

Karakteristik Locus Mikrosatelit D8S1100 pada Populasi Monyet Ekor Panjang di Gunung Pengsong Lombok

(CHARACTERISTIC OF THE D8S1100 MICROSATELLITE LOCUS IN THE POPULATION OF LONG TAILED MACACA AT MOUNT PENGSONG LOMBOK)

Santri Devita Sari Gurning¹, I Nengah Wandia², I Gede Soma²

¹Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan,
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana,

Jl. P.B. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234; Telp/Fax: (0361) 223791

²Pusat Penelitian Satwa Primata- Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali, Indonesia
e-mail: gurningsantri11@gmail.com

ABSTRAK

Polimorfisme suatu lokus pada suatu populasi penting diketahui untuk dapat melihat suatu populasi dalam keadaan aman atau terancam. Penelitian ini ditujukan untuk mengkarakterisasi lokus mikrosatelit D8S1100 pada populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong dan mendapatkan informasi mengenai status polimorfisme. Sejumlah 15 sampel darah dikoleksi dari populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong sebagai sumber DNA. Locus mikrosatelit D8S1100 diamplifikasi dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dengan suhu *annealing* 54°C sebanyak 30 siklus. Selanjutnya alel dipisahkan dengan elektroforesis pada gel poliakrilamid 8% selama 90 menit dan dimunculkan dengan pewarnaan perak. Penelitian menemukan tiga jenis alel pada lokus mikrosatelit D8S1100 pada populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong. Masing-masing alel 183, 186, dan 189 memiliki frekuensi berurutan sebesar 0,43, 0,47, dan 0,10. Heterozigositas lokus mikrosatelit D8S1100 pada populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong sebesar 0,60. Nilai X^2 yang didapat adalah 5,62 nilai ini lebih kecil dari X^2 tabel pada $\alpha = 0,05$ untuk $dF = 3$ sebesar 7,82 yang artinya populasi monyet di Gunung Pengsong masih melakukan perkawinan acak. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa lokus mikrosatelit D8S1100 bersifat polimorfik pada populasi monyet ekor panjang di Gunung pengsong dan populasi tersebut masih melakukan perkawinan acak (berada dalam Kesetimbangan Hardy-Weinberg).

Kata-kata kunci: Locus mikrosatelit D8S1100, monyet ekor panjang, Gunung Pengsong.

ABSTRACT

Polymorphism of a locus in a population is important to observe a population whether it is in safe or threatened condition. This research is aiming for characterizing the D8S1100 microsatellite locus from the long tailed macaca's populations at Mount Pengsong and for obtaining informations on polymorphism status. A total of 15 samples of blood were collected from a long-tailed macaca's population at Mount Pengsong as the DNA source. Total DNA was extracted using QIAmp DNA Blood Mini Kit from Qiagen. The microsatellite D8S1100 was amplified by PCR (Polymerase Chain Reaction) technique at 54°C annealing temperature for 30 cycles. Subsequently the allele was separated by electrophoresis on an 8% polyacrylamide gel for 90 minutes and displayed in silver staining. The research found three types of alleles at the D8S1100 microsatellite locus in long-tailed macaca's populations on Mount Pengsong with sizes 183 bp to 189 bp. Each alel of 183, 186, and 189 has a sequential frequency of 0.43, 0.47, and 0.10. Heterozygosity of the D8S1100 microsatellite locus in long tailed macaca's populations at Mount Pengsong is 0.604. The value of X^2 which is obtained is 5.62, this value is smaller than X^2 table at $\alpha = 0.05$ for $dF = 3$ of 7.82. From the results of the reseach it can be concluded that the D8S1100 microsatellite locus is polymorphic in long-tailed macaca

populations on Mount Pengsong and the population still perform random mating (within the Hardy-Weinberg Equilibrium).

Keywords: Microsatellite locus D8S1100, long tail macaca, Mount Pengsong

PENDAHULUAN

Struktur genetik suatu spesies sangat membantu dalam hal melihat keragaman suatu populasi. Keragaman genetik suatu populasi dapat didekati pada berbagai jenjang, seperti keragaman alel pada protein (lokus struktural) (Takenaka *et al.*, 1985), polimorfisme situs pemotongan DNA oleh enzim (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Yoshimi dan Takasaki, 2003), polimorfisme runutan DNA (Kim *et al.*, 1998), keragaman alel pada jumlah salinan DNA berulang dari daerah hipervariabel DNA minisatelit (*variable Number Tandem Repeats*) (Krawczak dan Schmidtke, 1994), analisis *randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD) (Neveu *et al.*, 1996) dan polimorfisme mikrosatelit (Wirth, 2000).

Variabilitas genetik suatu populasi dapat diungkap dengan menggunakan berbagai marka molekul (Muladno, 2000). Marka molekuler mikrosatelit merupakan marka yang sering digunakan dalam studi genetika populasi. Penggunaan marka molekuler ini memberikan hasil yang lebih baik dalam melihat varian genetik populasi dibandingkan dengan marka protein dikarenakan marka mikrosatelit merupakan segmen langsung dari genom (DNA) sehingga variasi genetik yang ditemukan mencerminkan variasi genetik yang sebenarnya (Smith *et al.*, 2000). Selain itu, mutasi pada mikrosatelit berupa penambahan atau pengurangan jumlah motif menyebabkan variasi alel mikrosatelit sangat mudah dibedakan dengan teknik elektroforesis (Narvell *et al.*, 2000). Berbagai penelitian eksplorasi lokus mikrosatelit pada satwa primata dengan menggunakan primer mikrosatelit manusia telah dilakukan (Kanthasmawiy *et al.*, 2006).

Variasi ukuran alel suatu lokus antar populasi berkaitan dengan beragamnya faktor dan intensitasnya yang mempengaruhi evolusi mikro suatu populasi seperti *inbreeding*, mutasi, seleksi ukuran populasi yang terbatas, hanyutan genetik (*gene drift*), dan aliran gen (*gen flow*). Kesetimbangan Hardy-Weinberg menegaskan bahwa frekuensi alel dan genotip suatu populasi (*gene pool*) selalu konstan dari generasi ke generasi dengan kondisi tertentu. Namun tidak menutup kemungkinan terjadi gangguan dalam kesetimbangan ini (Hartl dan Clark, 2000).

Sebaran jumlah alel suatu lokus tidak sama antara populasi satu dengan populasi lainnya. Penelitian menggunakan lokus mikrosatelit D8S1100 telah dilakukan di Bukit Gumang, Karangasem, Bali oleh Rumba *et al.* (2013). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa

lokus mikrosatelit D8S1100 bersifat monomorfik pada populasi monyet ekor panjang di Bukit Gumang. Bagaimana karakteristik lokus ini pada populasi lain seperti Gunung Pengsong perlu diungkapkan.

Populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong menempati suatu habitat alami yang luasnya lebih kurang 11 hektar. Populasi monyet ekor panjang Gunung Pengsong terisolasi longgar. Lokasi yang telah diresmikan menjadi objek wisata oleh pemerintah Kabupaten Lombok Barat sejak tahun 1996 ini ditempati oleh 2 kelompok sosial dengan jumlah total monyet ekor panjang 81 ekor (Wandia, 2007). Keberadaan populasi yang terisolasi menimbulkan peluang terjadinya *inbreeding* (kawin antar keluarga) dan aliran genetiknya (*gene flow*) menjadi rendah. Keadaan ini jika terus berlanjut menyebabkan variasi genetik dalam populasi tersebut menjadi rendah dan akan mengancam populasi *in situ* (Wandia *et al.*, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi lokus mikrosatelit D8S1100 pada populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong Lombok.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Sejumlah 15 sampel darah populasi monyet ekor panjang Gunung Pengsong Lombok. Perlengkapan perlengkapan ekstraksi DNA dengan QIAamp DNA Blood Kits dari Qiagen, medium transport ethanol, Taq DNA Polymerase, larutan *buffer* dan dNTP, acrylamide, TBE, APS, TEMED, *Loading dye*, marker (100-bp ladder, Invitrogen), Aquadest dan primer D8S1100(R: 5'CCAGAGTACCTGGCATATGG3', F: 5'CTGTGATTATTGCAAACCCC3') dengan panjang 183-193 bp (Bacchelli, 2005).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mesin PCR (Applied Biosystem 2720 Thermal Cycler), sentrifugator, alat pendinging, vortex, shaker, tabung eppendorf besar dan kecil beserta rak, gelas ukur, pipe mikro, tips, alat elektroforesis, seperangkat pewarnaan perak, kamera digital, tissue, hand gloves dan masker.

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *observational explorative* dengan teknik pengumpulan data secara *random sampling* yakni sampel darah diambil dari populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong Lombok. Sampling monyet telah dilakukan pada tahun 2007 dan darahnya disimpan di Laboratorium Molekuler Pusat Penelitian Satwa Primata, Universitas Udayana.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA menggunakan *QIAamp DNA Blood Kits* produksi Qiagen. Sebanyak 20 μL protease Qiagen, 200 μL sampel darah, dan 200 μL buffer AL dimasukkan ke dalam eppendorf 1,5 μL yang selanjutnya dicampur dengan menggunakan vortex selama 15 detik. Campuran ini dinkubasikan pada suhu 56°C selama 10 menit, kemudian dipusing beberapa saat untuk menurunkan embun yang menempel pada tutup eppendorf. 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. Campuran ini dimasukkan ke dalam *QIAamp spin column* dan dipusingkan pada 6000 x g selama 1 menit setelah ditutup terlebih dahulu. Selanjutnya, *spin column* diletakkan di dalam tabung 2 ml yang baru, dan tabung yang mengandung filtrate dibuang. Tutup *spin column* dibuka hati-hati, dan 500 μL buffer AW1 dimasukkan. *Spin column* diletakkan di dalam tabung 2 ml yang baru, dan tabung yang mengandung filtrate dibuang. Sebanyak 500 μL AW2 dimasukkan de dalam *spin column*, dan dipusing pada 14000 x g selama 3 menit. *Spin column* dimasukkan de dalam tabung 1,5 ml, ditambahkan 200 μL buffer AE, diinkubasi pada suhu ruangan (15-25°C) selama satu menit, dan dipusingkan pada 6000 x g selama satu menit (Wandia, 2007).

Amplifikasi Lokus Mikrosatelit

Lokus mikrosatelit diamplifikasi melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan menggunakan satu set primer yang mengapit lokus mikrosatelit tersebut. PCR dilakukan selama 30 siklus dengan tahapan sebagai berikut: Tahapan *denaturasi* (94 °C) selama 35 detik, *annealing* (57 °C) selama 35 detik dan *elongasi* (72 °C) selama 35 detik; dan post PCR elongasi (72 °C) selama 5 menit.

Elektroforesis

Gel poliakrilamid 8% dibuat dengan langkah sebagai berikut; untuk sediaan 25 ml, dimasukkan air (DW) 15,8 ml ke dalam gelas beker. Selanjutnya ditambahkan 10 x TBE sebanyak 5 ml, acrylamide 30% sebanyak 6,7 ml, 10% APS sebanyak 150 μL , Temed sebanyak 15 μL , kemudian campuran digoyang hingga homogen. Kemudian dituangkan ke dalam cetakan gel vertikal yang telah disiapkan. Lalu sisir diletakkan di atas cetakan gel untuk membentuk sumur-sumur pemuat dan biarkan sampai campuran memadat menjadi gel.

Kemudian mikroliter produk PCR dicampurkan dengan 0,2 μL 5 x *loading dye* kemudian masukkan ke dalam sumur pada gel acrylamide yang sebelumnya telah disiapkan.

Lalu hidupkan alat elektroforesis tegangan 170 volt selama 90 menit. Setelah selesai gel disiapkan untuk pewarnaan perak.

Pewarnaan Perak

Pita dimunculkan dengan pewarnaan perak (*silver staining*) dengan langkah; gel yang sudah dielektroforesis dilepas dari cetakan dan ditempatkan pada wadah gel. Tuangkan larutan ke-1 (terdiri dari CTAB 0,2 g dalam air deionase 200 ml) ke dalam wadah gel, dan dibiarkan gel terendam selama 5 menit sambil digoyangkan. Larutan ke-1 dibuang, kemudian gel dicuci dengan 150 ml air deionase selama lima menit. Air dibuang, lalu dituangkan larutan ke-2 (2,4 ml NH₄OH dalam air deionase 200 ml) sambil digoyangkan selama lima menit. Larutan ke-2 dibuang, selanjutnya masukkan larutan ke-3 (0,32 g AgNO₃, 0,08 ml NaOH, 0,8 ml NH₄OH dalam air deionase 200 ml), dan digoyang selama lima menit. Buang larutan ke-3 dan cuci dengan 150 ml air deionase selama dua menit sebanyak dua kali. Air bekas pencucian dibuang, lalu tambahkan larutan ke-4 (4 g Na₂CO₃, 100 µL formaldehida dalam air deionase 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 µL dan ditambah air deionase 200 ml) untuk menghentikan reduksi perak. Selanjutnya, gel dapat dipacking atau direndam dulu dengan gliserol 20% sebelum dipack untuk tujuan penyimpanan yang lama.

Analisa Data

Jumlah alel

Pita yang muncul pada gel poliakrilamid adalah suatu alel mikrosatelit. Keragaman alel mikrosatelit dapat dilihat dari beda jarak migrasi alel pada gel (Wandia, 2007).

Frekuensi alel

Frekuensi alel dihitung dengan rumus Nei (1987), sebagai berikut:

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

Keterangan:

x_i : frekuensi alel

n : jumlah sampel

n_{ii} : jumlah individu yang bergenotipe homozygote alel i

n_{ij} : jumlah individu yang bergenotipe heterozigot dengan alel i

Heterozigositas

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

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

Keterangan:

h : heterozigositas

n : jumlah sampel

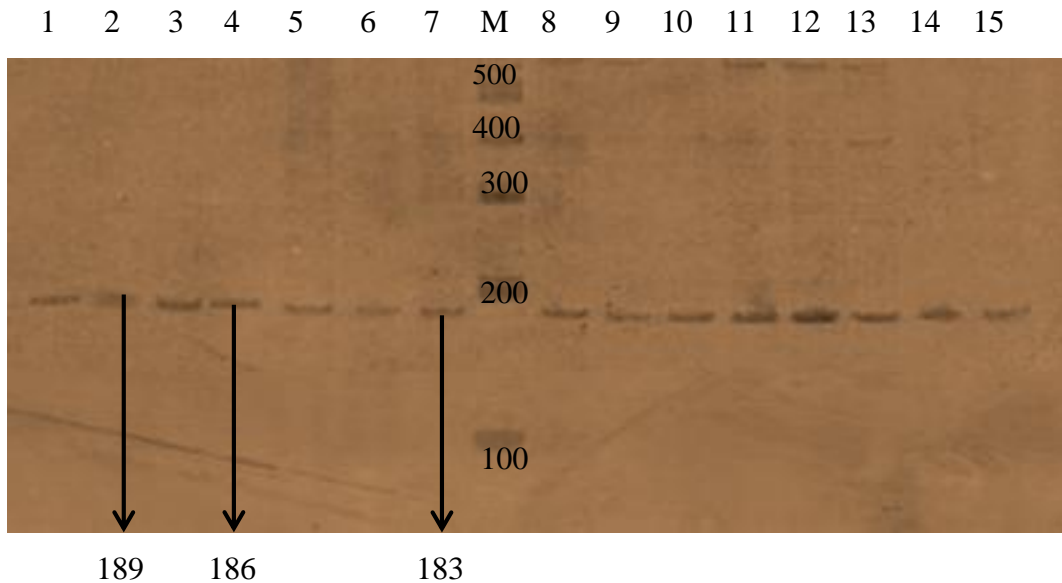
x_i : frekuensi alel ke-i

Keseimbangan Hardy-Weinberg

Untuk mengkaji apakah sebaran alel mengikuti keseimbangan Hardy-Weinberg (kondisi kawin acak) digunakan uji *Chi-Square* dengan selang kepercayaan 95%. dan derajat bebas sebesar total kemungkinan genotipe dikurangi jumlah alel (Allendorf *et al.*, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Alel masing-masing lokus mikrosatelit diidentifikasi melalui pita yang dimunculkan pada gel poliakrilamid 8%. Jumlah dan panjang alel dapat diketahui dengan menghitung jarak migrasi antar alel yang tampak pada gel poliakrilamid. Identifikasi genotipe sampel pita alel yang muncul setelah pewarnaan perak dinyatakan homozigot untuk satu pita dan heterozigot untuk dua pita (Maharani *et al.*, 2014). Pewarnaan perak mendeteksi DNA sampai kandungan lebih kecil dari 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (Allen *et al.*, 1984). Identifikasi pada pewarnaan perak gel poliakrilamid 8% didapat tiga buah alel pada lokus mikrosatelit D8S1100 dengan panjang 183, 186 dan 189 bp.



Gambar 1. Alel Lokus Mikrosatelit D8S1100. Nomor menyatakan sampel (individu), huruf M menyatakan penanda (100 bp ladder). Genotipe 1 = 186/186; 4 = 186/189; 3 = 183/189; 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15 = 183/186; 9 = 183/183.

Berdasarkan pita yang muncul pada gel poliakrilamid 8% dapat dinyatakan lokus mikrosatelit D8S1100 bersifat polimorfik dengan frekuensi masing-masing alel 183 (0.43), 186 (0.47), dan 189 (0.1) (Tabel 1). Hal ini didukung oleh pendapat Wandia *et al.* (2009) yang menyatakan Polimorfisme suatu alel menunjukkan variasi struktur genetik dalam suatu alel. Suatu lokus dinyatakan polimorfik apabila terdapat lebih dari satu alel dalam pita yang dimunculkan oleh gel poliakrilamid dengan frekuensi alel yang paling umum kurang atau sama dengan 0.95. Dari 15 monyet ekor panjang pada populasi Gunung Pengsong yang diteliti, dua individu bergenotipe homozigot dan 13 lainnya bergenotipe heterozigot (Tabel 1). Populasi dengan polimorfisme genetik rendah cenderung jangka panjang hidupnya terancam sehingga perlu pemilihan langkah-langkah penyelamatan populasi yang tepat kedepannya. (Wandia *et al.*, 2009).

Tabel 1. Frekuensi Alel Lokus Mikrosatelit D8S1100 Monyet Ekor Panjang di Gunung Pengsong

No	Genotip	Jumlah Alel	Frekuensi
1	183	13	0.43
2	186	14	0.47
3	189	3	0,10
Total	3	30	1,00

Nilai heterozigositas dari lokus mikrosatelit D8S1100 dihitung menggunakan rumus tidak bias dari Nei (1987) sebagai berikut:

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

$$h = \frac{2(15)}{2(15)-1} (1 - (0,43^2 + 0,47^2 + 0,1^2))$$

$$h = \frac{30}{29} (1 - 0,4158)$$

$$h = 0,60$$

Hasil uji *Chi-Square* yang diperoleh dari populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong, Lombok Barat adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{dF (derajat bebas)} &= \text{genotipe} - \text{alel} \\ &= 6 - 3 \\ &= 3 \end{aligned}$$

$$X^2 = \sum \frac{(\text{Observed} - \text{Expected})^2}{\text{Expected}}$$

Keterangan:

Genotipe : Jumlah kemungkinan genotipe yang muncul

Alel : Jumlah alel yang muncul

Nilai X^2 tabel dengan $\alpha = 0,05$ dan $\text{dF} = 3$ adalah 7,82 dan hasil X^2 hitung yang didapat sebesar 5,63. Dari hasil ini didapat X^2 hitung lebih kecil dari X^2 tabel, dapat disimpulkan bahwa populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong berada dalam Kesetimbangan Hardy-Weinberg.

Lokus mikrosatelit yang sama yang pernah dilakukan penelitian oleh Rumba *et al.* (2013) mendeteksi satu buah alel saja pada populasi monyet ekor panjang di Bukit Gumang,

Karangasem, Bali. Hal ini menunjukkan perbedaan dari sebaran jumlah alel suatu lokus antara populasi satu dengan populasi lainnya (polimorfisme lokus mikrosatelit bervariasi).

Frekuensi alel 189 memiliki frekuensi paling rendah yaitu 0,10 Rendahnya frekuensi sejumlah alel kemungkinan besar akibat dari *random genetic drift* (Wandia, 2001). Kemungkinan lainnya alel tersebut merupakan produk mutasi terkini hingga belum tersebar keseluruh anggota populasi.

Keanekaragaman genetik dapat dilihat dari tingkat heterozigositas. Nilai heterozigositas berkisar antara nol sampai dengan satu. Apabila nilai heterozigositas mendekati nol maka nilai heterozigositasnya rendah yang menandakan terjadinya perkawinan dengan kerabat dekat yang dapat membahayakan kelestarian suatu populasi. Bila nilai heterozigositasnya mendekati satu maka nilai heterozigositasnya tinggi yang menandakan tinggi pula keragaman genetik suatu populasi (Nei, 1987). Nilai heterozigositas lokus mikrosatelit D8S1100 pada populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong adalah 0,60. Dari hasil ini dapat diidentifikasi bahwa populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong memiliki tingkat keragaman genetik yang cukup tinggi. Nilai ini jauh lebih tinggi dari hasil identifikasi pada penelitian yang dilakukan oleh Rumba *et al.* (2013) pada populasi monyet ekor panjang di Bukit Gumang, Karangasem, nilai heterozigositas yang diidentifikasi adalah nol dikarenakan sifat lokus mikrosatelit D8S1100 yang monomorfik homozigot.

Dasar-dasar frekuensi alel dan genetik dalam suatu populasi yang ditemukan oleh Hardy-Weinberg menegaskan bahwa frekuensi alel dan genotip suatu populasi (*gene pool*) selalu konstan dari generasi ke generasi dengan kondisi tertentu. Jika terjadi penyimpangan pada frekuensi alel atau genetik dari kesetimbangan yang diharapkan maka sedang terjadi evolusi dalam populasi tersebut. Penyimpangan tersebut dapat berupa tidak terjadinya perkawinan acak, mutasi, seleksi, ukuran populasi yang terbatas, hanyutan genetik (*gene drift*), dan aliran gen (*gen flow*). Melalui analisa uji *Chi-Square* (X^2) yang dilakukan untuk mengungkap adanya penyimpangan struktur genetik terhadap Kesetimbangan Hardy-Weinberg didapat nilai $X^2 = 5,62$ dan X^2 tabel dengan $\alpha=5\%$ adalah 7,82 (untuk $df=3$) pada populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong, Lombok Barat. Dikarenakan nilai X^2 hitung lebih kecil dari X^2 tabel maka populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong, Lombok Barat tidak mengalami penyimpangan Kesetimbangan Hardy-Weinberg dengan kata lain berada dalam kesetimbangan Hardy-Weinberg.

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa diversitas genetika monyet ekor panjang di Gunung Pengsong dengan menggunakan marka molekul mikrosatelit D8S1100

cukup tinggi, lokus mikrosatelit D8S1100 bersifat polimorfik dan populasi monyet ekor panjang yang ada di Gunung Pengsong masih menunjukkan pola perkawinan acak.

SIMPULAN

Diidentifikasi tiga alel lokus mikrosatelit D8S1100 dengan panjang 183 bp, 186 bp, dan 189 bp dengan frekuensi berurutan 0,43; 0,47; dan 0,10 pada populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong. Heterozigositas lokus mikrosatelit D8S1100 sebesar 0,60. Distribusi alel lokus mikrosatelit D8S1100 pada populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong berada dalam Kesetimbangan Hardy-Weinberg.

SARAN

Penelitian yang sama menggunakan lokus mikrosatelit yang berbeda pada populasi monyet ekor panjang di Gunung Pengsong perlu dilakukan untuk memastikan polimorfisme genetik populasi tersebut. Pengkajian data polimorfisme genetik dalam suatu populasi akan sangat membantu dalam mengetahui status dini dari variasi genetik suatu populasi dan dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan konservasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada staf Laboratorium Molekular Pusat Penelitian Satwa Primata, Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Udayana yang telah membantu untuk menyelesaikan penelitian ini. Terima kasih juga untuk Tina dan Eby rekan-rekan satu penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen RC, Saravis CA, Maurer HR. 1984. *Gel Electrophoresis and Isoelectric Focusing of Protein*. New York: Walter de Gruiter.
- Allendorf FW, Luikart GH, Aitken SN. 2013. *Conservation and The Genetics of Population*. 2nd Edition. Malden, MA: Wiley-Blackwell.
- Bacchelli C. 2005. Investigating the Molecular Basis of Jeune and Cenani-Lenz Syndromes. Molecular Medicine Unit. London: Institute of Child Health.
- Hartl DL, Clark AG. 2000. *Principles of Population Genetics*. 3rd Edition. Sunderland Massachusetts: Sinaeus Assosiatess Inc. Pp. 85-107.
- Kanthaswamy S, Dolen AV, Kurushima JD, Alminas O, Roger J, Ferguson B, Lerche NW, Allen PC, Smith DG. 2006. Microsatellite marker for standardized genetic management of Captive Colonies of Reshus macaques (*Macaca mulatta*). *American Journal of Primatology* 68: 73-95.
- Krawczak M, Schmidtke J. 1994. *DNA fingerprinting*. Oxford: Bios Scientific Publishers.
- Kim KS, Lee SU, Jeong HW, Ha JH. 1998. The Complete Nucleotide Sequence of the Domestic Dog (*Cani Familiaris*) Mitochondrial Genome. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 10(2): 210-220.

- Maharani D, Soma IG, Wandia IN. 2014. Karakteristik Lokus mikrosatelit D10S1432 pada Populasi Monyet Ekor Panjang di Taman Nasional Alas Purwo, Banyuwangi. *Indonesia Medicus Veterinus* 3 (3):244-251.
- Muladno. 2000. Polimorfisme dan analisis keterpautan mikrosatelit pada genom babi. *Hayati* 7(1): 11-15.
- Narvell JM, Fehr CWR, Cregan PB, Shoemaker RC. 2000. Development of Multiplex Sets of Simple Sequence Repeat DNA markers Covering the Soybean Genome. *Mol. Breed.* 6: 175-183.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Colombia University Press.
- Neveu H, Montagnon d, Rumpler Y. 1996. Paternity Discrimination in Four Prosimian Species by the Random Amplified Polymorphic DNA Method. *Folia Primatol.* 67: 157-162.
- Rumba J.N, Putra I G.A.A, Wandia I N. 2013. Karakteristik Lokus Mikrosatelit D8S1100 pada Populasi Monyet Ekor Panjang d Bukit Gumang, Karangasem, Bali. *Indonesia Medicus Veterinus* 2(1): 115-125.
- Smith DG, Kanthasmaway S, Viary J, Cody L. 2000. Additional Higly Polymorphic Microsatellites (STR) Loci for Estimating Kinship in Rhesus Macaques (*Macaca mullata*). *American Journal of Primatology* 50: 1-7.
- Takenaka O, Hotta M, Takenaka A, Kawamoto Y, Suryobroto B, Brotoisworo E. 1985. Origin and Evolution of the Sulawesi Macaque. Electrophoresis Analysis of Hemoglobins. *Kyoto University Overseas Research Report of Studies on Asian Non-Human Primates* 4: 5-17.
- Wandia IN. 2007. Struktur dan Keragaman Genetik Populasi Lokal Monyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) di Jawa Timur, Bali, dan Lombok. (Disertasi). Bogor, Indonesia: Institut Pertanian Bogor.
- Wandia IN, Putra IGAA, Soma IG. 2009. Polimorfisme Genetik Populasi Moyet Ekor Panjang (*Macaca fascicularis*) di Lokasi Pariwisata, Bali. Laporan Penelitian Tahun Anggaran 2009 DIPA Universitas Udayana: Bali.
- Wirth T. 2000. Isolation and Characterization of Microsatelite Loci in The Land Snail *Helicella Itala*, and Cross-species Amplification WithinThe Family *Helicidae*. *Molecular Ecology* 9: 489-504.
- Yoshimi I, Takasaki H. 2003. Long Distance Mobility of Male Japanese Macaques Evidenced by Mitochondrial DNA. *Primates* 44: 7.