

## Keragaman Genetik Gen *NADH Dehydrogenase* Subunit 6 pada Monyet Hantu (*Tarsius Sp.*)

(GENETIC DIVERSITY STUDY ON NADH DEHYDROGENASE  
SUBUNIT 6 GENE OF TARSIVUS SP.)

Rini Widayanti<sup>1\*</sup>, Trini Susmiati<sup>1</sup>, Wayan Tunas Artama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada  
Telepon 0274 560865Jl. Fauna no. 2 Karangmalang, Yogyakarta  
E-mail: riniwida@yahoo.co.uk

### ABSTRAK

*Tarsius* merupakan primata yang memiliki daya tarik tersendiri karena memiliki ukuran tubuh yang sangat kecil dan bola mata yang besar. Berdasar habitat, *Tarsius* adalah salah satu satwa endemik Indonesia yang jumlah populasinya mulai memprihatinkan. Usaha untuk melestarikan *Tarsius sp.*, perlu dilakukan suatu tindakan melalui upaya konservasi baik dilakukan secara *in-situ* maupun *ex-situ*. Dalam upaya konservasi, identifikasi terhadap spesies *Tarsius* berdasar pada karakter morfologi dan molekuler sangatlah diperlukan, karena identifikasi berdasarkan morfologi dan vokalisasi seperti yang selama ini dilakukan masih belum tepat, sehingga diperlukan penegasan identifikasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji adanya keragaman genetik dari gen *ND6 Tarsius sp.* dan diharapkan dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk mengidentifikasi *Tarsius sp.* dan mengungkap afiliasi, hubungan filogenetik *Tarsius sp.* dengan anggota primata lain. Sampel diperoleh dari beberapa habitat asal *Tarsius sp.* yaitu Sulawesi Utara sebanyak tiga ekor, Sulawesi Tengah satu ekor, Kalimantan tiga ekor dan dari Sumatera Selatan sebanyak tiga ekor. Hasil isolasi DNA selanjutnya digunakan sebagai cetakan untuk amplifikasi fragmen DNA dengan teknik *Polymerase chain reaction* (PCR). Amplikon (produk PCR) diperoleh 566 bp dan 629 bp. Hasil sekuensing nukleotida didapatkan 513 nukleotida, terdapat 126 nukleotida dan 46 asam amino yang berbeda. Jarak genetik paling kecil 0%, paling tinggi 30,2% dan rata-rata 16,3%. Sekuen nukleotida dan asam amino *ND6* dapat digunakan sebagai penanda genetik antara *T. spectrum*, *T. dianae*, dan *T. bancanus* namun tidak dapat sebagai penanda genetik antara *T. bancanus* asal Sumatra dan asal Kalimantan.

Kata kunci: *Tarsius sp.*, sekuensing, gen ND6, nukleotida, DNA mitokondria

### ABSTRACT

In conservation, identification of tarsier species based on morphological and molecular characters is required. However, to date the identification of animals is simply based on their morphological character and vocalizations, while in fact it is difficult to identify each species of *Tarsius sp* morphologically. The purpose of this study is to obtain genetic markers that can be used to identify *Tarsius sp* on ND6 mitochondrial genes and reveal affiliations and phylogenetic relationships *Tarsius sp.* with other members of primates. Samples were obtained from several original habitats of *Tarsius sp.* Three samples were taken from North Sulawesi, one sample was collected from Central Sulawesi, three samples from Kalimantan and three samples from South Sumatra. The isolated DNA is then used as a template for amplification of DNA fragments by PCR. Amplicon (PCR product) obtained 566 bp and 629 bp. Nucleotide sequencing results shows 513 nucleotides, the smallest genetic distances of 0%, the highest of 30.2% and average of 16.3%. Nucleotide and amino acid sequences of ND6 can be used as genetic markers to differentiate *T. spectrum*, *T. dianae* and *T. bancanus* but they fail to function as genetic markers to distinguish *T. bancanus* of Kalimantan and Sumatra origin.

Keywords: *Tarsius sp.*, sequencing, ND6 gene, nucleotides, mitochondrial DNA

## PENDAHULUAN

*Tarsius* merupakan salah satu primata endemik Indonesia yang keberadaannya semakin memprihatinkan. *Tarsius* atau monyet hantu, memiliki daya tarik tersendiri karena memiliki bola mata yang besar, leher dapat diputar 180 derajat dan memiliki tubuh sangat kecil (150g). Keanekaragaman spesies *Tarsius* berdasar perbedaan morfologi dikelompokkan ke dalam enam spesies, yaitu lima spesies (*T. spectrum*, *T. diana*, *T. pumilus*, *T. sangiriensis*, dan *T. pelengensis*) ada di Sulawesi dan satu spesies (*T. bancanus*) ada di Sumatera Selatan dan Kalimantan (Musser dan Dagosto, 1987; Groves, 2001). Menurut Shekelle dan Leksono (2004), di Sulawesi saat ini berdasar data morfologi dan vokalisasi telah ditemukan 16 populasi *Tarsius* (lima populasi sudah diberi nama oleh peneliti sebelumnya) yang kemungkinan dapat menjadi spesies tersendiri. Selanjutnya Shekelle *et al.*, (2008) melaporkan adanya satu spesies baru di Sulawesi yang diberi nama *T. tumpara*.

Keberadaan satwa ini sebagai sumber keragaman hayati Indonesia sekarang mulai memprihatinkan oleh karena semakin berkurangnya habitat yang ditempati dan juga perburuan satwa untuk dijadikan hewan kesayangan. *Tarsius* merupakan satwa primata langka dan endemis Sulawesi yang dilindungi sejak tahun 1930, dan perlindungan tersebut diperkuat berdasarkan Undang-Undang No. 5/1990 dan PP No. 7/1999. Usaha yang telah dilakukan untuk pelestarian monyet hantu ini adalah dengan melalui program pelestarian satwa baik secara *in situ* maupun *ex situ*. Oleh karena satwa ini secara morfologi sulit dibedakan, maka agar program pelestarian satwa ini berhasil guna, maka perlu penanda genetik spesifik untuk masing-masing spesies *Tarsius*. Upaya untuk menanggulangi masalah tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mendapatkan penanda genetik untuk masing-masing spesies *Tarsius*. Sampai saat ini informasi mengenai status genetik spesies *Tarsius* masih terbatas sehingga dilakukan penelitian-penelitian lanjutan, salah satunya melalui pendekatan molekular dengan teknik sekuensing yang telah berkembang dengan pesat.

Kajian molekular gen penyandi *12S ribosomal RNA* pada *Tarsius* yang dilakukan Shekelle (2003) dan daerah D-loop *Tarsius sp.* (Widayanti dan Solihin, 2007) karena

homologinya tinggi maka sekuen fragmen DNA mitokondria tersebut tidak dapat dijadikan penanda genetik. Selanjutnya Widayanti *et al.*, (2006) dan Widayanti (2010) berturut-turut dapat menggunakan gen *Cytochrome-b (cyt b)* dan gen *ATP8* sebagai penanda genetik walaupun hanya pada tingkat nukleotida (pada tingkat asam amino kurang mendukung). Widayanti *et al.*, (2010 dan 2011) juga melakukan kajian pada gen *Cytochrome oxidase subunit 2 (COX2)* dan gen *NADH dehydrogenase subunit 3 (ND3)*. Sekuen nukleotida gen *COX2* dan asam aminonya hanya dapat membedakan antara spesies *Tarsius* yang berasal dari Sulawesi terhadap spesies *Tarsius* yang berasal dari Sumatra, sedangkan di antara spesies *Tarsius* yang ada di Sulawesi tidak dapat dibedakan. Sekuen gen *ND3* tidak dapat membedakan ketiga spesies *T. bancanus*, *T. spectrum*, dan *T. diana*. Berdasarkan laporan para peneliti sebelumnya, maka masih dibutuhkan penelitian lanjutan untuk mendapatkan penanda genetik-penanda genetik lain yang lebih spesifik untuk masing-masing spesies *Tarsius* dan diharapkan kajian molekular pada gen *ND6* DNA mitokondria *Tarsius* dapat untuk membedakan di antara spesies *Tarsius* sehingga konservasi satwa tersebut dapat bermanfaat dan berhasil guna.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui adanya keragaman genetik dari gen *ND6* yang diharapkan selanjutnya dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk mengidentifikasi *Tarsius sp.* sehingga dapat membantu upaya pelestarian *Tarsius sp.* baik secara *in-situ* maupun *ex-situ*, pengembalian *Tarsius* ke habitatnya (hasil konservasi *ex situ* atau hasil penangkapan liar) serta diharapkan dapat mengungkap afiliasi dan hubungan filogenetik *Tarsius sp.* dengan anggota primata lain. Harapan di masa mendatang bahwa hasil penelitian ini dapat diterapkan untuk satwa lain yang harus segera diselamatkan dari kepunahan.

## METODE PENELITIAN

### Koleksi sampel

Sampel yang digunakan adalah 10 ekor monyet hantu yang diambil dari habitat aslinya, yaitu *T. spectrum* (tiga ekor) dari Sulawesi Utara, *T. diana* (satu ekor) dari Sulawesi Tengah, *T. bancanus* (tiga ekor) dari Sumatera Selatan, dan *T. bancanus* (tiga ekor) dari Kalimantan Barat.

**Isolasi DNA Total**

DNA total diekstraksi dari darah, dan potongan daun telinga (+ 2 mm). Darah diambil dari pembuluh darah pada pangkal ekor (+ 100 mL), ditambah larutan EDTA 10% sebagai antikoagulan. Isolasi dan purifikasi DNA yang berasal dari contoh darah dan daun telinga menggunakan DNA Isolation Kit (Qiagen).

**Desain Primer**

Primer (Tabel 1) didisain sendiri berdasar data sekuen genom mitokondria *T. bancanus* (Nomor akses NC\_002811), menggunakan program primer3.online.

**Amplifikasi Gen ND6 dengan PCR**

DNA total hasil ekstraksi digunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi. Amplifikasi DNA dengan PCR pada penelitian ini menggunakan mesin PCR (Infinigen). Amplifikasi gen ND6 dilakukan dengan kondisi sebagai berikut: denaturasi awal selama 2 menit pada suhu 94°C selanjutnya diikuti dengan 94°C selama 30 detik untuk denaturasi, 56-57°C selama 45 detik untuk penempelan primer (*annealing*), 72°C selama satu menit untuk pemanjangan (*elongation*); amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus kemudian diakhiri 5 menit pada 72°C.

Produk PCR dideteksi dengan cara dimigrasikan pada gel agarosa 1,2% dengan menggunakan buffer 1xTBE dalam piranti *Submarine Electrophoresis* (Hoefler, USA). Pengamatan dilakukan dengan bantuan sinar ultraviolet (λ = 260nm) setelah gel diwarnai

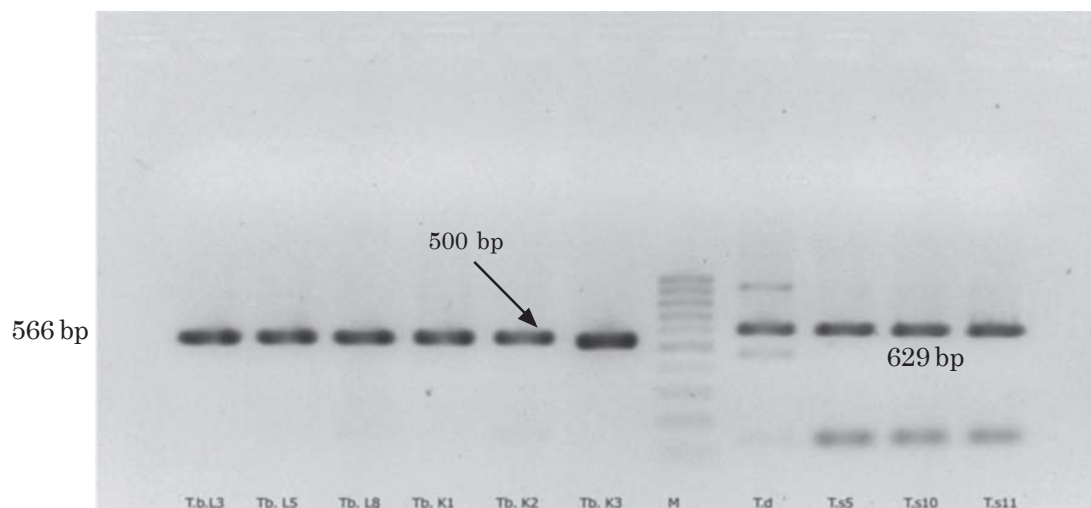
dengan *DNA staining (1st Base)*. Penanda DNA dengan ukuran 100 bp (*1st Base*) digunakan sebagai penunjuk panjang basa nukleotida.

**Sekuensing DNA**

Produk PCR hasil amplifikasi dimurnikan dengan menggunakan *GFX Column purification kit*, selanjutnya dipergunakan sebagai DNA cetakan untuk reaksi sekuensing DNA. Masing-masing sampel dilakukan dua reaksi sekuensing yaitu menggunakan pimer *forward* dan primer *reverse*.

**Analisis Data**

Penjajaran berganda sekuen nukleotida gen ND6 dianalisis dengan bantuan perangkat lunak Clustal W (Thompson *et al.* 1994). Analisis hasil berdasarkan sekuen nukleotida gen ND6 dengan bantuan perangkat lunak MEGA versi 5.0. Jarak genetik dianalisis dengan metode Kimura dengan dua parameter (Kumar *et al.*, 2001). Pohon filogenetik dianalisis berdasarkan sekuen nukleotida dan asam amino dengan metode *Neighbor joining* dengan nilai *bootstrap* 1000 x. Primata yang digunakan sebagai pembanding diambil dari data *GenBank* antara lain *T. bancanus* (Nomor akses NC\_002811), *T. syrichta* (NC\_012774), *Nycticebus coucang* (NC\_002765), *Cebus albifrons* (NC\_002763), *Macaca sylvanus* (NC\_002764), *Macaca mullata* (NC\_005943), *Hylobates lar* (NC\_002082), *Pongo pygmaeus* (NC\_002083), *Pongo abelii* (NC\_002083), *Pan paniscus* (NC\_001644), *Pan troglodytes* (NC\_001643), *Gorilla gorilla* (NC\_001645), *Homo sapiens* (NC\_001807).



Gambar 1. Hasil PCR gen ND6 menggunakan primer F2 danR2; F1 dan R2 pada gel agarose 1,2% Keterangan: Tb. L: *T. bancanus* asal Sumatra, Tb.K: *T. bancanus* asal Kalimantan T.s: *T.spectrum*; T.d: *T.dianae*; M: DNA ladder 100 bb

T.bancanus	ATG	ACT	TAT	GTT	GTG	TTT	TTA	TTG	AGT	GTA	ATT	TTT	TTG	ATA	GGC	[ 45]
T.b.Lampung3	...	G.G	...	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[ 45]
T.b.Lampung5	...	G.G	...	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[ 45]
T.b.Lampung8	...	G.G	...	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[ 45]
T.b.Kalimantan1	...	G.G	...	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[ 45]
T.b.Kalimantan2	...	G.G	...	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[ 45]
T.b.Kalimantan3	...	G.G	...	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[ 45]
T.spectrum5	...	..C	...	A..	..A	...	...	..A	..C	..T	...	...	G..	...	..T	[ 45]
T.spectrum10	...	..C	...	A..	..A	...	...	..A	..C	..T	...	...	G..	...	..T	[ 45]
T.spectrum11	...	..C	...	A..	..A	...	...	..A	..C	..T	...	...	G..	...	..T	[ 45]
T.dianae	...	..C	...	A..	..A	...	...	...	...	..T	...	...	G..	...	..T	[ 45]
T.syrichta	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	A..	...	...	..A	...	..G	[ 45]
T.bancanus	TTT	ATT	GGG	TTT	TCT	TCA	AAG	CCT	TCT	CCT	ATT	TAT	GGA	GGT	CTG	[ 90]
T.b.Lampung3	...	G..	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	...	...	T..	[ 90]
T.b.Lampung5	...	G..	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	...	...	T..	[ 90]
T.b.Lampung8	...	G..	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	...	...	T..	[ 90]
T.b.Kalimantan1	...	G..	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	...	...	T..	[ 90]
T.b.Kalimantan2	...	G..	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	...	...	..A	[ 90]
T.b.Kalimantan3	...	G..	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	...	...	T..	[ 90]
T.spectrum5	...	G.A	...	...	..T	...	...	...	...	...	...	..T	..A	..T	[ 90]	
T.spectrum10	...	G.A	...	...	..T	...	...	...	...	...	...	..T	..A	..T	[ 90]	
T.spectrum11	...	G.A	...	...	..T	...	...	...	...	...	...	..T	..A	..T	[ 90]	
T.dianae	...	G.A	..A	...	..T	...	...	...	...	...	...	..T	..A	T.T	[ 90]	
T.syrichta	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	..G	..C	T.A	[ 90]	
T.bancanus	GGT	CTG	ATT	GTA	AGT	GGG	GGG	ATT	GGT	TGT	GGG	ATA	GTG	TTA	AGT	[135]
T.b.Lampung3	...	...	...	...	...	...	...	T..	...	...	...	...	...	C..	...	[135]
T.b.Lampung5	...	...	...	...	...	...	...	T..	...	...	...	...	...	C..	...	[135]
T.b.Lampung8	...	...	...	...	...	...	...	T..	...	...	...	...	...	C..	...	[135]
T.b.Kalimantan1	...	...	...	...	...	...	...	G..	...	...	...	...	...	C..	...	[135]
T.b.Kalimantan2	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	C..	...	[135]
T.b.Kalimantan3	...	...	...	...	...	...	...	G..	...	...	...	...	...	C..	...	[135]
T.spectrum5	...	T..	...	A.T	...	..T	...	G.G	..A	...	..T	C.T	...	..G	...	[135]
T.spectrum10	...	T..	...	A.T	...	..T	...	G.G	..A	...	..T	C.T	...	..G	...	[135]
T.spectrum11	...	T..	...	A.T	..C	..T	...	G.G	..A	...	..T	C.T	...	..G	...	[135]
T.dianae	...	T..	...	A.T	..C	..A	...	G.A	..A	...	..T	C.T	...	..G	...	[135]
T.syrichta	..C	T.A	...	A.T	...	..A	...	G..	..G	...	..A	..G	..A	...	...	[135]
T.bancanus	CTT	GGG	GGT	GTT	TTT	ATT	GGT	TTA	ATA	GTA	TTC	TTG	ATT	TAT	TTG	[180]
T.b.Lampung3	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	[180]
T.b.Lampung5	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	[180]
T.b.Lampung8	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	[180]
T.b.Kalimantan1	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	[180]
T.b.Kalimantan2	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	[180]
T.b.Kalimantan3	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	[180]
T.spectrum5	...	...	..A	..C	...	..G	..G	..G	...	..T	..A	...	..G	..G	..CT	[180]
T.spectrum10	...	...	..A	..C	...	..G	..G	..G	...	..T	..A	...	..G	..G	..CT	[180]
T.spectrum11	...	...	..A	..C	...	..G	..G	..G	...	..T	..A	...	..G	..G	..CT	[180]
T.dianae	...	...	..A	..C	...	..A	...	..G	...	..T	..A	...	..G	..G	..CT	[180]
T.syrichta	T..	..T	...	...	...	G..	..G	..G	..G	..G	..T	...	...	...	..A	[180]
T.bancanus	GGG	GGT	ATA	TTA	GTA	GTA	TTT	GGT	TAT	ACA	ACG	GCT	ATA	GCT	ATG	[225]
T.b.Lampung3	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	[225]
T.b.Lampung5	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	[225]
T.b.Lampung8	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	[225]
T.b.Kalimantan1	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	[225]
T.b.Kalimantan2	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	[225]
T.b.Kalimantan3	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	[225]
T.spectrum5	...	...	..G	...	..T	..G	...	...	..T	..A	...	..G	..G	..CT	[225]	
T.spectrum10	...	...	..G	...	..T	..G	...	...	..T	..A	...	..G	..G	..CT	[225]	
T.spectrum11	...	...	..G	...	..T	..G	...	...	..T	..A	...	..G	..G	..CT	[225]	
T.dianae	...	...	..C	...	..T	...	...	..C	...	..T	..A	...	..G	..G	..CT	[225]
T.syrichta	..T	..A	..G	..G	..T	...	...	..A	...	...	...	..A	..G	...	...	[225]

Gambar 2. Sekuen nukleotida gen *ND6 Tarsius spectrum*, *T. dianae*, *T. bancanus* hasil penelitian dengan *T. bancanus* dan *T. syrigha* dari *Genbank* sebagai pembanding.

Gambar 2. lanjutan

T.bancanus	GAG	GAG	TAT	CCA	GAG	GCT	TGG	GGG	TCA	AGT	GTT	TCT	GTG	TGA	GGG	[270]
T.b.Lampung3	...	...	..C	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	[270]
T.b.Lampung5	...	...	..C	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	[270]
T.b.Lampung8	...	...	..C	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	[270]
T.b.Kalimantan1	...	...	..C	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[270]
T.b.Kalimantan2	...	...	..C	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[270]
T.b.Kalimantan3	...	...	..C	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	..A	[270]
T.spectrum5	..A	...	...	..G	...	...	...	..A	...	..C	T..	...	A.T	..G	..C	[270]
T.spectrum10	..A	...	...	..G	...	...	...	..A	...	..C	T..	...	A.T	..G	..C	[270]
T.spectrum11	..A	...	...	..G	...	...	...	..A	...	..C	T..	...	A.T	..G	..C	[270]
T.dianae	..A	...	...	..G	...	...	...	..A	...	..C	T..	...	A.T	..G	..C	[270]
T.syrichtha	...	...	...	...	..A	...	...	...	...	..C	...	...	A.A	...	...	[270]
T.bancanus	GTT	TTG	TTG	TTA	GGT	ATA	TTT	ATA	GAG	GTG	TTT	GTT	GTA	GCA	TGG	[315]
T.b.Lampung3	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	..T	..T	...	[315]
T.b.Lampung5	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	..T	..T	...	[315]
T.b.Lampung8	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	..T	..T	...	[315]
T.b.Kalimantan1	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	..T	..T	...	[315]
T.b.Kalimantan2	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	..T	..T	...	[315]
T.b.Kalimantan3	...	..A	...	...	...	...	...	...	...	...	..C	...	..T	..T	...	[315]
T.spectrum5	..CC	...	C..	...	..G	T..	..G	T..	..A	A.C	...	..G	A.T	..TG	G..	[315]
T.spectrum10	..CC	...	C..	...	..G	T..	..G	T..	..A	A.C	...	..G	A.T	..TG	G..	[315]
T.spectrum11	..CC	...	C..	...	..G	T..	..G	T..	..A	A.C	...	..G	A.T	..TG	G..	[315]
T.dianae	..CC	...	C..	...	..G	T..	..G	T..	..A	A.C	...	..G	A.T	..TG	G..	[315]
T.syrichtha	..G	...	...	...	...	T..	..G	T..	..A	T..	...	..A	...	..TG	...	[315]
T.bancanus	ATA	ATA	TAT	TAT	GAT	AAT	GTT	GGG	CTT	AAG	AGT	TTA	GAG	GAT	TGG	[360]
T.b.Lampung3	..G	...	...	C..	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	..C	...	[360]
T.b.Lampung5	..G	...	...	C..	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	..C	...	[360]
T.b.Lampung8	..G	...	...	C..	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	..C	...	[360]
T.b.Kalimantan1	..G	...	...	C..	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	..C	...	[360]
T.b.Kalimantan2	..G	...	...	C..	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	..C	...	[360]
T.b.Kalimantan3	..G	...	...	C..	...	...	A..	...	...	...	...	...	...	..C	...	[360]
T.spectrum5	...	...	GG.	C.A	..A	GGG	T.C	..T	T..	..A	TA.	A.G	...	A..	..A	[360]
T.spectrum10	...	...	GG.	C.A	..A	GGG	T.C	..T	T..	..A	TA.	A.G	...	A..	..A	[360]
T.spectrum11	...	...	GG.	C.A	..A	GGG	T.C	..T	T..	..A	TA.	A.G	...	A..	..A	[360]
T.dianae	..G	...	GG.	C.G	..A	GGA	T..	..T	T..	..A	TA.	A.G	...	A..	..A	[360]
T.syrichtha	...	G..	...	CG.	...	..G.	...	..A	T..	...	...	...	..A	...	...	[360]
T.bancanus	GTT	ATT	TTT	GGG	GAT	AAT	ATA	TTT	AGT	TTA	TTT	TGT	GAG	GAT	TCT	[405]
T.b.Lampung3	...	...	...	...	..G.	G..	G..	...	...	...	..C	...	..A	...	...	[405]
T.b.Lampung5	...	...	...	...	..G.	G..	G..	...	...	...	..C	...	..A	...	...	[405]
T.b.Lampung8	...	...	...	...	..G.	G..	G..	...	...	...	..C	...	..A	...	...	[405]
T.b.Kalimantan1	...	...	...	...	..G.	G..	G..	...	...	..G	..C	...	..A	...	...	[405]
T.b.Kalimantan2	...	...	...	...	..G.	G..	G..	...	...	..G	..C	...	..A	...	...	[405]
T.b.Kalimantan3	...	...	...	...	..G.	G..	G..	...	...	...	..C	...	..A	...	...	[405]
T.spectrum5	AC.	G..	...	..A.	..GG	G.G	G.T	...	..A.	C.G	...	C..	...	...	..G.	[405]
T.spectrum10	AC.	G..	...	..A.	..GG	G.G	G.T	...	..A.	C.G	...	C..	...	...	..G.	[405]
T.spectrum11	AC.	G..	...	..A.	..GG	G.G	G.T	...	..A.	C.G	...	C..	...	...	..G.	[405]
T.dianae	A..	G..	...	..A.	..GG	G.A	G.T	...	..A.	C.G	...	C..	...	...	..G.	[405]
T.syrichtha	...	GC.	...	...	..GC	G.C	..G	...	...	...	C..	C..	..A	...	...	[405]
T.bancanus	ATG	GGG	GCG	GCA	TCT	TTG	TAT	GGG	GAT	GGT	AGT	TGG	TTG	CTA	GGT	[450]
T.b.Lampung3	..C	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	...	A..	..G	[450]
T.b.Lampung5	..C	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	...	A..	..G	[450]
T.b.Lampung8	..C	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	...	A..	..G	[450]
T.b.Kalimantan1	..C	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	...	A..	..G	[450]
T.b.Kalimantan2	..C	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	...	A..	..G	[450]
T.b.Kalimantan3	..C	...	...	...	...	...	...	..T	...	...	...	...	...	A..	..G	[450]
T.spectrum5	G..	...	..TA	...	G..	...	...	...	AG.	...	...	..TT	...	A..	..TG	[450]
T.spectrum10	G..	...	..TA	...	G..	...	...	...	AG.	...	...	..TT	...	A..	..TG	[450]
T.spectrum11	G..	...	..TA	...	G..	...	...	...	AG.	...	...	..TT	...	A..	..TG	[450]
T.dianae	G..	...	..TA	...	G..	..A	...	...	AG.	...	...	..TT	...	A..	..TG	[450]
T.syrichtha	G..	...	..T.	..G	...	..A	...	..T	AG.	...	...	..A	C..	A..	..G	[450]

Gambar 2. lanjutan

T. bancanus	ATT	GCA	GGT	TGA	TCT	TTA	TTT	GTT	ACT	ATT	TTT	ATT	GTA	ATT	GAA	[495]
T. b. Lampung3	...	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[495]
T. b. Lampung5	...	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[495]
T. b. Lampung8	...	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[495]
T. b. Kalimantan1	...	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[495]
T. b. Kalimantan2	...	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[495]
T. b. Kalimantan3	...	...	...	..G	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	[495]
T. spectrum5	G.A	..T	..G	..G	...	..G	...	...	..C	...	...	...	..C	C..	...	[495]
T. spectrum10	G.A	..T	..G	..G	...	..G	...	...	..C	...	...	...	..C	C..	...	[495]
T. spectrum11	G.A	..T	..G	..G	...	..G	...	...	..C	...	...	...	..C	C..	...	[495]
T. diana	G.A	..T	..G	..G	...	..G	...	...	...	...	...	...	..T	C..	...	[495]
T. syrigha	G..	..T	...	..G	A..	..G	...	...	...	...	...	...	..G	C..	...	[495]
T. bancanus	ATT	ACT	CGG	GGA	TTT	TAG										[513]
T. b. Lampung3	...	...	AC.	..-	...	...										[513]
T. b. Lampung5	...	...	AC.	..-	...	...										[513]
T. b. Lampung8	...	...	AC.	..-	...	...										[513]
T. b. Kalimantan1	...	...	AC.	..-	...	...										[513]
T. b. Kalimantan2	...	...	AC.	..-	...	...										[513]
T. b. Kalimantan3	...	...	AC.	..-	...	...										[513]
T. spectrum5	G..	...	..T	..-	...	...										[513]
T. spectrum10	G..	...	..T	..-	...	...										[513]
T. spectrum11	G..	...	..T	..-	...	...										[513]
T. diana	G..	...	..T	..-	...	...										[513]
T. syrigha	...	...	...	..-	...	...										[513]

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Amplifikasi Gen *ND6* dengan PCR

DNA total hasil ekstraksi digunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi. Komposisi 50 µl campuran pereaksi PCR terdiri dari 25 µl Kapa *Taq polymerase, ready mix*, 100-300 ng DNA cetakan, 10 pmol masing-masing primer dan *nuclease free water* sampai volume akhir 50 µl.

Primer untuk mengamplifikasi Gen *NADH Dehydrogenase* Subunit 6 (*ND6*) didisain berdasarkan sekuen DNA mitokondria *T. bancanus* (Schimtz, 2002). (Kode akses *GenBank* NC\_002811). Program primer3 output ([http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3.cgi/results\\_from-primer3](http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3.cgi/results_from-primer3)) digunakan untuk menyeleksi primer-primer yang diperkirakan memberikan kemungkinan hasil yang baik.

Disain primer pertama (F1 dan R1) untuk PCR menunjukkan hasil yang kurang baik, sehingga dalam penelitian ini disain primer kedua (F2 dan R2). Sampel dari Sumatra (Lampung) dan Kalimantan dapat diamplifikasi menggunakan primer F1 dan R1, namun untuk sampel dari Sulawesi menggunakan primer *forward* F1 dan *reverse* R2. Pasangan primer F2 dan R2 diperoleh hasil PCR sebesar 566 bp dan menggunakan pasangan primer F 1 dan R 2 diperoleh hasil PCR 629 bp. Hasil elektroforesis produk PCR menggunakan gel agrose 1,2% disajikan pada Gambar 1.

Hasil PCR yang diperoleh besarnya berbeda karena letak penempelan kedua pasang primer berbeda, namun kedua pasang primer tersebut dapat mengapit gen *ND6* secara utuh.

### Sekuensing DNA

Produk PCR hasil amplifikasi dimurnikan dengan menggunakan *GFX Column purification kit*, selanjutnya dipergunakan sebagai DNA cetakan untuk reaksi sekuensing DNA. Sekuensing DNA dilakukan oleh PT Genetika Science, Jakarta. Hasil sekuensing setelah disejajarkan berganda dengan *T. bancanus* dan *T. syrigha* dari *GenBank* diperoleh sekuen nukleotida sepanjang 513 nukleotida penyusun gen *ND6*, dan 171 sekuen asam amino. Gambar sekuen nukleotida dan asam amino berturut-turut disajikan pada Gambar 2 dan 3.

Sekuen nukleotida penyusun gen *ND6* selanjutnya diterjemahkan dengan kodon mitokondrial vertebrata yang terdapat di dalam program MEGA V. 5.0 (Kumar *et al.*, 2001)(Gambar 4). Sekuen nukleotida dan asam amino selanjutnya dianalisis menggunakan program MEGA V.5.0 untuk mengetahui adanya keragaman nukleotida maupun asam amino. Matriks perbedaan nukleotida dan asam amino disajikan pada Tabel 2.

Pada Tabel 2 (kiri bawah) disajikan bahwa perbedaan nukleotida terbesar adalah 126, yaitu perbedaan antar *T. spectrum* 11 dengan *T. bancanus* Lampung 3, 5, dan 8, sedangkan

T.bancanus	MTYVVFLLSV	IFLMGFIGFS	SKPSPYGGGL	GLIVSGGIGC	GMVLSLGGVF	[ 50]
T.b.Lampung3	.A.....	.....V..	.....	.....F..	.....	[ 50]
T.b.Lampung5	.A.....	.....V..	.....	.....F..	.....	[ 50]
T.b.Lampung8	.A.....	.....V..	.....	.....F..	.....	[ 50]
T.b.Kalimantan1	.A.....	.....V..	.....	.....V..	.....	[ 50]
T.b.Kalimantan2	.A.....	.....V..	.....	.....	.....	[ 50]
T.b.Kalimantan3	.A.....	.....V..	.....	.....V..	.....	[ 50]
T.spectrum5	...I.....	..V...V..	.....	...I...V..	.L.....A.	[ 50]
T.spectrum10	...I.....	..V...V..	.....	...I...V..	.L.....A.	[ 50]
T.spectrum11	...I.....	..V...V..	.....	...I...V..	.L.....A.	[ 50]
T.dianae	...I.....	..V...V..	.....F	...I...V..	.L.....A.	[ 50]
T.syrichta	.....M	.....	.....	...I...V..	.....F....	[ 50]
T.bancanus	IGLMVFLIYL	GGMLVVFQYT	TAMAMEEYPE	AWGSSVSVWG	VLLLGFMFEV	[100]
T.b.Lampung3	.....	.....	.....	.....	.....	[100]
T.b.Lampung5	.....	.....	.....	.....	.....	[100]
T.b.Lampung8	.....	.....	.....	.....	.....	[100]
T.b.Kalimantan1	.....	.....	.....	.....	.....	[100]
T.b.Kalimantan2	.....	.....	.....	.....	.....	[100]
T.b.Kalimantan3	.....	.....	.....	.....	.....	[100]
T.spectrum5	.....	.....	...T.....	...F.I..	A...LLL.I	[100]
T.spectrum10	.....	.....	...T.....	...F.I..	A...LLL.I	[100]
T.spectrum11	.....	.....	...T.....	...F.I..	A...LLL.I	[100]
T.dianae	.....	.....	...T.....	...F.I..	A...LLL.I	[100]
T.syrichta	V.....	.....	.....	.....M..	.....LLL.L	[100]
T.bancanus	FVVAWMMYYD	NVGLKSLEDW	VIFGDNMFSL	FCEDSMGAAS	LYGDGSWLLG	[150]
T.b.Lampung3	S..V...H.	.I.....	...GDV...	...I....	.....M.	[150]
T.b.Lampung5	S..V...H.	.I.....	...GDV...	...I....	.....M.	[150]
T.b.Lampung8	S..V...H.	.I.....	...GDV...	...I....	.....M.	[150]
T.b.Kalimantan1	S..V...H.	.I.....	...GDV...	...I....	.....M.	[150]
T.b.Kalimantan2	S..V...H.	.I.....	...GDV...	...I....	.....M.	[150]
T.b.Kalimantan3	S..V...H.	.I.....	...GDV...	...I....	.....M.	[150]
T.spectrum5	..IVG..GQE	GF.F.YM.N.	TV.EGEV.N.	.R..CV.V.A	...S..F.MV	[150]
T.spectrum10	..IVG..GQE	GF.F.YM.N.	TV.EGEV.N.	.R..CV.V.A	...S..F.MV	[150]
T.spectrum11	..IVG..GQE	GF.F.YM.N.	TV.EGEV.N.	.R..CV.V.A	...S..F.MV	[150]
T.dianae	.MIVG..GQE	GF.F.YM.N.	IV.EGEV.N.	.R..CV.V.A	...S..F.MV	[150]
T.syrichta	...V..V.R.	S..F.....	.A..GD....	LR...V.V..	...S...M.	[150]
T.bancanus	IAGWSLFVTI	FIVIEITRGF	*	[171]		[171]
T.b.Lampung3	.....	.....T-	.	[171]		[171]
T.b.Lampung5	.....	.....T-	.	[171]		[171]
T.b.Lampung8	.....	.....T-	.	[171]		[171]
T.b.Kalimantan1	.....	.....T-	.	[171]		[171]
T.b.Kalimantan2	.....	.....T-	.	[171]		[171]
T.b.Kalimantan3	.....	.....T-	.	[171]		[171]
T.spectrum5	V.....	...L.V.-.	.	[171]		[171]
T.spectrum10	V.....	...L.V.-.	.	[171]		[171]
T.spectrum11	V.....	...L.V.-.	.	[171]		[171]
T.dianae	V.....	...L.V.-.	.	[171]		[171]
T.syrichta	V...T.....	...L.....	.	[171]		[171]

Gambar 3. Sekuen asam amino *ND6 Tarsius spectrum*, *T. dianae*, *T. bancanus* hasil penelitian dengan *T. bancanus* dan *T. syrigha* dari genbank sebagai pembandingan.

Tabel 1. Urutan basa primer untuk mengamplifikasi gen *ND6* adalah:

TARGET	F dan R	URUTAN BASA	Tm (°C)	Produk PCR (bp)
<i>ND6</i>	F1 (20nt)	5' TCCACAACCACCTCTAATCA 3'	61,9	708
	R1 (20nt)	5' TATGAGGGGGTGAGTTTTTC 3'	60,6	
	F2 (24nt)	5' ATAACACTTGGAACACTTCTCATC 3'	60.0	566
	R2 (24nt)	5' TCATGGTTTAAGTCCATGTAGGAA 3'	61.1	
	F1 (20nt)	5' TCCACAACCACCTCTAATCA 3'	61,9	629
	R2 (24nt)	5' TCATGGTTTAAGTCCATGTAGGAA 3'	61.1	

Tabel 2. Matriks perbedaan nukleotida (kiri bawah) dan asam amino (kanan atas) *ND6 Tarsius* sp

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	T.b.Lampung3		0	0	1	1	1	44	44	44	46
2	T.b.Lampung5	0		0	1	1	1	44	44	44	46
3	T.b.Lampung8	0	0		1	1	1	44	44	44	46
4	T.b.Kalimantan1	3	3	3		1	0	43	43	43	45
5	T.b.Kalimantan2	5	5	5	3		1	44	44	44	46
6	T.b.Kalimantan3	1	1	1	2	5		43	43	43	45
7	<i>T.spectrum5</i>	125	125	125	123	123	124		0	0	3
8	<i>T.spectrum10</i>	125	125	125	123	123	124	0		0	3
9	<i>T.spectrum11</i>	126	126	126	124	124	125	1	1		3
10	<i>T.dianae</i>	123	123	123	121	123	122	23	23	22	

Keterangan : T.b = *Tarsius bancanus*

Tabel 3. Jarak genetik berdasar sekuen nukleotida gen *ND6* (513 nt) *Tarsius* sp. penelitian dan *Tarsius* sp. pembandingan

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	T.bancanus											
2	T.b.Lampung3	0.068										
3	T.b.Lampung5	0.068	0.000									
4	T.b.Lampung8	0.068	0.000	0.000								
5	T.b.Kalimantan1	0.068	0.006	0.006	0.006							
6	T.b.Kalimantan2	0.066	0.010	0.010	0.010	0.006						
7	T.b.Kalimantan3	0.068	0.002	0.002	0.002	0.004	0.010					
8	<i>T.spectrum5</i>	0.294	0.299	0.299	0.299	0.293	0.296					
9	<i>T.spectrum10</i>	0.294	0.299	0.299	0.299	0.293	0.296	0.000				
10	<i>T.spectrum11</i>	0.297	<b>0.302</b>	<b>0.302</b>	<b>0.302</b>	0.296	0.296	0.300	0.002	0.002		
11	<i>T.dianae</i>	0.294	0.293	0.293	0.293	0.287	0.294	0.291	0.047	0.047	0.045	
12	<i>T.syrichtha</i>	0.193	0.209	0.209	0.209	0.207	0.209	0.207	0.264	0.264	0.267	0.261

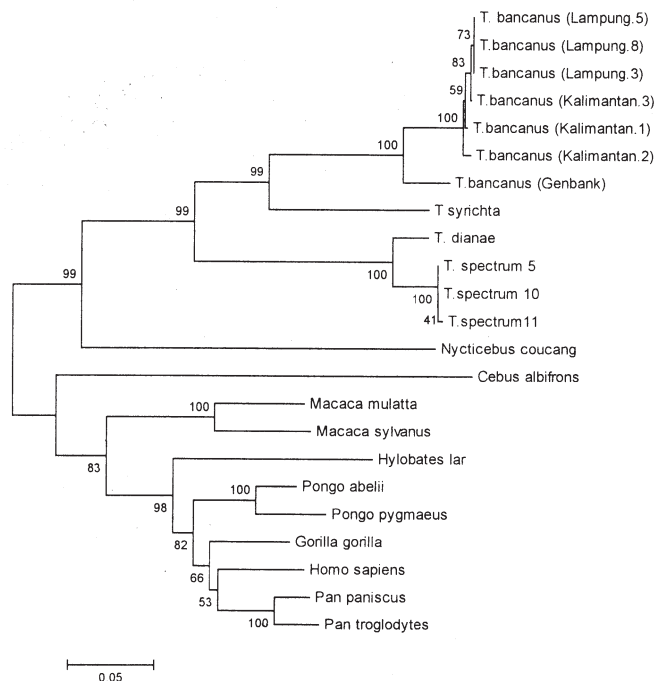
Keterangan: T.b = *Tarsius bancanus*

perbedaan paling kecil adalah nol (0), yaitu di antara ketiga sampel *Tarsius* dari Lampung dan antara *T. spectrum* 5 dan 10.

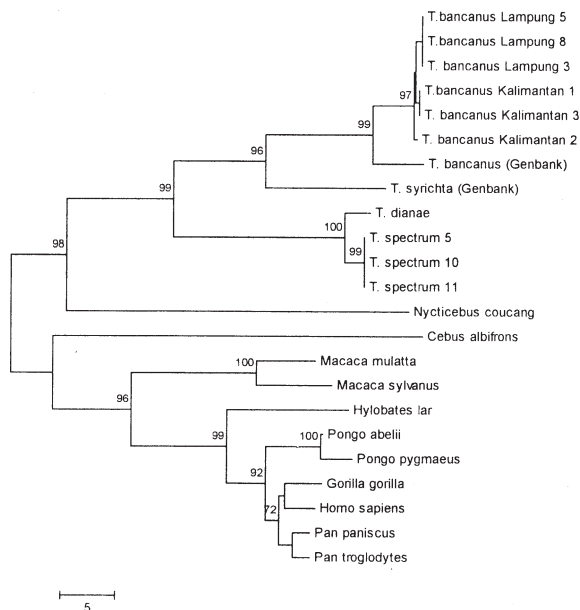
Pada Tabel 2 (kanan atas), nampak bahwa perbedaan terbesar adalah 46 asam amino, yaitu perbedaan asam amino antara *T. dianae*

terhadap ketiga sampel *T. bancanus* dari Lampung dan *T. bancanus* Kalimantan 2. Perbedaan paling kecil nol (0), yaitu di antara ketiga sampel *Tarsius* dari Lampung, di antara ketiga sampel *T.spectrum*, dan antara *T. bancanus* Kalimantan 2 dan 3.





Gambar 4. Pohon filogenetik *Tarsius sp.* dan primata lain berdasar sekuen nukleotida (513 nt) gen *ND6* menggunakan metode *Neighbor joining* dengan *bootstrap* 1000 x



Gambar 5. Pohon filogenetik *Tarsius sp.* dan primata lain berdasar sekuen asam amino (171aa) *ND6* menggunakan metode *Neighbor joining* dengan *bootstrap* 1000 x

Jarak genetik berdasar sekuen nukleotida dianalisis dengan metode Kimura dua parameter. Jarak genetik disajikan pada Tabel 3.

Pada Tabel 3, disajikan bahwa jarak genetik paling kecil adalah 0%, yaitu di antara ketiga

sampel *Tarsius* dari Lampung, sedangkan jarak genetik paling tinggi adalah 30,2%, yaitu antara *T. spectrum* 11 terhadap ketiga sampel tarsius asal Lampung. Rataan jarak genetik di antara sampel tarsius adalah 16,3%, sedangkan apabila dibandingkan juga dengan *Tarsius* dari

*GenBank* rata-rata jarak genetiknya adalah 17,3%. Apabila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya ternyata sekuen nukleotida gen *ND6* memiliki rata-rata jarak genetik yang paling besar. Rataan jarak genetik *Tarsius sp.* berdasar sekuen nukleotida *D-loop* (2,3%) (Widayanti dan Solihin 2007), gen *ND4L* adalah 0,1% (Widayanti dan Susmiati, 2012), gen *COX1* adalah 8,3% (Baaka dan Widayanti, *inpress*), sedangkan berdasar sekuen nukleotida gen *cyt b* (Widayanti dkk. 2006), *ATP8* (Widayanti, 2010), dan *ATP6* (Widayanti *et al.*, 2012) yaitu berturut-turut 13,1%, 13,4%, dan 0,8%. Namun, ketiga sekuen nukleotida gen tersebut (*COX1*, *Cyt b*, dan *ATP8*) sudah dapat digunakan sebagai penanda genetik *T. bancanus*, *T. spectrum* dan *T. diana*, walaupun pada tingkat asam amino gen tersebut kurang memberikan hasil yang memuaskan.

Pohon filogenetik berdasar sekuen nukleotida dan asam amino dianalisis menggunakan metode *Neighbor joining* dengan *bootstrap* 1000 kali. Pohon filogenetik berdasar sekuen nukleotida dan asam amino diajikan berturut-turut pada Gambar 4 dan 5.

Pada Gambar 4 dan 5, filogram menggunakan metode NJ terhadap urutan nukleotida dan asam amino *ND6* menempatkan ketiga spesies *Tarsius* membentuk cabang-cabang tersendiri. Pembentukan cabang filogram ini didukung oleh nilai *bootstrap* yang tinggi, yaitu 99%. Pemisahan ketiga spesies *Tarsius* ini sesuai dengan pembagian spesies *Tarsius* berdasar morfologi dan didukung oleh vokalisasi (Musser dan Dagosto 1987; Niemitz *et al.*, 1991). *T. diana* mempunyai hubungan kekerabatan lebih dekat terhadap *T. spectrum* daripada terhadap *T. bancanus*. tetapi *T. bancanus* (asal Lampung dan Kalimantan) mempunyai kekerabatan yang lebih dekat dengan *T. bancanus* (*GenBank*) dan *T. syrichta* (*GenBank*). Hasil penelitian ini juga sesuai dengan Hall (2001) yang mengemukakan bahwa ditinjau dari sejarah geologi, pulau Sulawesi diduga tidak pernah bersatu dengan daratan manapun dan menurut Shekelle (2004) keadaan terisolasi dalam waktu yang lama menimbulkan evolusi pada berbagai spesies, sehingga P. Sulawesi mempunyai tingkat endemisitas yang tinggi. Berbeda halnya dengan Sumatera, Jawa, Bali, dan Kalimantan yang pernah bersatu dengan daratan Asia sehingga *T. bancanus* (Lampung dan Kalimantan) lebih dekat kekerabatannya dengan *T. bancanus* dan *T. syrichta* (*GenBank*) daripada terhadap *T. spectrum* dan *T. diana* yang berasal dari Sulawesi.

Kelompok *Tarsius* pada Gambar 4 dan 5 tampak membentuk dua percabangan, cabang I, terdiri dari dua subcabang, yaitu satu subcabang terdiri dari *T. syrichta* dan subcabang lainnya membentuk sub subcabang lagi yang memisahkan *T. bancanus* (*GenBank*) dengan *T. bancanus* asal Kalimantan dan Sumatera. Cabang II, membentuk dua subcabang juga yang memisahkan *T. diana* dari ketiga sampel *T. spectrum*. Pemisahan ini didukung dengan nilai *bootstrap* yang sangat tinggi, yaitu untuk sekuen nukleotida didukung 99-100%, sedangkan berdasar asam amino didukung nilai *bootstrap* 97-100%.

Berdasar morfologi, sampai saat ini *Tarsius* masih menjadi perdebatan apakah masuk sub ordo *strepsirrhini* (kelompok primata kecil) atau intermedier (di pertengahan) antara subordo *haplorrhini* (kelompok primata besar) dan *strepsirrhini*, karena menunjukkan ciri-ciri di antara keduanya. Ciri-ciri yang sama dengan *strepsirrhini* yaitu *nocturnal*, mata besar, telinga dapat digerakkan, mempunyai *toilet claw* pada jari kaki kedua dan ketiga, serta mandibula tersusun dari dua tulang. Ciri-ciri yang sama dengan *haplorrhini* adalah tanpa *rhinarium* telanjang, tanpa *dental comb*, cermin hidung kering, gigi seri bawah menghadap ke atas, dan plasenta hemochorial (Napier Napier 1983). Pada penelitian ini (Gambar 4 dan 5), *Tarsius* terletak pada percabangan yang sama dengan *Nycticebus coucang* dan terpisah dengan primata lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa *Tarsius* dikelompokkan dalam kelompok *strepsirrhini*, yaitu kelompok primata yang sebelumnya disebut kelompok *prosimian*, yaitu suatu kelas primata yang memiliki tingkatan lebih rendah daripada kelompok lainnya dengan ciri-ciri *nocturnal*, mata besar, telinga dapat digerakkan, mandibula tersusun dari dua tulang, serta mempunyai *toilet claw* pada jari kaki kedua dan ketiga.

## SIMPULAN

Terdapat keragaman genetik pada sekuen nukleotida dan asam amino *ND6* antara *Tarsius bancanus*, *T. diana* dan *T. spectrum*. Keragaman *ND6* dapat digunakan sebagai penanda genetik antara *T. spectrum*, *T. diana* dan *T. bancanus*. Namun tidak dapat sebagai penanda genetik antara *T. bancanus* asal Kalimantan dan asal Sumatera.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian menggunakan *Tarsius* dari wilayah yang berbeda dengan *Tarsius* yang sudah diteliti.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada melalui proyek Hibah Pengembangan Bagian tahun 2012 yang telah memberi dukungan dana untuk penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Baaka A, Widayanti R. 2013. Kajian keragaman genetik gen *cytochrome oxidase* sub-unit I (*COX1*) *Tarsius bancanus*, *T. Spectrum* dan *T. Dianae*. *J Kedokteran Hewan (inpress)*.
- Groves C. 2001. *Primate taxonomy*. London :Smithsonian Inst Pr.
- Hall R. 2001. Cenozoic reconstructions of SE Asia and the SW Pacific: Changing patterns of land and sea. In *Faunal and floral migrations and evolution in SE Asia-Australia*. Lisse: Swets and Zeitlinger. 35-56.
- Kumar S, Tamura K, Jakobsen IB, Nei M. 2001. Molecular evolutionary genetics analysis version 2.0. Pennsylvania State Univ.: Inst of Molecular Evolutionary Genetics.
- Merker S. 2003. Endangered or adaptable?- The Dian's Tarsier *Tarsius Dianae* in Sulawesi's rainforests. Dissertation. Univ Gottingen.
- Musser GG, Dagosto M. 1987. The identity of *Tarsius pumilus*, a pygmy species endemic to the montane mossy of Central Sulawesi. *Am Museum Novitates*. 2867: 1-53.
- Napier JR, Napier PH. 1983. *The natural history of the primates*. British Museum (Natural History). Cromwell Road. London.
- Schmitz J, Ohme M, Zischler H. 2002. The complete mitochondrial sequence of *Tarsius bancanus*: evidence for an extensive nucleotide compositional plasticity of primate mitochondrial DNA. *J Mol Biol Evol* 19:544-553.
- Shekelle M. 2003. Taxonomy and biogeography of Eastern Tarsiers. Doctoral thesis. St. Louis: Washington Univ.
- Shekelle M, Leksono SM. 2004. Strategi Konservasi di Pulau Sulawesi dengan Menggunakan *Tarsius* Sebagai Flagship Species. *Biota*. 9:1-10.
- Shekelle M. 2008. The History and Mystery of the Mountain Tarsier, *Tarsius pumilus*. *Primate Conservation* (23):121-124.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. Clustal W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, Position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Res* 22: 4673-4680.
- Widayanti R, Solihin DD, Sajuthi D, Perwitasari D. 2006. Kajian Penanda Genetik Gen *Cytochrome B* pada *Tarsius* sp. *J Sain Vet* 24(1):1-8.
- Widayanti R, Solihin DD. 2007. Kajian Penanda Genetik *Tarsius bancanus* dan *Tarsius spectrum* dengan sekuen D-Loop Parsial DNA Mitokondria. *Biota* 12(3): 170-176.
- Widayanti R. 2010. Kajian molekuler gen *ATP synthase FO* subunit 8 (*ATP8*) pada DNA mitokondria *Tarsius* sp. *Media Kedokteran Hewan* 26(3):174-182.
- Widayanti R, Handayani NSH, Budiarsa IM. 2010. Kajian molekuler *Tarsius* sp. pada gen penyandi *Cytochrome Oxidase* sub-unit 2 (*COX2*) mitokondria. *Biota* 15(1): 98-106.
- Widayanti R, Handayani NSH, Budiarsa IM. 2011. Keragaman genetik gen penyandi *Dehydrogenase* Sub-unit 3 mitokondria pada monyet hantu (*Tarsius* sp.): Upaya Konservasi *Tarsius* sp. *Jurnal Veteriner* 12(1):26-33.
- Widayanti R, Susmiati T. 2012. Studi keragaman genetik *Tarsius* sp. asal Kalimantan, Sumatera, dan Sulawesi berdasarkan sekuen gen *NADH dehydrogenase* subunit 4L (ND4L). *Jurnal Kedokteran Hewan* 6 (2): 105-111.
- Widayanti R, Handayani NSH; Wijayanto H. 2012. Keragaman genetik sekuen gen *ATP synthase FO* subunit 6 (*ATP6*) monyet hantu (*Tarsius*) Indonesia. *Jurnal Veteriner* 13 (4):358-370.