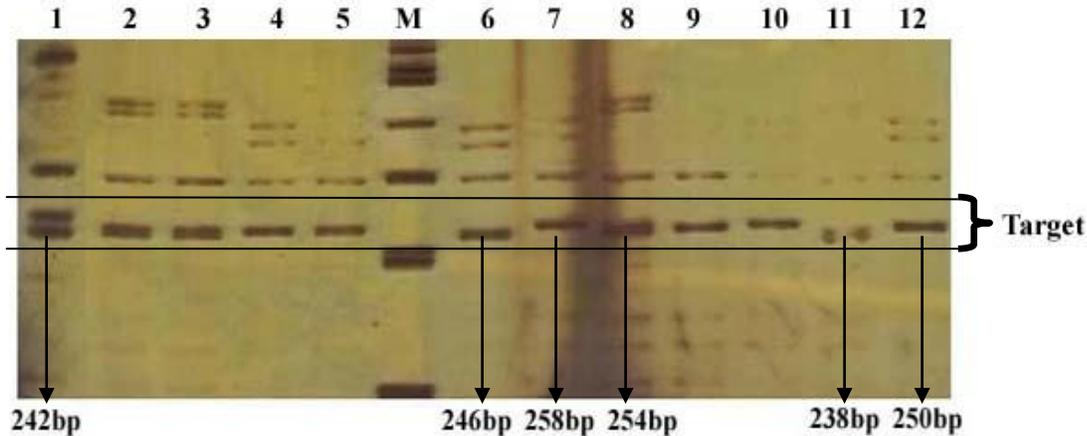
N : Jumlah total individu

x_i : Frekuensi alel ke i

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Alel

Lokus dinyatakan polimorfik apabila jumlah alel bersama dalam populasi pada lokus tersebut lebih dari satu dengan frekuensi alel yang paling umum kurang atau sama dengan 0,95. Alel pada masing-masing lokus mikrosatelit dalam populasi diidentifikasi berdasarkan perbedaan migrasi pita setelah dielektroforesis dengan gel poliakrilamid 7% selama 100 menit (Gambar 7).



Gambar 7. Alel Mikrosatelit Lokus D13S765

Keterangan : Alel mikrosatelit lokus D13S765 populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki. Elektroforesis pada gel poliakrilamid 7 %, Alel dinyatakan dengan panjang basa. Nomor menyatakan sampel (individu), huruf M menyatakan penanda (100 base pairs ladder). Genotip 1=242/258; 6=246/254; 7=258/258; 8=254/258; 11=238/250; dan 12=250/254.

Berdasarkan pita yang muncul pada gel elektroforesis teridentifikasi 6 buah alel dengan panjang berkisar antara 238-258 panjang basa (Gambar 7). Dari 12 monyet ekor panjang, satu individu bergenotip homozigot 258/258 dan yang lain bergenotip heterozigot (Tabel 1) .

Tabel 1. Genotip Monyet Ekor Panjang Di Pura Pulaki Dengan Lokus Mikrosatelit D13S765

No	Genotip	Jumlah Monyet (ekor)
1	238/250	1
2	242/254	2
3	242/258	1
4	246/254	1
5	250/254	4
6	254/258	2
7	258/258	1
Total		12

Frekuensi Alel

Dari 6 buah alel yang terdeteksi, alel 254 memperlihatkan frekuensi tertinggi (0,38) sedangkan alel 238 dan alel 246 menunjukkan frekuensi terendah (0,04) masing-masing (Tabel 2).

Tabel 2. Frekuensi Lokus Mikrosatelit D13S765 Alel Monyet Ekor Panjang Di Pura Pulaki.

No	Jenis Alel	Jumlah Alel	Frekuensi Alel
1	238	1	0,04
2	242	3	0,12
3	246	1	0,04
4	250	5	0,21
5	254	9	0,38
6	258	5	0,21
Total	6	24	1,00

Heterozigositas Alel

Nilai heterozigositas dihitung dengan menggunakan rumus penduga tidak bias 7.1 (Nei, 1987). Nilai heterozigositas monyet ekor panjang di Pura Pulaki dengan menggunakan lokus mikrosatelit D13S765 sebesar 0,78.

Pembahasan

Keragaman genetik suatu populasi dapat memberi petunjuk mengenai keadaan populasi di masa mendatang (Nozawa *et al.*, 1982). Variabilitas genetik suatu populasi dapat diamati pada tingkat protein (isoenzim) dan tingkat DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) (Muladno, 2000). Pada tingkat DNA variabilitas genetik populasi dapat diungkap dengan menggunakan berbagai marka molekul, salah satunya adalah mikrosatelit. Beberapa karakter mikrosatelit seperti alel mudah dibedakan, memiliki tingkat variabilitas yang tinggi, dan mudah didekati melalui teknik PCR (Ellegren *et al.*, 1992), menjadikan mikrosatelit sebagai penanda molekuler semakin meningkat. Polimorfisme mikrosatelit dari genom ditetapkan dari hasil amplifikasi DNA dengan primer pengapit mikrosatelit yang alelnya dipisahkan dengan elektroforesis pada gel poliakrilamid dan dilanjutkan dengan teknik pewarnaan perak (*silver staining*). Elektroforesis pada gel poliakrilamid mampu memisahkan DNA lebih sempurna dan jumlah yang dibutuhkan lebih sedikit, demikian pula metode pewarnaan perak lebih sensitif karena mampu mendeteksi DNA dengan kandungan lebih kecil dari 10 ng/ μ L (Allen *et al.*, 1984). Dengan mengidentifikasi pita yang timbul setelah elektroforesis (satu pita untuk homozigot dan dua pita untuk heterozigot pada organisme diploid), genotip satu individu dapat ditentukan dan frekuensi alelnya dalam populasi dapat dihitung (Lessa dan Applebaum, 1993).

Karakteristik lokus mikrosatelit bervariasi pada berbagai populasi. Namun, karakteristik tersebut belum tentu sama pada populasi monyet ekor panjang berbeda. Hasil penelitian menggunakan lokus mikrosatelit D13S765 pada 12 monyet ekor panjang di Pura Pulaki teridentifikasi 6 jenis alel. Penelitian terdahulu oleh Wandia *et al.*, (2009) pada populasi monyet ekor panjang Pura Pulaki didapatkan bahwa lokus D1S533 memiliki 2 alel dengan frekuensi alel tertinggi 0,96 sehingga digolongkan monomorfik. Lokus ini juga monomorfik di populasi lain seperti Mekori. Berbeda dari lokus D1S533, lokus D3S1769 bersifat monomorfik di populasi Mekori sedangkan di populasi Pura Pulaki bersifat polimorfik. Sementara lokus lain seperti

D4S2455, D4S243, dan D5S820 menunjukkan polimorfik populasi Pura Pulaki, Uluwatu, Bukit Gumang dan Mekori.

Frekuensi alel terendah pada monyet ekor panjang di Pura Pulaki perlu mendapat perhatian seperti pada alel 238 (0,04) dan 246 (0,04). Rendahnya frekuensi sejumlah alel kemungkinan besar sebagai akibat dari *random genetic drif*. Kemungkinan lain bahwa alel tersebut produk mutasi terkini sehingga belum tersebar keseluruh anggota populasi (Wandia, 2001). Mutasi lokus mikrosatelit menyangkut penambahan atau pengurangan jumlah motif (runutan nukleotida yang terulang). Dua alasan yang digunakan untuk menerangkan proses penambahan dan pengurangan motif adalah *slipped strand mispairing* dan pindah silang tidak sama (*unequal crossing over*) saat replikasi DNA (Awise, 1994). Penambahan atau pengurangan motif pada mikrosatelit memberikan keuntungan karena alel dalam satu lokus mudah dibedakan melalui elektroforesis. Lokus mikrosatelit dengan motif tetranukleotida akan lebih mudah dibedakan jenis alelnya melalui teknik PCR (Kanthaswamy, 2006). Terlepas dari penyebab, alel merupakan suatu varian keanekaragaman genetik suatu populasi harus dipertahankan keberadaannya. Manajemen konservasi semestinya diarahkan untuk melestarikan varian genetik yang ada (Wandia, 2001).

Heterozigositas merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam populasi (Tanabe *et al.*, 1999). Semakin tinggi nilai heterozigositas suatu populasi maka semakin tinggi kejadian *outbreeding* yang berpengaruh dalam meningkatkan proporsi genotip heterozigot (Noor, 2000). Nilai heterozigositas rendah akan membahayakan kelestarian suatu spesies atau populasi (Nozawa *et al.*, 1996) karena tingginya angka *inbreeding* (Khan and Sing, 1990).

Nilai heterozigositas monyet ekor panjang di Pura Pulaki menggunakan lokus mikrosatelit D13S765 adalah $h=0,78$. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan nilai rata-rata heterozigositas populasi yang sama yang dilakukan Wandia *et al.*, (2009) ($H= 0,61$). Bila dibandingkan dengan lokus yang lain ataupun dengan populasi lain yang pernah dilakukan oleh Wandia *et al.*, (2009) lokus D13S765 memiliki tingkat keragaman genetik yang paling tinggi. Faktor-faktor yang mempengaruhi heterozigositas antara lain laju mutasi, jumlah populasi efektif, pola perkawinan (acak atau terpilih), migrasi (aliran genetik), dan seleksi (heterosis positif dan negatif) (Nozawa *et al.*, 1982).

Monitoring dan evaluasi variabilitas genetik populasi perlu dilakukan secara reguler. Hal ini merupakan langkah paling tepat untuk mengetahui adanya erosi genetik populasi sehingga usaha-usaha pencegahannya dapat dilakukan sedini mungkin.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa lokus D13S765 bersifat polimorfik pada populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki, ditemukan sejumlah 6 alel pada lokus D13S765 populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki dengan frekuensi masing-masing alel 238 (0,04), alel 246 (0,04), alel 242 (0,12), alel 250 (0,21), alel 258 (0,21), dan alel 254 (0,38) dan heterozigositas populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki dengan marka molekul mikrosatelit D13S765 sebesar 0,78.

SARAN

Adapun saran setelah dilakukannya penelitian ini adalah data mengenai keragaman genetik harus terus dikaji untuk mengetahui lebih dini status keragaman genetik suatu populasi sebagai bahan pertimbangan dalam penyusunan langkah konservasi. Untuk mendapatkan gambaran lebih jelas mengenai kisah pemisahan, kolonisasi, dan pola migrasi antar populasi lokal di Bali sangat diperlukan penelitian lebih lanjut melalui penelusuran materi genetik pada kromosom Y (eksplorasi melalui pihak jantan) dan materi genetik ekstrakromosom mitokondria (eksplorasi melalui pihak betina).

UCAPAN TERIMA KASIH

Untuk Ayahanda dan Ibunda yang tercinta yang telah banyak berjasa dalam memberikan dorongan baik moril maupun materil hingga penulisan skripsi ini dapat selesai dengan tepat waktu. Kepada keluarga besar Abdul Malik : keluarga Alit Tanriana, keluarga Hasan, keluarga Bania, keluarga Abdul Rasak, keluarga Asiswan, keluarga Badi, keluarga Atu, keluarga Abdul Jabar, adik-adik dan kakak-kakak sepupu serta seluruh keluarga besar Pola tercinta terima kasih atas doa dan dukungannya.

Untuk Oster, Ipeng, Resky, Apri dan Putri terima kasih saudaraku, kalian selalu menjadi penyemangatku untuk selalu menjadi terbaik dan yang gigih berusaha dan belajar agar sukses di masa depan.

Kepada keluarga Muhammad Hasyim terima kasih untuk doa dan dukungannya. Haryadi Hasyim terima kasih untuk segala dukungan, bimbingan dan arahnya. Mikeu P, Evi Kumala.D, Alda D, Jefry N.U yang menjadi rekan dalam suka dan duka selama penelitian dan penulisan skripsi.

Terima kasih kepada teman-teman terdekat : Rahmi, Hertati, Icha, Mala, Indra, Reggy, Eva, Elida, Rayan, Nuri, Reny, Lulu, Kia, Widodo, Mba Siska, Hardi, Widhi, Rian, Ardi, Rencong, Soni, Affan, Iche, Fatma, Salmin, Ulan, Egy, Orin, Tika, Hawa, Ida.

DAFTAR PUSTAKA

- Alikodra, H.S. 1990. *Studi ekologi bekantan (Nasalis larvatus) di Hutan Lindung Bukit Soeharto Kalimantan Timur*. Laporan penelitian kerjasama Depdikbud dan JICA.
- Allen, R.C., C.A. Saravis., H.R. Maurer. 1984. *Gel electrophoresis and isoelectric focusing of protein*. Walter de Gruyter. New York.
- Awise, J.C. 1994. *Molecular Markers, Natural History, and Evolution*. Chapman and Hall Inc. New York.
- Baker., Manwell. 1986. *Population Genetics, Molecular Marker and Gene Conservation of Bovine Breeds*. in : Neimann and Hickman (Ed). World Animal Science. Elsevier Health Sciences. London.
- Brown, T.A. 1999. *Genomes*. John Wiley & Sons (ASIA) PTE Ltd. Singapore.
- Bustamam, M., S. Moeljopawiro. 1998. *Pemanfaatan teknologi sidik jari DNA di bidang pertanian*. Zuriat 9 (2): 70–90.
- Chiarelli, A. B. 1971. *Comparative cytogenetic in primates and its relevance for human cytogenetics*. In B Chiarelli (ed.) Comparative genetics in monkeys, Apes and Men. Pp. 273-308. London : Academic press.

- Ellegren, H., Johansson, M., Sandberg, K., Andersson, L. 1992. *Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse*. Anita. Genet.
- Eudey, A.A. 1980. *Pleistocene glacial phenomena and the evolution of Asian macaques*. In The Macaques. Studies in Ecology, Behavior and Evolution. Edited by D.G. Lindburg. :52-83.
- Fooden, J. 1995. *FIELDIANA. Zoology*. New Series No. 81. Systematic Review of Southeast Asian Longtail Macaques, *Macaca fascicularis* (Raffles, 1821). Published by Field Museum of Natural History. USA.
- Fuentes, A., Garmel S. 2005. *Disproportionate participation by age/sex classes in aggressive interaction between long-tailed macaque (macaca fascicularis) and human tourist at padangtegal monkey forest, Bali, Indonesia*: Brief Report. America Journal of Primatology 66: 197-204.
- Groves, C. 2001. *Primate Taxonomy*. Smithsonian Institution Press. Washington and London.
- Gupta, P.K., H.S. Balyan., P.C. Sharma., B. Ramesh. 1996. *Microsatellites in plants: A new class of molecular markers*. Current Sci. 7 (1): 45–54.
- Hillis, D.M., Morits, C., Mable, B.K. 1996. *Molecular Systematics*. 2nd Edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts, USA.
- Innis, M.A., Geldfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. 1990. *PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications*. Academic Press. San Diego, New York.
- Jolly, A. 1985. *The Evolution of Primate Behavior*. 2nd Ed. Macmillan Publishing Company. New York.
- Kanthaswamy, S. 2006. *Microsatellite markers for standardized genetic management of captive colonies of reshus macaques (Macaca mulatta)*. American Journal of Primatology. 68: 73-95.
- Khan, F., Sing, A. 1990. *Principles of Genetics and Animal Breedin*. Jaypee Brother Medical Publishers. New Delhi.

- Lekagul, B., Mc, Neely. 1977. *Mamals of Thailand*. Kurusapha Ladprao Press, Bangkok.
- Lessa, E.P., G. Applbaum. 1993. *Screening techniques for detecting allelic variation in DNA sequens*. *Moleculer Ecology*, 2 : 119-129.
- Muladno. 2000. *Polimorfisme dan analisis keterpautan mikrosatelit pada genom babi*. *Hayati*, 7 (1): 11-15.
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika Pustaka Wirausaha Muda*. Bogor. Indonesia.
- Napier, J.R., P.H. Napier. 1985. *The Natural History of the Primates*. The MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
- Napier, John, R. 1970. *Paleocology and catarrhine evolution*. In J.R. Napierand P.H. Napier (eds.). *Old World Monkeys*. London : Academica Press, pp 55-95.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Colombia University Press. New York.
- Noor, R.R. 2000. *Genetik Ternak*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Noor, R.R. 2008. *Genetik Ternak*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nozawa, K., Shotake, T., Minezawa, M., Kawamoto, Y., Kawamoto, K., Kawamoto, S. 1996. *Population-genetic studies of the Javanese macaque, Macaca fuscata*. In: *Variations in the Asian Macaques*. T. Shotake and K. Wada (eds.). Tokai University Press. Tokyo, Japan.: 1-36.
- Nozawa, K., Shotake, T., Kawamoto, Y., Tanabe, Y. 1982. *Population genetic of japanese monkeys: II. Blood protein polymorphisms and population structure*. *Primates*, 23: 252-271.
- Rogers, J., Hixson, J.E. 1997. *Baboon as an animal model for genetic studies of common human disease*. *J. Human Genet.*,61: 489-493.
- Rowe, N. 1996. *The Pictorial Guide to the Living Primates*. Pogonias Press. New York.
- Smith, J.B., S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiaakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Universitas Indonesia, Jakarta.

Supriatna, J., E.H. Wahyono. 2000. *Panduan Lapangan Primata Indonesia*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.

Swindler, D.R. 1998. *Introduction to the Primates*. University of Washington Press. Seattle and London.

Tanabe, Y., H. Yokoyama., J. Murakami., H. Kano., O. Tanawaki., H. Okabayashi., Y. Maeda., C. Koshimoto., K. Nozawa., K. Tumennasan., B. Dashnyman., T. Zhanchiv. 1999. *Polymorphisms Of The Plumage Colors, The Skin Variations And Blood Proteins In The Native Chickens In Mongolia*. Report Of The Society For Researches On Native Livestock 17: 139-153.

Temnykh, S., W.D. Park., N. Ayres., S. Cartinhour., N. Hanck., L. Lipovich., Y.G. Cho., T. Ishii., S.R. McCouch. 2000. *Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (Oryza sativa L.)* Theor. Appl. Gent. 100: 697-712.

Wandia, I.N. 2001. *Polimorfisme Genetik Populasi Monyet Ekor Panjang (macaca fascicularis) di Lokasi Pariwisata, Bali*. Fakultas Kedokteran Hewan : Bali.

Wandia, I.N. 2003. *Mikrosatelit sebagai Penanda Molekul untuk Mengukur Polimorfisme Genetik Monyet Ekor Panjang di Sangeh*. Bali.

Wandia, I.N. 2007. *Struktur dan Keragaman Genetik Populasi Lokal Monyet Ekor Panjang (Macaca fascicularis) di Jawa Timur, Bali, dan Lombok*. Disertasi. PRM. IPB. Bogor. 2007.

Wandia, I.N., Putra, Arta., I.G.A., Soma.I.G. 2009. *Polimorfisme Genetik Populasi Monyet Ekor Panjang (Macaca Fascicularis) di Lokasi Pariwisata, Bali*. Fakultas Kedokteran Hewan Udayana : Bali.

Wheatley, B.P. 1980. *Feeding and ranging of East Bornean Macaca fascicularis*. In The Macaques. Studies in Ecology, Behavior and Evolution. Edited by Lindburg DG. :215-246.

Yuwono, T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Andi. Yogyakarta.

Website : www.streetdirectory.com & www.profauna.org