

Struktur Genetika Populasi Monyet Ekor Panjang Di Alas Kedaton Menggunakan Marka Molekul Mikrosatelit D18S536

Alda dasril lumban gaol¹, I ketut suatha², I nengah wandia¹

¹Lab Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan

²Lab Pusat Penelitian Satwa Primata Universitas Udayana
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
Jl. P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp, 0361-223791
Email : dasrillumbangaol@yahoo.co.id

ABSTRAK

Struktur genetika populasi adalah kondisi intrinsik (genetik) suatu populasi. Pengungkapan struktur genetika dapat memberikan gambaran apakah kehidupan suatu populasi dalam keadaan aman atau terancam. Populasi dengan struktur genetika yang tinggi akan membuat potensial evolusi yang baik terhadap faktor-faktor yang bersifat stokastik. Pada tingkat DNA dengan menggunakan marka molekul mikrosatelit struktur genetika suatu populasi dapat diungkap. Marka molekul mikrosatelit merupakan segmen langsung dari genom (DNA) sehingga variasi genetik yang ditemukan mencerminkan variasi genetik yang sebenarnya. Penelitian menggunakan lokus mikrosatelit D18S536 untuk mengkaji struktur genetika populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton yang meliputi jumlah dan jenis alel, frekuensi alel, dan heterosigositas. Sejumlah 16 sampel darah dari populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton sebagai sumber DNA. DNA diekstraksi dengan menggunakan QIAamp DNA Blood Mini Kit dari Qiagen. Lokus mikrosatelit D18S536 kemudian di PCR, sebanyak 30 siklus dengan suhu *annealing* 45⁰ C. Selanjutnya, pada gel poliakrilamid 7% alel dipisahkan dengan elektroforesis dan dimunculkan dengan pewarnaan perak. Hasil penelitian mengidentifikasi 5 jenis alel pada lokus D18S536 dalam populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton dengan panjang alel berkisar antara 160-176 pasang basa. Frekuensi alel bervariasi, alel 160 (0,31) memiliki frekuensi tertinggi di susul alel 164 (0,22), alel 168 (0,22), alel 172 (0,19) dan alel 176

(0,06). Heterosigositas populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton menggunakan lokus D18S536 sebesar 0,79. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa lokus D18S536 pada populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton bersifat polimorfik.

Kata – kata kunci : Struktur Genetika, Populasi Monyet Ekor Panjang, Mikrosatelit D18S536, Alas Kedaton

PENDAHULUAN

Negara Indonesia mempunyai keanekaragaman satwa liar yang tinggi dan tersebar di beberapa tipe habitat. Salah satu satwa liar yang ada di Indonesia adalah monyet ekor panjang. Monyet ini tersebar di Asia Tenggara antara 20⁰LU-10⁰LS dan antara 92⁰BT-128⁰BT (Wheatley, 1980 dalam Linbrung).

Di Bali habitat monyet ekor panjang cukup luas dan tersebar di berbagai kawasan. Tidak kurang dari 42 populasi lokal monyet ekor panjang ditemukan di Pulau Bali (Pusat Penelitian Satwa Primata Universitas Udayana, 2001). Beberapa lokasi tersebut digunakan sebagai objek wisata antara lain Sangeh, Ubud, Alas Kedaton, Uluwatu, Pulaki, dan Bedugul.

Alas Kedaton merupakan salah satu tempat wisata yang terletak di desa Kukuh, Kecamatan Marga, Tabanan, Bali. Alas Kedaton dengan luas \pm 12 hektar selain merupakan hamparan hutan sekunder juga merupakan habitat monyet ekor panjang yang keberadaannya di lokasi ini sudah lebih 30 tahun yang lalu (Kawamoto *et al.*, 1984). Alas Kedaton merupakan tempat wisata yang banyak dikunjungi oleh para wisatawan dalam negeri dan luar negeri. Di Alas Kedaton terdapat satu populasi monyet ekor panjang yang keberadaannya terisolasi dari populasi yang lain. Hal ini disebabkan oleh adanya fragmentasi hutan menjadi lahan pertanian, perumahan, dan industri.

Populasi yang terisolasi, peluang terjadinya kawin antar keluarga (*inbreeding*) menjadi tinggi dan aliran genetiknya (*gen flow*) menjadi rendah. Keadaan yang seperti ini, jika terus terjadi akan menyebabkan variasi genetik

(*heterosigositas*) dalam populasi tersebut menjadi rendah, dan akan mengancam populasi *in situ*.

Struktur genetik populasi berperan penting dalam penyusunan strategi konservasi. Sebelum pengambilan tindakan konservasi suatu populasi, langkah pertama yang dilakukan adalah penentuan status struktur populasi tersebut. Struktur genetik populasi sangat diperlukan sebagai bahan pertimbangan untuk menentukan apakah populasi ini dalam keadaan aman atau terancam. Berdasarkan hal tersebut struktur genetik populasi penting untuk diketahui agar dapat ditentukan apakah suatu populasi dikelola sebagai unit manajemen berbeda atau tidak, karena jika hal ini tidak dilakukan dapat menimbulkan dampak yang kurang baik pada populasi tersebut (Wandia *et al.*, 2009)

Struktur genetik dapat diungkap dengan materi genetik berupa protein dan DNA. Pada tingkat DNA struktur genetik dapat diungkap dengan mikrosatelit. Berbeda halnya dengan marka protein, mikrosatelit merupakan segmen langsung dari genom (DNA) sehingga variasi genetik yang ditemukan merupakan pencerminan variasi genetik yang sebenarnya. Variasi genetik mikrosatelit yang tinggi merupakan marka molekuler yang baik untuk kajian genetika populasi (Smith *et al.*, 2000). Mikrosatelit sebagai penanda molekuler telah digunakan secara luas di berbagai studi genetika populasi (Rogers, 2005) karena keunggulan yang dimilikinya seperti kelimpahannya yang tinggi dalam genom eukariot, variasi genetiknya tinggi akibat mutasi, dan amplifikasinya mudah secara *in vitro* melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Penelitian monyet ekor panjang di Bali menggunakan marka mikrosatelit telah dilakukan oleh Wandia (2003). Penelitian menggunakan marka molekuler mikrosatelit D18S536 pada monyet ekor panjang di Alas Kedaton, Bali belum pernah dilakukan. Oleh karena itu peneliti tertarik melakukan penelitian struktur genetika populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton dengan marka molekul D18S536.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan : Berapa jumlah alel lokus mikrosatelit D18S536 pada populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton? Berapa frekuensi alel lokus mikrosatelit D18S536 pada

populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton? Berapa nilai heterosigositas yang ditemukan dengan menggunakan marker mikrosatelit D18S536 pada populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton?

Tujuan penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jumlah alel lokus mikrosatelit D18S536 populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton; Untuk mengetahui frekuensi alel lokus mikrosatelit D18S536 pada monyet ekor panjang di Alas Kedaton; Mengukur heterosigositas dalam populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton dengan marka mikrosatelit D18S536.

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan manfaat pada kemajuan ilmu pengetahuan mengenai struktur genetik populasi monyet ekor panjang yang ada di Bali; Selain itu informasi yang ditemukan pada penelitian ini juga sangat bermanfaat pada dunia konservasi terutama pengetahuan mengenai genetika konservasi dan dapat digunakan sebagai dasar untuk membuat strategi konservasi dan pengembangan (manajemen populasi) spesies ini dimasa yang akan datang.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Sejumlah 16 sampel darah monyet ekor panjang yang berasal dari Alas Kedaton, Bali. Perlengkapan ekstraksi DNA dengan QIAamp DNA Blood Kits dari Qiagen, Tag DNA Polymerase, MgSO₄, larutan buffer, dNTP, TAE, akrilamid, TBE, APS, TEMED, loading dye, marker (100-bp ladder, Invitrogen) Ketamin HCL, Zylasine, antikogulan EDTA, Aquadest, dan primer D18S536.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sentrifugator, alat pendingin, tabung eppendoft besar dan kecil beserta rak, gelas ukur, pipet mikro, oven, tips, alat elektroforesis, ultraviolet iluminator, sarung tangan, masker, seperangkat alat pewarnaan perak, timbangan, alat tulis, mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan stopwatch.

Metode

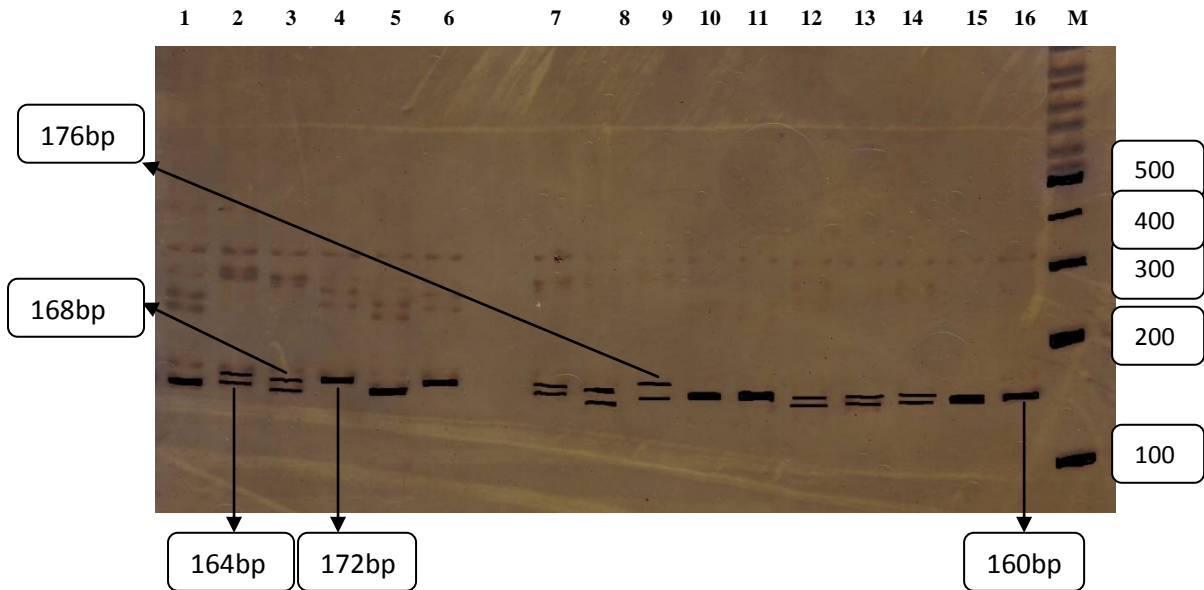
Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *observasional deskriptif* yang bersifat *crosssectional* dengan variabel penelitian adalah : Jumlah alel,

banyaknya alel pada lokus mikrosatelit D18S536 dalam populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton. Frekuensi alel, proporsi relatif masing-masing alel lokus D18S536 populasi monyet ekor panjang. Heterosigositas, nilai untuk mencerminkan keragaman gen yang diduga menggunakan frekuensi alel.

Populasi yang diteliti adalah populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton Kabupaten Tabanan Bali. Cara pengumpulan data menggunakan teknik sampling *convenient*. Sejumlah 16 sampel darah monyet ekor panjang yang berasal dari populasi Alas Kedaton, Bali. Sampling monyet ini telah dilakukan oleh Pusat Penelitian Satwa Primata Universitas Udayana pada tahun 2007, sehingga sampel telah tersedia di Laboratorium Pusat Penelitian Satwa Primata Universitas Udayana. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pusat Penelitian Satwa Primata Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Bali. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2011.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pita yang muncul pada gel poliakrilamid adalah suatu gel mikrosatelit. Keragaman alel mikrosatelit dapat dilihat dari beda jarak migrasi alel pada gel (Krawaczak dan Schmidtke, 1994). Pemisahan jarak migrasi alel terjadi karena adanya kecepatan pergerakan yang berbeda pada setiap alel yang berbeda. Lokus dinyatakan polimorfik apabila jumlah alel bersama dalam populasi pada lokus tersebut lebih dari satu dengan frekuensi alel paling umum kurang atau lebih 95%.



Gambar 3. Alel lokus D18S536. Nomor menyatakan sampel (individu). Huruf M menyatakan penanda (100 base pairs ladder). Genotip 1,15,16=160/160; 3,12,13,14=160/168; 10,11=164/164; 2,7=164/172; 9=164/176; 5=168/168; 4,6=172/172.

Pada gel elektroforesis pita yang muncul teridentifikasi 5 alel dengan panjang berkisar antara 160bp hingga 176bp. Dari 16 monyet ekor panjang, 8 individu memiliki genotip homosigot dan 8 yang lain bergenotip heterosigot (Tabel 1).

Tabel 1. Genotip Monyet Ekor Panjang di Alas Kedaton dengan Lokus Mikrosatelit D18S536.

No	Genotip	Jumlah Monyet (ekor)
1	160/160	3
2	160/168	4
3	164/164	2
4	164/172	2
5	164/176	1
6	168/168	1
7	168/172	1
8	172/172	2
Total	8	16

Terdapat 5 alel yang teridentifikasi, dimana alel 160 menunjukkan frekuensi tertinggi (0,31) sedangkan alel 176 memiliki frekuensi yang terendah (0,06) (Tabel 2).

Tabel 2. Frekuensi Alel Lokus Mikrosatelit D18S536 Alel Monyet Ekor Panjang di Alas Kedaton.

No	Jenis Alel	Jumlah Alel	Frekuensi Alel
1	160	10	0,31
2	164	7	0,22
3	168	7	0,22
4	172	6	0,19
5	176	2	0,06
Total	5	32	1,0

Untuk menghitung nilai heterosigositas maka dapat dihitung dengan menggunakan rumus penduga tidak bias 7,1 (Nei, 1987). Nilai heteosigositas monyet ekor panjang di Alas Kedaton dengan menggunakan lokus mikrosatelit D18S536 adalah 0,79.

Perkembangan yang terjadi pada teknik molekuler telah banyak membantu dalam menghasilkan data tentang struktur genetika pada tingkat DNA. Berbagai penelitian eksplorasi polimorfisme lokus mikrosatelit pada satwa primata dengan menggunakan primer mikrosatelit manusia telah dilakukan (Kanthaswamy *et al.*, 2006). Dari hasil amplifikasi DNA dengan primer pengikat yang alelnya dipisahkan dengan elektroforesis pada gel poliakrilamid dan dilanjutkan dengan teknik pewarnaan perak (*silver staining*) polimorfisme mikrosatelit dari genom dapat ditentukan. Untuk pemisahan DNA dilakukan elektroforesia pada gel poliakrilamid dan pewarnaan perak untuk mendeteksi DNA dengan kandungan lebih kecil dari 10 µg/µl (Allen *et al.*, 1984). Genotip satu individu dapat ditentukan dan frekuensi alelnya dalam populasi dapat dihitung dengan mengidentifikasi pita yang timbul setelah elektroforesis (satu pita untuk homosigot dan dua pita untuk heterosigot pada organisme diploid), (Lessa dan Apflebaum, 1993).

Identifikasi alel pada populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton menggunakan lokus mikrosatelit D18S536 yang dikaji pada penelitian ini, teridentifikasi 5 jenis alel dengan frekuensi alel tertinggi (0,31) untuk alel 160, dan terendah (0,06) untuk alel 176 serta digolongkan sebagai polimorfik. Sedangkan penelitian terdahulu yang sudah dilakukan oleh Paujiah (2011)(*unpublished*) dengan menggunakan lokus yang sama (D18S536) pada populasi monyet ekor panjang di Bedugul teridentifikasi 4 jenis alel dengan frekuensi tertinggi (0,45) untuk alel 168 dan terendah(0,1) untuk alel 172. Perbedaan jumlah alel sangat terkait dengan sejarah penyebaran dan evolusi suatu populasi atau spesies (Bonhomme *et al.*, 2005).

Alel 176 dengan nilai frekuensi 0,06 merupakan frekuensi terendah perlu mendapatkan perhatian. Rendahnya frekuensi alel pada populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton disebabkan sebagai akibat dari *random genetik drif*.

Untuk mengukur tingkat keragaman genetik dalam populasi sebagai salah satu parameter adalah heterosigositas (Nozawa *et al.*, 1996). Tingginya Nilai heterosigositas suatu populasi maka akan diikuti dengan tinggi kejadian *outbreeding* sehingga meningkatkan proporsi genotip heterosigot (Noor, 2000). Nilai heterosigositas yang rendah akan mengakibatkan keterancaman pada suatu populasi (Nozawa *et al.*, 1996) karena tingginya angka *inbreeding* (Khan dan Sing, 1990). Populasi dengan tingkat heterosigositas rendah sangat sensitif terhadap perubahan alam karena potensi evolusi yang rendah (Frankham *et al.*, 2004).

Heterosigositas monyet ekor panjang di Alas Kedaton menggunakan lokus mikrosatelit D18S536 adalah 0,79. Penelitian yang dilakukan oleh Paujiah (2011) (*unpublished*) mengenai polimorfisme monyet ekor panjang di Bedugul dengan menggunakan lokus yang sama menunjukkan heterosigositas 0,72. Berdasarkan data ini tampak bahwa heterosigositas populasi monyet ekor panjang di Alas kedaton relatif tinggi dibandingkan populasi di Bedugul. Menurut Nazawa et al 1996 faktor yang mempengaruhi heterosigositas diantaranya laju mutasi, jumlah populasi efektif, pola perkawinan (acak atau terpilih), migrasi, dan seleksi.

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa struktur genetika monyet ekor panjang di Alas Kedaton dengan menggunakan marka molekul mikrostelit D18S536 cukup tinggi. Penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk memastikan struktur genetika populasi tersebut dengan marka molekul yang lebih banyak dan dilakukan secara berkala sehingga erosi genetika populasi dapat diketahui sedini mungkin dan usaha pencegahan dapat dilakukan dengan tepat.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan: Lokus D18S536 pada populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton bersifat polimorfik; Pada lokus D18S536 dalam populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton terdapat 5 alel dengan frekuensi alel 160 (0,31), alel 164 (0,22), alel 168 (0,22), alel 172 (0,19), dan alel 176(0,06). Heterosigositas populasi monyet ekor panjang di Alas Kedaton menggunakan marka molekul mikroatelit D18S536 sebesar 0,79.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan lokus-lokus yang berbeda untuk melengkapi data struktur genetika monyet ekor panjang di Alas Kedaton Tabanan Bali, sehingga dapat dipastikan apakah populasi di Alas Kedaton dalam status aman.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Bapak Dr. drh. I Nengah Wandia, MSi dan Dr. drh. I Ketut Suatha, MSi untuk melakukan bimbingan dalam pelaksanaan penelitian ini. Terimakasih juga untuk drh ana yang telah membantu dalam pengerjaan laboratorium. Terimakasih kepada staf laboratorium pusat penelitian satwa primate Universitas Udayana yang telah membantu untuk menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen R C, Saravis C A, and Maurer H R. 1984. *Gel Elektrophoresis and Isoelectric Focusing of Protein*. Walter de Gruyter. New York
- Bonhomme M, Blancher A, and Crouau-Roy B. 2005. *Multiplexed Microsatellite for Rapid Identification and Characterization of Individuals and Population of Cercopithecidae*. American journal of Primatology.67:385-391.
- Frankham R, Ballou J D, and Briscoe D A. 2004. *A Primer of Conservation Genetics*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Kanthaswamy S, Von A, Dolen, Kurushima J D, Ona, Alminas, Roger J, Ferguson B, Lerche N W, Allen P C, and Smith D G. 2006. *Mikrosatellit Markers of Standardized Genetic Management of Captive Colonies of Reshush Macaques (M. mullata)*. American Journal of Primatology. 68:73-95.
- Kawamoto Y, Ischak T M, and Supriatna J. 1984. *Genetic Variation Within and Between Troops of the Crab-eating Macaque (Macaca fascicularis) on Sumatra, Jawa, Bali, Lombok and Sumbawa, Indonesia*. Primates, 25(2):131-159.
- Khan, F and Sing A. 1990. *Principles of Genetics and Animal Breeding*. Jaypee Brother Medical Publishers. New Delhi.
- Krawaczak M, and Schmidtke J. 1994. *DNA Fingerprinting*. BIOS Scientific Publisher Limited. Oxford, UK
- Lessa E P and Applebaum G. 1993. *Screening Techniques for Detecting Allelic Variation in DNA Sequences*. Molecular Ecology, 2: 119-129
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York.:254-286.
- Noor R R. 2000. *Genetik Ternak*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nozawa K, Shotake T, Kawamoto Y and Tanade Y. 1982. *Population Genetic of Japanese Monkeys: II. Blood protein Polymorphism and population structure*. Primates. 23:252-271.
- Nozawa K, Shotake T, Minezama M, Kawamoto Y, kawamoto K, and Kawamoto S. 1996. *Population Genetic Studies of the Javanese Macaque, Macaca fuscata*. In: Variations in the Asian Macaques, T Shotake and K wada. Tokai University Press. Tokyo, Japan:1-36.

- Paujiah M M. 2011. *Polimorfisme Lokus Mikrosatelit D18S536 pada Populasi Monyet Ekor Panjang di Bedugul.*(Unpublished)
- Smith D G, Kanthasmwy S, Viary J, and Cody L. 2000. *Additional Highly Polimerphic Microstellite (STR) loci For Estimating kinship in Rhesus Macaques (Macaca mulatta).* American Journal of Primatology. 50:1-7.
- 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. 2003. *Mikrosatelit Sebagai Penanda Molekul Untuk Mengukur Polimorfisme Genetic Monyet Ekor Panjang di Sangeh, Bali.* J. Vet 4(3): 93-100.
- Wandia I N, Arta Putra I G A, dan Soma I G. 2009. *Polimorfisme Genetik Populasi Monyet Ekor Panjang (Mocaca fascicularis) di Lokasi Pariwisata.* Bali. Laporan Penelitian Tahun Anggaran 2009 DIPA Universitas Udayana, Bali.
- Wheatley B P. 1980. *Feeding and Ranging of East Bornean Macaca fascisularis.* Dalam: Linburng D (ed) the macaque: studies in ecology, behavior and evolution. Litton educational publishing, inc. London. pp 215-246.