

Keragaman Genetik Kukang Jawa (*Nycticebus javanicus*) Menggunakan *Control Region (D-loop)* DNA Mitokondria (mtDNA)

(GENETIC DIVERSITY ON JAVAN SLOW LORIS (*NYCTICEBUS JAVANICUS*)
USING OF CONTROL REGION (D-LOOP) mtDNA).

Wirdateti¹, Hayati Aziza², Handayani²

¹Divisi Zoologi, Pusat Penelitian Biologi,
Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)
Gedung Widyasatwaloka Jl. Raya Jakarta-Bogor km 46
Cibinong, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16911
Telpon: +62-21-8765056; Fax: +62-21-8765068
Email: teti_mzb@yahoo.com; wirdateti@lipi.go.id

²Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Islam AS-Syafi'iyah
Jl. Raya Jatiwaringin No.12, Jaticempaka,
Kecamatan Pondokgede, Kota Bekasi,
Jawa Barat, Indonesia 17411

ABSTRAK

Kukang jawa (*Nycticebus javanicus*) adalah salah satu spesies dari genus *Nycticebus* yang endemik di Pulau Jawa. Wilayah sebaran saat ini adalah di Jawa Barat dan Banten, dan juga dilaporkan masih ditemukan di Jawa Tengah dan Jawa Timur meskipun sangat jarang. Status spesies tersebut adalah hampir punah (*Critically Endangered*) karena tingginya tingkat perburuan, hilangnya habitat dan habitat terfragmentasi, sehingga diperlukan konservasi guna peningkatan populasi. Untuk pengelolaan konservasi maka perlu diketahui status sumber genetik kukang jawa yang berperan di dalam pengembangbiakan, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengeksplorasi genetik populasi kukang jawa dari beberapa lokasi sebaran di Jawa Barat. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui tingkat keragaman populasi kukang jawa melalui *control region (D-loop)* mitokondrial DNA (mtDNA). Sampel penelitian yang digunakan adalah sebanyak 23 individu dari lokasi Gunung Halimun, Tasikmalaya, Garut, Ciamis, Jember dan hasil sitaan di Pusat Rehabilitasi IAR Bogor. Primer yang digunakan adalah spesifik *D-loop* untuk kukang dengan panjang sekuen sekitar 296 bp. Hasil analisis menunjukkan hanya terdapat lima situs yang berbeda dan membentuk enam haplotipe, masing-masing haplotipe hanya berbeda 1-3 nukleotida. Keragaman genetik rendah ditunjukkan sebanyak 42,96% individu menunjukkan sekuen yang sama atau jarak genetik (d)=0 yang mengindikasikan populasi monomorf yang berasal dari populasi berbeda. Jarak genetik keseluruhan populasi penelitian adalah $0,003 \pm 0,01$ (0,3%).

Kata-kata kunci: *Nycticebus javanicus*; jarak genetik; keragaman; *D-loop*

ABSTRACT

Javan slow loris (*Nycticebus javanicus*) one of the species of the genus *Nycticebus* is endemic in Java. Their distribution region is in West Java and Banten, and also reported to be found in Central Java and East Java, although very rarely. Status of the species is Critically Endangered due to high levels of poaching, habitat loss and habitat fragmentation, so that the necessary conservation in order to increase the population. For conservation management it is necessary to know the status of genetic resources that play of role in breeding, then this research is to explore the genetic population of the Javan slow loris from some locations in West Java. The research

objective was to assess the diversity of their current population of Java loris through the control region (D-loop) of mitochondrial DNA (mtDNA). A total of 23 individuals samples from Gunung Halimun Park, Tasikmalaya, Garut, Ciamis, Jember and confiscated at the Rehabilitation Center IAR Bogor were used in this study. Specific primers of D-loop are used for loris with a length of 296 bp sequence. The result showed there are only five different sites and formed six haplotypes, each haplotypes only 1-3 nucleotides different. Low genetic diversity is shown as much as 42.96% of individuals show the same sequence or genetic distance (d) = 0 that indicate was monomorf population from different population. The genetic distance of the entire population was $0.003 \pm 0:01$ (0.3%).

Keywords: *Nycticebus coucang*; genetic distance; diversity; D-loop

PENDAHULUAN

Kukang merupakan primata *Prosimian* yang termasuk subsuku *Prosimii*, yang artinya primata primitif, bersifat *nocturnal* dan hidup soliter (Napier dan Napier, 1985). Spesiasi pada genus *Nycticebus* dimulai sekitar enam juta tahun yang lalu (Lu *et al.*, 2001). Secara historis, ahli taksonomi menyatakan bahwa sembilan spesies genus *Nycticebus* yang kemudian pada tahun 1953 digolongkan menjadi satu spesies yaitu *Nycticebus coucang* (Nekaris dan Jaffe, 2007). Selanjutnya Groves (2001) berdasarkan morfologi menggolongkan menjadi tiga spesies yaitu *N. pygmaeus* (Indo China), *N. bengalensis* (India) dan *N. coucang* yang terdiri dari tiga subspecies yaitu *N. c. coucang* (Sumatera, Malaysia, Thailand, Singapura), *N. c. javanicus* (Jawa), *N. c. menagensis* (Kalimantan dan Philipina). Kemudian genus *Nycticebus* menjadi lima spesies, dan tiga subspecies *N. coucang* menjadi spesies terpisah yaitu *N. coucang* (Sumatera), *N. menagensis* (Kalimantan) dan *N. javanicus* tersebar di Jawa (Roos, 2003; Brandon *et al.* 2004). Perbedaan ketiga jenis kukang yang terdapat di Indonesia adalah pada pola strip seperti pada kepala dan garis punggung, *forsting* rambut dan ukuran tubuh. Pada kukang jawa strip pada kepala lebih jelas, berwarna lebih gelap (hitam), *forsting* rambut warna putih pada leher dan ukuran tubuh lebih besar dari dua spesies lainnya yaitu *N. coucang* dan *N. menagensis* (Napier dan Napier, 1985; Rowe 1996).

Kukang jawa tersebar hampir diseluruh daratan Pulau Jawa, tetapi sebaran paling tinggi adalah di wilayah Jawa Barat, dan Banten, selain itu juga ditemukan di Jawa Tengah dan Jawa Timur. Habitat kukang hampir sama untuk semua spesies yaitu pada hutan sekunder, primer, dan area hutan kebun dan pertanian. Habitat kukang jawa berdasarkan ketinggian adalah 200-931 m dpl, sementara spesies kukang

sumatera 0-920 m dpl, kukang kalimantan 19-900 m dpl, dan kukang bengalensis 48-339 m dpl. (Nekaris dan Nijman, 2007; Wirdateti 2003; 2012; Lehtinen 2013).

Kukang merupakan satwa primata kedua paling diminati sebagai satwa peliharaan di sepuluh kota di Jawa, Bali dan Medan selama kurun waktu 1997-2008. Kukang adalah spesies primata dilindungi tetapi paling sering ditemukan di Pasar Burung (Nekaris *et al.*, 2008). Data investigasi perdagangan satwa liar dilindungi yang dilakukan ProFauna Indonesia mencatat bahwa lebih dari 5000 individu kukang telah diselundupkan dari Sumatera ke Jawa melalui Lampung (ProFauna Indonesia 2007; BKSDA 2013: komunikasi pribadi). Indikasi ancaman kepunahan yang tinggi terjadi pada kukang jawa, di samping karena perburuan dengan intensitas tinggi, ancaman kehilangan habitat dan juga karena tingkat *in breeding* tinggi sangat memengaruhi keberlangsungan hidup kukang jawa di habitat asli. Terancamnya keberadaan kukang jawa saat ini membuat para ahli telah memasukkan kukang jawa ke dalam kategori spesies terancam punah (*Critically Endangered*) di dalam Red IUCN List (Nekaris *et al.*, 2013). Status ini sebelumnya diperkuat dengan tercantumnya genus *Nycticebus* kedalam catatan Appendiks I CITES (Nekaris dan Nijman, 2007). Tetapi, informasi secara kualitas dari populasi kukang tersebut belum terekplorasi sampai saat ini. Hal tersebut sangat berdampak negatif terhadap kondisi populasi kukang di alam, dan karena tingginya *in breeding* dapat menimbulkan populasi *monomorf* atau *bottleneck*. Dengan demikian perlu dilakukan analisis genetik spesies kukang jawa guna melihat tingkat keragaman genetik pada populasi saat ini. Populasi kecil lebih rentan mengalami penurunan keragaman genetik karena efek *inbreeding*, serta terfiksasinya beberapa *allele* tertentu dalam populasi, sehingga terbentuk populasi *momorf* dan mengalami

penurunan kemampuan berevolusi atau adaptasi pada lingkungan yang berubah (Mackinnon 1987; Li *et al.* 1991). Keragaman genetik turut menentukan keberhasilan konservasi populasi, sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk memperoleh data genetik sebagai cerminan dari pertumbuhan dan keberlangsungan hidup kukang jawa di alam.

Dalam melihat variasi genetik suatu spesies beberapa ahli menggunakan *control region (D-loop)* mtDNA. *Non coding region* merupakan daerah yang tidak mengkode dan mutasi nukleotida pada daerah ini tidak mengakibatkan terjadinya penyakit, atau dengan kata lain hanya menyebabkan terjadinya polimorfisme (Czarnecka *et al.*, 2006). Analisis DNA mitokondria telah banyak digunakan secara luas dalam mempelajari evolusi, struktur populasi, aliran gen, hibridisasi, biogeografi, dan filogeni suatu spesies hewan (Moritz *et al.*, 1987). *Displacement loop (D-loop)* merupakan daerah *non-coding* utama dari molekul DNA mitokondria, sebuah segmen yang disebut daerah kontrol atau *D-loop* yang tidak mengkode protein (Pereira *et al.*, 2004), sehingga mutasi yang terjadi tidak memengaruhi fungsi protein. *D-loop* adalah lokasi dari transkripsi mitokondria dan situs utama untuk kontrol ekspresi mtDNA karena mengandung untai utama dalam replikasi dan promotor utama untuk transkripsi sehingga kejadian mutasi basa tinggi (Miyazono *et al.*, 2002)

Toleransi yang tinggi pada daerah *D-loop* terhadap mutasi menyebabkan daerah ini menjadi sangat bervariasi dibanding daerah lain. Oleh karena itu, *D-loop* mempunyai tingkat polimorfisme yang paling tinggi dalam rantai mtDNA. *D-loop* mtDNA mengandung berbagai sekuen yang memiliki laju mutasi 4-5 kali lebih cepat dibandingkan bagian mtDNA lainnya (Horai *et al.*, 1993). Pada manusia daerah ini mengalami substitusi basa tinggi diperkirakan antara 2,8-5,0 kali lebih cepat dari daerah mtDNA lainnya dan pada *bovine* adalah 10 kali lebih besar dari genom mtDNA lainnya (Ishida *et al.*, 1994). Dengan demikian penggunaan *D-loop* sangat sesuai di dalam analisis genetik dalam populasi atau intra spesies.

METODE PENELITIAN

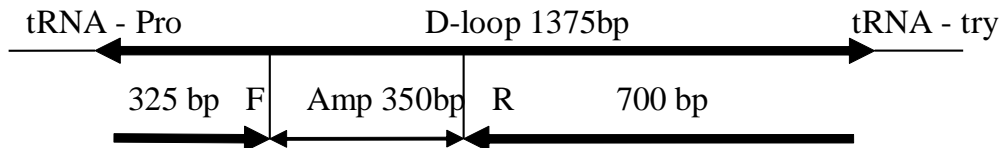
Sampel Penelitian

Penelitian menggunakan kukang jawa sebanyak 23 sampel yang berasal dari populasi Gunung Halimun, Tasikmalaya, Garut, Jember, Ciamis dan dari Pusat Rehabilitasi IAR Gunung Salak Bogor. Material DNA adalah berupa darah (3), rambut (13) dan jaringan (7).

Ekstraksi DNA dan Amplifikasi

Ekstraksi DNA total dilakukan dengan menggunakan *kit* dan metode *phenol chloroform*. Penggunaan *kit* adalah pada sampel darah dan jaringan (Qiagen Kit, QIAamp DNA Stool Mini Kit) dengan tahapan sesuai prosedur. Ekstraksi pada sampel rambut menggunakan metode *phenol chloroform* dengan penambahan proteinase K (PK) karena folikel rambut mengandung protein tinggi. DNA yang dihasilkan dilarutkan dengan TE buffer dan disimpan sampai digunakan.

Amplifikasi daerah kontrol (*D-loop*) mitokondrial DNA (mtDNA) melalui PCR menggunakan primer spesifik yang didesain berdasarkan sekuen *Control Region Nycticebus coucang* pada *GeneBank* NCBI dengan asesion No. AY687890.1. Primer forward (CRKKF) 5'-CACCTCCAATAGCCCACTCG-3' dan primer reverse (CRKKR) 5'-GGAGGTACACGTTAGC TAAGGC-3' dengan target panjang sekuen 350 bp. *Polymerase Chain Reaction* dibentuk dalam 30 uL menggunakan PCR mix KAPA (KK5701 KAPA2G Robust HotStart ReadyMix). Mix PCR mengandung 17 uL KAPA, masing-masing 1,8 uL primer, template DNA 1-2 uL dan ditambah MQ sampai mencapai volume 30 uL. Kondisi PCR adalah sebagai berikut: predenaturasi 94^EC selama tiga menit; denaturasi 94^EC selama 45 detik, penempelan primer (*annealing*) 6^E%1C selama 45 detik, perpanjangan (*elongation*) 72^EC selama satu menit 20 detik sebanyak 35 siklus dan perpanjangan akhir 72^EC selama 10 menit. Sekuen nukleotida hasil amplifikasi dilakukan di *Firstbase Company*, Singapore menggunakan *forward* and *reverse* primer. Skema posisi *D-loop* yang teramplifikasi disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema posisi *D-loop* teramplifikasi menggunakan spesifik primer F dan R

Analisis Data

Semua data sekuen sebelum dianalisis dilakukan *blast (similarity)* dengan data *BankGene N. javanicus* pada NCBI program untuk mengetahui hasil sekuen individu penelitian adalah pada spesies atau genus yang sama dan tidak terjadi kontaminasi pada sampel penelitian. *D-loop* merupakan daerah dengan laju mutasi tinggi, sehingga dimungkinkan muncul heteroplasmia dalam sel sampel penelitian (Krings *et al.*, 1997). Sekuen nukleotida gen COI diedit menggunakan *BioEdit software* (Hall 1999) kemudian dijajarkan (*aligned*) menggunakan program *Clustal X* (Larkin *et al.*, 2007). Analisis data menggunakan Program MEGA version 6.0 (Tamura *et al.*, 2013). Parameter analisis adalah jarak genetik, variasi situs dan haplotipe yang terbentuk menggunakan model *kimura-two parameter*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jarak Genetik

Dari analisis sekuensing terhadap 23 sampel kukang jawa diperoleh panjang sekuen nukleotida masing-masing sampel sekitar 296 pasangan basa dari daerah kontrol (*D-loop*) mtDNA. Hasil analisis data menggunakan program MEGA 6.0 dengan metode *Kimura-two parameter model* menunjukkan hanya terdapat lima situs yang berbeda pada panjang sekuen tersebut dan membentuk sebanyak enam haplotipe yang membedakan antar individu-individu sampel penelitian kukang jawa. Daerah pembacaan urutan nukleotida hasil *sequencing* daerah HV I (*D-loop* mtDNA) karena daerah HV I berada di antara 15971-16414 pada manusia (Maksum, 2008; Handt *et al.*, 1998), sedangkan pada penelitian ini urutan nukleotida adalah pada posisi 15420-16130. Daerah HV I merupakan daerah yang menunjukkan tingkat polimorfis yang tinggi. Tingkat polimorfisme yang tinggi pada daerah HV I menjadi salah satu penyebab penelitian terhadap daerah ini terus berkembang sampai saat ini.

Dalam penelitian ini jarak genetik menjadi salah satu data utama untuk melihat variasi genetik antar individu pada masing-masing populasi *N. javanicus* di Pulau Jawa, di samping itu juga digunakan untuk melihat kedekatan hubungan genetik antar populasi. Penghitungan jarak genetik menunjukkan variasi yang rendah pada populasi kukang jawa yaitu $d = 0,003 \pm 0,001$ (0,3%), dengan kisaran jarak genetik antar individu 0,000 sampai dengan 0,014 (Tabel 1). Jarak genetik antar populasi akan mengukur laju substitusi nukleotida antar dua haplotipe yang berasal dari populasi yang berbeda (Wandia, 2009). Dari analisis perhitungan jarak genetik tersebut menunjukkan jarak genetik tertinggi ditemukan antara kukang berasal dari Garut (Grt1) dengan kukang di pusat rehabilitasi IAR (IAR7) yaitu $d = 0,014 \pm 0,007$ (Tabel 1). Kukang di pusat rehabilitasi IAR adalah kukang jawa yang tidak diketahui asal usulnya. Sekitar 42,69% dari data sekuen pada sampel penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan basa nukleotida antar individu sepanjang 296 bp ($d=0$), persentase tersebut menunjukkan homologi tinggi atau populasi monomorf pada individu-individu tersebut. Kesamaan genetik berdasarkan nukleotida tersebut berasal dari populasi yang berbeda yaitu Gunung Halimun, Tasikmalaya, Ciamis, Garut, Jember, dan individu yang berasal dari pusat rehabilitasi (IAR). Hasil ini mengindikasikan bahwa populasi kukang jawa yang tersebar di Jawa Barat cenderung terjadi penurunan kualitas secara genetik yang menuju populasi *bottleneck*. Hal ini diperkuat dengan menggunakan analisis pada daerah *control region (D-loop)*, karena bagian sekuen daerah tersebut dikenal hipervariable atau mengalami mutasi basa tinggi baik substitusi, delesi ataupun insersi basa, sehingga banyak digunakan untuk melihat tingkat keragaman intra species. Daerah kontrol (*D-loop*) diketahui pada hewan vertebrata merupakan bagian paling cepat berkembang dari genom mitokondria lainnya, sehingga daerah tersebut lebih tepat digunakan

untuk menguji *taxon* yang berhubungan dekat (Saccone *et al.*, 1987; Foran *et al.*, 1988). Pada manusia daerah ini mengalami substitusi basa tinggi diperkirakan antara 2,8-5,0 kali lebih cepat dari daerah mtDNA lainnya, sedangkan pada *bovine* substitusi nukleotida pada *D-loop* adalah 10 kali lebih besar dari genom mtDNA lainnya, sehingga tepat digunakan untuk studi dari variabilitas dan filogenetik yang berhubungan dekat dalam spesies (Ishida *et al.*, 1994; Cann *et al.*, 1984; Aquadro dan Greenberg, 1983). Jarak genetik sekitar 0,3% pada populasi kukang jawa menunjukkan bahwa spesies tersebut memiliki tingkat keragaman lebih rendah dibandingkan dengan spesies kukang lainnya yang terdapat di Indonesia, yaitu nilai jarak genetik pada populasi kukang sumatera *N. coucang* $d = 0,013 \pm 0,003$ (1,3%), dan populasi kukang kalimantan *N. menagensis* $d = 0,018 \pm 0,005$ (1,8%) (Wirdateti *et al.*, 2016). Hasil ini didukung dengan penetapan kukang jawa sebagai spesies *critically endangered* di dalam IUCN (Nekaris *et al.*, 2013). Dibandingkan dengan primata lain nilai jarak genetik kukang lebih rendah dari jarak genetik pada *Tarsius sp* dengan penanda sama (*D-Loop*) yaitu 2,3% (Widayanti dan Solihin, 2007), demikian juga dibandingkan dengan *Hylobates moloch* (owa jawa) sebesar 1,3% (Andayani *et al.*, 2001), *Pongo pygmaeus* (orang utan) kisaran 0,29%-3,87% (Prasetyo dan Gardjito, 2007).

Nilai jarak genetik juga menunjukkan tingkat kedekatan antar individu. Semakin kecil nilai jarak genetik menunjukkan semakin dekat jarak kekerabatannya (Yuriadi *et al.*, 2014) dan jarak genetik rendah juga mengindikasikan penurunan keragaman genetik. Menurut Nei dan Kumar (2000), dua individu atau lebih dikatakan memiliki kedekatan genetik dalam satu spesies bila jarak genetik yang diperoleh tidak lebih dari 10%. Berdasarkan pendapat tersebut, maka dapat diasumsikan bahwa populasi *N. javanicus* saat ini mengalami degradasi menuju populasi *bottle neck*. Tingginya kesamaan genetik atau nukleotida pada populasi *N. javanicus* menunjukkan bahwa sudah terjadi penurunan keragaman genetik yang diakibatkan oleh tekanan *in breeding* sehingga berkurangnya ukuran populasi efektif, tingginya tingkat perburuan kukang untuk diperdagangkan, fragmentasi habitat, bencana, dan rusaknya habitat serta hilangnya habitat. Penurunan tingkat keragaman juga memungkinkan terbentuknya populasi monomorf yang menyebabkan kepunahan suatu

spesies (Wirdateti, 1999). Ukuran populasi kecil memungkinkan terjadinya *in breeding* dan hanyutan gen yang mengarah terfiksasinya *alel-alel* tertentu sehingga populasi akan menjadi *monomorf* atau *homozygote* (Mackinnon, 1987; Li *et al.*, 1991).

Haplotype

Pada jajaran sekuen *D-loop* sepanjang 296 bp hanya terdapat lima situs basa bervariasi yang membentuk enam haplotipe (Tabel 2.). Haplotype terbentuk dari variasi situs menunjukkan keragaman genetik serta penanda dari setiap individu, populasi atau spesies yang didasarkan atas polimorfisme urutan nukleotida (Agung, 2010). Untuk melihat polimorfisme nukleotida pada fragmen *D-loop N. javanicus* digunakan variasi situs (*variable site*), situs tersebut menunjukkan posisi perubahan basa nukleotida yang dapat menggambarkan tingkat keragaman yang tinggi atau rendah.

Rendahnya variasi nukleotida pada penelitian ini menunjukkan rendahnya keragaman genetik pada populasi kukang jawa. Sebaran enam haplotipe yaitu haplotipe A, B, C, D, E, dan F yang menunjukkan perbedaan di dalam spesies didominasi oleh haplotipe A sebanyak 15 individu berasal dari populasi Gunung Halimun tiga individu, Tasikmalaya lima individu, Ciamis, Garut, dan Jember masing-masing satu individu dan dari pusat rehabilitasi IAR sebanyak empat individu. Haplotype B sebanyak empat individu yaitu masing-masingnya dua sampel dari Tasikmalaya dan Ciamis; haplotipe C, D, E dan F masing-masingnya satu sampel dari Ciamis, Jember, Garut, dan Pusat Rehabilitasi IAR. Perbedaan nukleotida antara enam haplotipe tersebut sangat kecil yaitu antara 1-3 nukleotida. Jumlah haplotipe dengan pola yang beragam memberikan pengaruh pada keragaman genetik dalam suatu populasi. Analisis posisi yang sama pada *D-loop* dari spesies *N. bengalensis* dan *N. pygmaeus* memberikan sembilan haplotipe untuk 21 sampel *N. bengalensis* dan 10 haplotipe dari 119 sampel *N. pygmaeus* (Pan *et al.*, 2007). Semakin beragam tipe komposisi haplotipe maka tingkat keragaman genetik pada satu populasi akan semakin tinggi dan begitu juga sebaliknya (Akbar *et al.*, 2014). Apabila dilihat dari komposisi sampel yang digunakan di dalam penelitian maka populasi Gunung Halimun dan Tasikmalaya menunjukkan populasi yang rentan menjadi punah karena hampir semua sampel memiliki nukleotida yang sama. Tetapi

Tabel 2. Sebaran haplotipe pada 23 sampel kukang jawa yang diteliti

Haplotipe	Situs					n	Lokasi
Haplotipe A	C	T	G	C	A	15	Hal, Tsk, Cms, IAR, Grt, Jember
Haplotipe B	.	.	.	A	.	4	Tsk, Cms
Haplotipe C	A	1	Cms
Haplotipe D	C	1	Jember
Haplotipe E	.	.	A	A	.	1	Grt
Haplotipe F	A	A	.	.	.	1	IAR

Keterangan: Hal= Gunung Halimun; Tsk= Tasimalaya; Cms= Ciamis; Grt= Garut; Jember= Jember; IAR= Rehabilitasi IAR Gunung Salak Bogor

penelitian dengan menggunakan *D-loop* pada genus *Nycticebus* atau antar spesies memberikan 75 situs bervariasi dengan panjang sekuen 390 bp (Chen *et al.*, 2006), nilai tersebut sangat jauh berbeda dengan hasil penelitian ini.

SIMPULAN

Berdasarkan penghitungan jarak genetik dan haplotipe yang terbentuk menunjukkan bahwa variasi genetik pada populasi kukang jawa sangat rendah yaitu hanya terdapat lima situs yang berbeda di antara individu (0,3%) dengan jarak genetik ($d=0,003\pm 0,001$). Rendahnya jarak genetik mengindikasikan terjadi penurunan keragaman genetik pada spesies *N. javanicus* yang ditunjukkan populasi monomorf sebanyak 42,69% ($d=0$). Penurunan keragaman genetik tersebut hampir diseluruh lokasi persebaran kukang jawa di Jawa Barat. Dengan demikian perlu penanganan konservasi serius terhadap populasi kukang jawa saat ini.

SARAN

Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik, perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan penambahan panjang sekuen pada daerah D-loop (Central Region) terutama pada lokasi hypervariable (mutasi tinggi) dan juga perlu dilakukan analisis pada daerah Conserve seperti Cytochrome-b dan COI serta penambahan sampel pada masing-masing wilayah persebaran *N. Javanicus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Puslit Biologi LIPI yang telah mendanai penelitian ini dalam rangka konservasi sumber

daya hayati fauna Indonesia guna menghindari dari kepunahan spesies.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung SD. 2010. Keragaman genetik kambing gembong dan kekerabatannya dengan kambing kacang dan kambing peranakan etawa (PE) melalui analisis DNA mitokondria. (*Tesis*). Denpasar. Universitas Udayana.
- Akbar N, Zaman NP, Madduppa HH. 2014. Keragaman genetik ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) dari dua populasi di Laut Maluku, Indonesia. *Depik* 3(1): 65-73.
- Andayani N, Morales JC, Forstner MRJ, Supriatna J, Melnick DJ. 2001. Genetic Variability in mtDNA of the Silvery Gibbon: Implication for the conservation of a Critically Endangered species. *Conservation Biology* 15(3): 770-775
- Aquadro CF, Greenberg BD. 1983. Human mitochondrial DNA variation and evolution: Analysis of Nucleotide Sequences for Seven Individuals. *Genetics* 103: 287-312
- Brandon-Jones ND, Eudey AA, Geissmann T, Groves CP, Morales JC, Shekele M, Stewart CB. 2004. Asian Primate Classification. *International Journal of Primatology* 25(1): 97-164
- Cann RL, Brown WM, Wilson AC. 1984. Polymorphic sites and the mechanism of evolution in human mitochondrial DNA. *Genetics* 106: 479-499
- Czarnecka AM, Golik P, Bartnik E. 2006. Mitochondrial DNA mutations in human neoplasia. *Journal Appl Genetics* 47(1): 67-78.

- Chen JH, Pan D, Groves CP, Wang YX, Narushima E, Fitch-Snyder H, Crow P, Thanh VN, Ryder O, Zhang HW, Fu Y, Zhang Y. 2006. Molecular phylogeny of *Nycticebus* inferred from mitochondrial genes. *Intl J Primatology* 27(4): 1187-1200
- Foran RD, Hixon JE, Brown WM. 1988. Comparison of Ape and Human Sequencer that Regulate Mitochondrial DNA Transcription and D-loop DNA Synthesis. *Nucleic Acids Research* 16(13): 5841-5861
- Groves CP. 2001. *Primate Taxonomy*. Washington, DC. Smithsonian Institution Press.
- Hall TA. 1999. BioEdit; a User-friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98
- Handt O, Meyer S, von Haeseler A. 1998. Compilation of human mtDNA control region sequences. *Nucleic Acids Research* 26: 126-129
- Horai S, Kondo R, Nakagawa-Hattori Y, Hayashi S, Sonada S, Tajima K. 1993. Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution* 10: 23-47.
- Ishida N, Hasegawa T, Takeda K, Sakagami M, Onishi A, Komatsu M, Mukoyama H. 1994. Polymorphic Sequence in D-loop Region of quine Mitochondrial DNA. *Animal Genetics* 25: 215-221
- Krings M, Stone A, Schmitz RW, Krainitzki H, Stoneking M, Pääbo S. 1997. Neandertal DNA sequences and the origin of modern humans. *Cell* 90(1): 19-30
- Lehtinen J, Nekaris KAI, Nijman V, Wirdateti. 2013. Distribution of the Javan Slow loris (*Nycticebus javanicus*): Assessing the Presence in East Java, Indonesia. *Folia Primatology* 84(3-5): 95
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettingan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947-2948.
- Li WH, Graur D. 1991. *Fundamentals of Molecular Evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Lu XM, Wang YX, Zhang YP. 2001. Divergence and phylogeny of mitochondrial cytochrome *b* gene from species in genus *Nycticebus*. *Zoology Research* 22: 93-98
- Mackinnon K. 1987. Primate Conservation. The Newsletter and Journal of the IUCN/SSC > *Primate Specialist Group* 8: 176-182
- Maksum IP. 2008. Analisis Urutan Nukleotida Daerah Hipervariabel I (HVI) DNA Mitokondria Untuk Menentukan Motif Populasi Suku Sunda. *Jurnal Bionatura* 10(2): 116-128
- Miyazono F, Schneider PM, Metzger R, Warnecke-Eberz U, Baldus SE, Dienes HP, Aikou T, Hoelscher AH. 2002. Mutations in the mitochondrial DNA D-Loop region occur frequently in adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Oncogene* 21: 3780-3783. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1205532>
- Moritz C, Dowling TE, Brown WM. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. *Ann Rev Ecol Syst* 18: 269-292 .
- Napier JR, Napier PH. 1985. *The Natural History of Primates*. Cambridge. Massachusetts Institute of Technology (MIT) Press
- Nei M, Kumar KI. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetic*. Madison Avenue, New York. Oxford University Press,
- Nekaris KAI, Jaffe S. 2007. Unexpected diversity within the Javan slow loris trade: implications for slow loris taxonomy. *Contribution Zoology* 76: 187-196
- Nekaris KAI, Nijman V. 2007. CITES proposal highlights threat to nocturnal primates (*Nycticebus*: Lorisidae). *Folia Primatology* 78: 211-214
- Nekaris KAI, Blackham GV, Nijman V. 2008. Conservation implicatios of low encounter rates of five nocturnal primate species (*Nycticebus* spp.) in Asia. *Biodiversity Conservation* 17: 733-747
- Nekaris KAI, Shekelle M, Wirdateti, Rode EJ, Nijman V. 2013. *Nycticebus javanicus*. In: *IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2013.1. Downloaded on 1 March 2015
- Pan D, Chen JH, Groves C, Wang YX, Narushima E, Fitch-Snyder H, P. Crow, Jinggong X, Thanh VN, Ryder O, Chemnick L, Zhang HW, Fu YX, Zhang YP. 2007. Mitochondrial Control Region and Population Genetic Patterns of *Nycticebus bengalensis* and *N. pygmaeus*. *International Journal Primatology* 28: 791-799

- Pereira L, Van Asch B, Amorim A. 2004. Standardisation of nomenclature for dog mtDNA D-loop: a prerequisite for launching a *Canis familiaris* database. *Forensic Science International* 141: 99-108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2003.12.014>
- Prasetyo D, Sugardjito J. 2007. Variasi Genetik Orangutan Kalimantan Timur Berdasarkan DNA Mitokondria. *Biodiversitas* 8(4): 300-304
- Pro Fauna Indonesia. 2007. *The trafficking of kukang or slow lorises (Nycticebus coucang) In Indonesia*. www.profauna.or.id (20 November 2015).
- Roos C, Schmitz J, Zischler H. 2004. Primate jumping genes elucidate strepsirrhine phylogeny. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(29): 10650-10654.
- Rowe N. 1996. *The pictorial guide to the living primates*. East Hampton New York. Pongonias Press. Hlm. 263
- Saccone C, Attimonelli M, Sbisà E. 1987. Structural Elements Highly Preserved During the Evolution of the D-loop Containing Region in Vertebrate Mitochondrial DNA. *Journal Molecular Evolution* 26: 205-211
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, Kumar S. 2013. MEGA 6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biological Evolution* 30(12): 2725-2729
- Wandia IN, Putra IGA, Soma IG. 2009. Diversitas genetik populasi monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis*) di lokasi pariwisata Bali menggunakan Marka Molekular D-loop Region DNA Mitokondria. Laporan Penelitian Unggulan Udayana. Denpasar. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
- Widayanti R, Solihin DD. 2007. Kajian Penanda Genetik *Tarsius bancanus* dan *Tarsius spectrum* dengan Sekuen D-Loop Parsial dari DNA Mitokondria. *Biota* 12(3): 170-176.
- Wirdateti. 1999. Kekerabatan kukang (*Nycticebus coucang*) di Indonesia Menggunakan Penanda Control Region DNA Mitokondria (mtDNA) Melalui Teknik PCR-RFLP. (Tesis). Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Wirdateti. 2012. Sebaran dan Habitat Kukang Jawa (*Nycticebus javanicus*) di Area Perkebunan Sayur Gunung Papandayan, Kabupaten Garut. *Berita Biologi* 11(1): 113-120
- Wirdateti, Indriana E, Andayani. 2016. Analisis Sekuen DNA Mitokondria Cytochrome Oxidase I (COI) mtDNA Pada Kukang Indonesia (*Nycticebus* spp) sebagai Penanda Guna Pengembangan Identifikasi Spesies. *Jurnal Biologi Indonesia* 12(1): 121-120
- Wirdateti. 2003. Pengamatan *Nycticebus coucang* (Kukang) di Taman Nasional Gunung Halimun. *Fauna Indonesia* 5(2): 49-54
- Yuriadi, Widayanti R, Artama WT, Tabbu CR. 2014. Analisis genetik molekular kuda sumba berdasarkan urutan D-loop mitokondria. *Jurnal Kedokteran Hewan* 8(1): 23-26