

## **Karakteristik Lokus Mikrosatelit D10s1432 pada Populasi Monyet Ekor Panjang Di Taman Nasional Alas Purwo Banyuwangi**

*CHARACTERISTICS OF D10S1432 MICROSATELLITE LOCUS ON LONG TAILED MACAQUE POPULATION IN TAMAN NASIONAL ALAS PURWO BANYUWANGI*

**Dini Maharani<sup>1</sup> , I Gede Soma<sup>3</sup> , I Nengah Wandia<sup>2,3\*</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Profesi Dokter Hewan

<sup>2</sup>Lab Anatomi Veteriner FKH-UNUD Denpasar

<sup>3</sup>Pusat Penelitian Satwa Primata LPPM UNUD Bukit Jimbaran

Email: [maharanidini90@gmail.com](mailto:maharanidini90@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Karakterisasi lokus mikrosatelit berbagai marka molekul untuk mengungkapkan variasi genetik populasi perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengungkapkan karakteristik lokus mikrosatelit D10S1432 yang meliputi jumlah alel, frekuensi alel, dan heterozigositas pada populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo. Sejumlah 14 sampel darah dari vena femoralis dikoleksi dari populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo sebagai sumber DNA. Ekstraksi DNA total menggunakan *QIAamp DNA Blood Kits* dari *Qiagen*. Selanjutnya lokus mikrosatelit D10S1432 diampifikasi melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sebanyak 30 siklus dengan suhu *annealing* 57°C. Variasi alel mikrosatelit dipisahkan dengan elektroforesis pada gel poliakrilamid 7% dan dimunculkan dengan pewarnaan perak. Penelitian mengidentifikasi empat jenis alel pada lokus D10S1432 dengan panjang berkisar antara 164 bp sampai 170 bp. Frekuensi alel bervariasi, yaitu alel 164 (0,10); 166 (0,32); 168 (0,29); dan 170 (0,29), serta nilai heterozigositas lokus sebesar 0,75. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo bersifat polimorfik, dan marka yang baik dapat mengungkapkan variasi genetik populasi.

Kata- kata kunci: monyet ekor panjang, karakteristik genetik, lokus mikrosatelit D10S1432, Taman Nasional Alas Purwo

### **ABSTRACT**

Characterization of microsatellite locus as molecular marker to determine the genetic variation of a population is needed. This study aimed to reveal the characteristics of the D10S1432 microsatellite locus, that were the number of alleles, allele frequencies, and heterozygosity in a population of long-tailed macaque in Taman Nasional Alas Purwo. A total of 14 blood samples from the femoral vein was collected from the population of long-tailed macaque in Taman Nasional Alas Purwo as a DNA source. Total DNA was extracted using *QIAamp DNA Blood Kits* from *Qiagen*. Furthermore, D10S1432 microsatellite locus was amplified using *Polymerase Chain Reaction* (PCR) technique by 30 cycles with annealing temperature of 57°C. Allele variation was separated by electrophoresis on 7% polyacrylamide gel and emerged by silver staining. The study identified four types of alleles with lengths ranging from 164 bp to 170 bp. Allele frequencies varied, that were allele 164 (0.10), 166 (0.32), 168 (0.29), and 170 (0.29), and the heterozygosity of the long way 0.75. It can be concluded that the D10S1432 microsatellite locus in a population of long-tailed macaque in Taman Nasional Alas Purwo is polymorphic and a good molecular marker for assessing the genetic variation in a population.

Key words: long-tailed macaque, genetic characteristics, microsatellite locus D10S1432, Taman Nasional Alas Purwo

## PENDAHULUAN

Monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis*) merupakan salah satu primata yang tersebar luas di kawasan Asia Tenggara, Lempeng Sunda, Kepulauan Filipina, dan daerah Wallace Selatan. Sekitar satu juta tahun yang lalu, monyet ekor panjang di Indonesia bermigrasi dari kawasan Asia Tenggara kemudian menuju ke Lempeng Sunda saat daerah tersebut masih menyatu dengan daratan Asia (Fooden, 1995). Monyet ekor panjang selanjutnya menyebar di kepulauan selatan Indonesia berjalan dari barat ke timur dengan Jawa Timur sebagai pintu penyebarannya (Wandia, 2007).

Kini populasi monyet ekor panjang di suatu pulau berpisah menjadi populasi yang lebih tinggi tingkat lokus variasinya di Jawa Timur. Populasi monyet ekor panjang ditemukan berada di Taman Nasional Alas Purwo dan Taman Nasional Baluran. Berdasarkan demografi populasi, monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo berada dalam populasi-populasi lokal yang terpisah satu dengan yang lain.

Keragaman genetik populasi lokal dapat dianalisis menggunakan pendekatan DNA selain pendekatan morfologi (fenotipe). Pendekatan menggunakan DNA lebih memberikan kepastian variasi genetik yang sebenarnya. Salah satu marka molekul yang banyak digunakan dalam studi genetika populasi adalah mikrosatelit. Mikrosatelit juga dikenal sebagai *Simple Sequence Repeats (SSRs)* atau *Simple Tandem Repeats (STRs)*, merupakan runutan pendek sederhana (khususnya *di-*, *tri-*, dan *tetranukleotida*) dimana terulang secara berurutan dalam genom eukariot (Hearne *et al.*, 1992). Marka mikrosatelit merupakan marka genetik yang sering digunakan selain untuk mempelajari struktur populasi (Steffen *et al.*, 1993), juga untuk mempelajari pautan (*linkage*), dan pemetaan kromosom (Silva *et al.*, 1999).

Mikrosatelit mempunyai keunggulan sebagai marka molekul yaitu dapat mendeteksi keragaman alel pada populasi/ individu karena bersifat kodominan. Selain itu, mikrosatelit memiliki tingkatan polimorfisme yang tinggi sehingga dapat mempelajari struktur genetik suatu populasi dengan lebih baik, dan mudah didekati melalui teknik PCR (Ellegren *et al.*, 1992). Akan tetapi tidak semua lokus mikrosatelit baik digunakan untuk mengungkapkan variasi genetik populasi. Lokus yang bersifat polimorfik lebih baik digunakan untuk mendeteksi variasi genetik populasi daripada yang bersifat monomorfik. Karenanya karakterisasi lokus mikrosatelit perlu dilakukan sebelum digunakan untuk mengungkapkan variasi genetik populasi.

Polimorfisme lokus mikrosatelit bervariasi pada suatu populasi. Sebagai contoh, lokus D4S2456 pada populasi monyet ekor panjang di Pura Pulaki memiliki lima alel, sementara di

populasi Mekori terdapat delapan alel (Wandia *et al.*, 2004). Penelitian yang dilakukan oleh Fedri Rell (2013) mengenai polimorfisme lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Sangeh menemukan tiga jenis alel. Namun, polimorfisme lokus tersebut pada populasi monyet ekor panjang lain belum pernah diungkapkan. Berdasarkan informasi di atas, peneliti melakukan penelitian mengenai karakteristik lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo yang berada di Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui: jumlah alel lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo, frekuensi alel lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo, dan untuk mengukur keragaman genetik (heterozigositas) populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo yang menggunakan lokus mikrosatelit D10S1432.

## **METODE PENELITIAN**

### Identifikasi dan Jumlah Alel

Identifikasi jumlah alel pada lokus D10S1432 dapat dilihat pada gel dengan menghitung pita-pita alel yang muncul pada gel akrilamid 7%. Pita yang muncul pada gel poliakrilamid adalah suatu alel mikrosatelit. Keragaman alel mikrosatelit dapat dilihat dari beda jarak migrasi alel pada gel. Dengan asumsi kodominansi, genotip ditentukan berdasarkan variasi pita alel.

### Frekuensi Alel

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

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

Keterangan:  $x_i$ : frekuensi alel  $i$

$n$  : Jumlah sampel

$n_{ii}$ : Jumlah individu yang bergenotip homozigot alel  $i$

$n_{ij}$ : Jumlah individu yang bergenotip heterozigot alel  $i$

## Heterozigositas

Keragaman genetik diukur dengan nilai heterozigositas. Nilai heterozigositas dihitung menggunakan rumus tidak bias Nei (1987) di bawah ini:

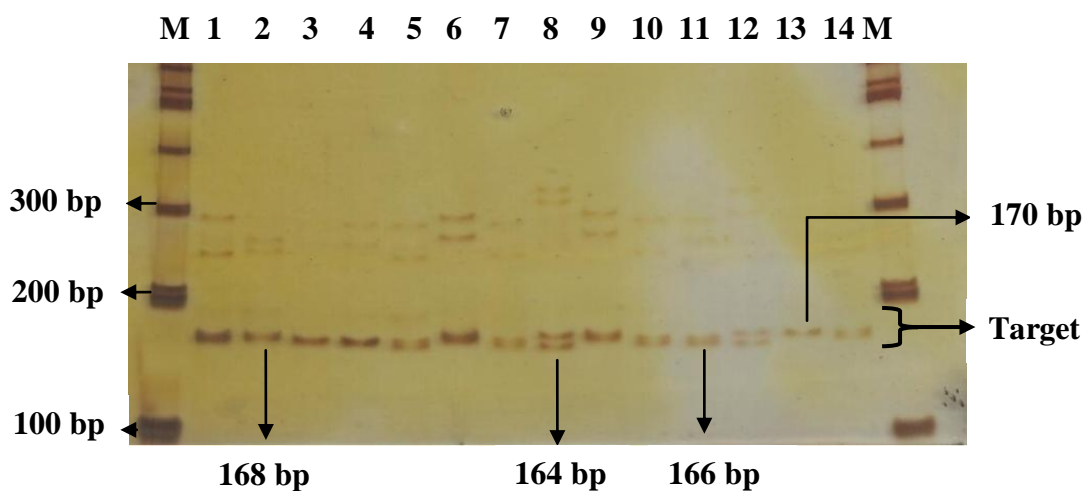
$$h = \frac{2n(1 - \sum x_i^2)}{(2n - 1)}$$

Keterangan: h: heterozigositas  
n: Jumlah sampel  
x<sub>i</sub>: Frekuensi alel i

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi dan Jumlah Alel

Pita-pita yang muncul pada gel poliakrilamid 7% setelah proses pewarnaan perak merupakan alel mikrosatelit. Identifikasi alel berdasarkan beda jarak migrasi dapat diketahui setelah melakukan elektroforesis selama 150 menit. Alel dinyatakan dengan panjang basa yang dibandingkan dengan 100 bp DNA *ladder*. Locus dinyatakan polimorfik apabila jumlah alel dalam populasi lebih dari satu dengan frekuensi alel yang paling sering muncul kurang atau sama dengan 0,95 (Wandia *et al.*, 2004).



Gambar 3. Alel lokus D10S1432 populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo Banyuwangi Jawa Timur. Nomor menyatakan sampel, M menyatakan penanda (100 bp DNA ladder). Nomor 1, 2, 6, 9 = genotip 168/ 170; 3, 4 = 166/ 166; 5 = 164/ 166; 7, 10, 11, 14 = 166/ 168; 8, 12 = 164/ 170; 13 = 170/ 170.

Sebanyak empat jenis alel teridentifikasi dengan panjang berkisar antara 164 bp sampai 170 bp, ditemukan tiga individu memiliki genotip homozigot dan 11 individu bergenotip heterozigot dari 14 individu monyet ekor panjang (Tabel 1.).

Tabel 1. Genotip monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo dengan lokus mikrosatelit D10S1432.

No.	Genotip	Jumlah Monyet (ekor)
1.	164/ 166	1
2.	164/ 170	2
3.	166/ 166	2
4.	166/ 168	4
5.	168/ 170	4
6.	170/170	1
Total	6	14

#### Frekuensi Alel

Hasil penelitian didapatkan bahwa alel 164 memiliki frekuensi terendah (0,10), sedangkan alel 166 menunjukkan frekuensi tertinggi (0,32) (Tabel 2.).

Tabel 2. Frekuensi lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo.

No.	Jenis Alel	Jumlah Alel	Frekuensi Alel
1.	164	3	0,10
2.	166	9	0,32
3.	168	8	0,29
4.	170	8	0,29
Total	4	28	1,00

#### Heterozigositas

Nilai heterozigositas lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo dihitung dengan menggunakan rumus tidak bias Nei (1987) didapatkan sebesar 0,75.

Keragaman genetik adalah perbedaan antara individu dalam populasi, antara individu dalam populasi yang berbeda dalam spesies yang sama atau dalam spesies yang berbeda. Keragaman genetik berguna untuk menentukan hubungan genetik dalam dan antara populasi yang terfragmentasi dalam suatu populasi (Hartl dan Clark, 2000), yang dapat dianalisis dengan pendekatan DNA. Salah satu teknik yang dapat digunakan untuk melakukan analisis keragaman genetik adalah DNA mikrosatelit.

Polimorfisme mikrosatelit dari genom ditetapkan dari hasil amplifikasi DNA dengan *primer* pengapit mikrosatelit. Alelnya dipisahkan dengan elektroforesis pada gel poliakrilamid yang dilanjutkan dengan pewarnaan perak (*silver staining*) sehingga DNA terdeteksi sampai kandungannya lebih kecil dari 10 µg/µl. Identifikasi pita alel yang muncul setelah elektroforesis disebut homozigot untuk satu pita dan heterozigot untuk dua pita. Genotip suatu individu diukur dengan membandingkan terhadap penanda 100 bp *ladder*. Jumlah alel yang muncul akan dapat digunakan untuk menghitung nilai frekuensi alel dan heterozigositas dalam populasi (Lessa dan Applebaum, 1993).

Hasil penelitian dengan menggunakan lokus mikrosatelit D10S1432 pada 14 monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo teridentifikasi sebanyak empat alel, terdiri dari alel 164, 166, 168, dan 170. Penelitian sebelumnya dengan menggunakan lokus yang sama pada populasi monyet ekor panjang di Sangeh teridentifikasi tiga alel (Rell, 2013). Hal ini menunjukkan bahwa polimorfisme lokus mikrosatelit bervariasi pada setiap populasi.

Alel 164 dengan frekuensi 0,10 merupakan frekuensi terendah pada populasi monyet ekor panjang yang perlu mendapat perhatian. Namun demikian, frekuensi alel tersebut masih lebih tinggi dibandingkan dengan populasi di Sangeh. Frekuensi alel terendahnya 0,05 untuk alel 186 (Rell, 2013). Rendahnya frekuensi alel kemungkinan besar sebagai akibat hanyutan genetik (*genetic drift*) atau juga bisa diakibatkan adanya mutasi terkini sehingga belum tersebar ke seluruh anggota populasi (Wandia, 2004).

Heterozigositas merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam populasi (Tanabe *et al.*, 1999). Nilai heterozigositas berkisar antara nol sampai dengan satu. Apabila heterozigositas mendekati nol maka nilai heterozigositas rendah, dimana dapat membahayakan kelestarian suatu spesies atau populasi (Nozawa *et al.*, 1996), dan apabila nilai heterozigositas mendekati satu maka nilai heterozigositas tinggi. Semakin tinggi nilai heterozigositas suatu populasi maka semakin tinggi kejadian *outbreeding* (Nei, 1987). Nilai heterozigositas monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo dengan lokus mikrosatelit D10S1432 adalah 0,75. Hasil ini mengindikasikan bahwa populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo

memiliki keragaman genetik cukup tinggi. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan nilai heterozigositas populasi monyet ekor panjang di Sangeh yang dilakukan Rell (2013) ( $h=0,48$ ). Faktor-faktor yang mempengaruhi heterozigositas antara lain mutasi, jumlah populasi efektif, pola perkawinan (acak atau terpilih), migrasi (aliran genetik), dan seleksi (heterozigositas positif dan negatif) (Nozawa *et al.*, 1982). Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo bersifat polimorfik dengan heterozigositas 0,75. Namun demikian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan keragaman genetik populasi tersebut dengan menggunakan marka mikrosatelit yang lebih banyak. Monitoring dan evaluasi keragaman 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**

Lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo bersifat polimorfik dan terdapat empat alel dengan frekuensi alel 164 (0,10); 166 (0,32); 168 (0,29); 170 (0,29). Heterozigositas populasi monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo dengan marka mikrosatelit D10S1432 sebesar 0,75.

### **SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan lokus-lokus yang berbeda untuk mendapat gambaran yang lebih jelas, dan juga untuk melengkapi data struktur genetika monyet ekor panjang di Taman Nasional Alas Purwo. Monitoring dan evaluasi variabilitas genetika populasi perlu dilakukan secara reguler sebagai bahan pertimbangan dalam penyusunan langkah konservasi.

### **UCAPAN TERIMAKASIH**

Terima kasih kepada kepala laboratorium molekuler pusat penelitian satwa primata LPPM UNUD beserta staf yang telah memberikan fasilitas laboratorium untuk penelitian.

### **DAFTAR PUSTAKA**

Ellegren H., Johansson M., Sandberg K., and Andersson L. 1992. Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse. *Animal Genetics*. 23(2): 133-142.

- Fooden J. 1995. *FIELDIANA. Zoology*. New Series No. 81. Systematic Review of Southeast Asian Longtail Macaque, *Macaca fascicularis* (Raffles, [1821]). *Fieldiana: Zoology*. (81): 1-206.
- Hartl DL., and Clark AG. 2000. Principles of Population Genetics. Sinauer Associates Inc., Sunderland Massachusetts. 3<sup>rd</sup> Eds, Ch.3, pp.85-107.
- Hearne CM., Ghosh S., and Todd JA. 1992. Microsatellites for linkage analysis of genetics traits. *Trends Genet.* 8(8): 288-94.
- Lessa EP., and Applebaum G. 1993. Screening techniques for detecting allelic variation in DNA sequens. *Molecular Ecology*. 2(2): 119-129.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.
- Nozawa K., Shotake T., Kawamoto Y., and Tanabe Y. 1982. Population genetic of japanesemonkeys: II. Blood protein polymorphisms and population structure. *Primates*. 23(2): 252-271.
- Rell F. 2013. Polimorfisme lokus mikrosatelit D10S1432 pada populasi monyet ekor panjang di Sangeh. *Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan*. 1(1): 16-21.
- Silva F., Gusmao L., and Amorim A. 1999. Segregation analysis of tetra and pentanucleotide short tandem repeat polymorphism: Deviation from Mendelian expectations. *Electrophoresis*. 20(8):1697-1701.
- Steffen P., Eggen A., Dietz AB., Womack JE., Stranzinger G., and Fries R. 1993. Isolation and mapping polymorphic microsatellites in cattle. *Anim. Genet.* 24(2):121-124.
- Tanabe Y., Yokoyama H., Murakami J., Kano H., Tanawaki O., Okabayashi H., Maeda Y., Koshimoto C., Nozawa K., Tumennasan K., Dashnyam B., and Zhanchiv T. 1999. Polymorphisms Of The Plumage Colors, The Skin Variations And Blood Proteins In The Native Chickens In Mongolia. 17(2): 139-153.
- Wandia IN. 2007. Struktur dan Keragaman Genetik Populasi Lokal Monyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) di Jawa Timur, Bali, dan Lombok. Disertasi. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Wandia, IN., Mansjoer SS., dan Suryobroto B. 2004. Polimorfisme Genetik Monyet Ekor Panjang di Daerah Pariwisata Uluwatu Bali. 5(2):67-76.