

Identifikasi Trenggiling (*Manis javanica*) Menggunakan Penanda *Cytochrome B* Mitokondria DNA

(IDENTIFICATION OF PANGOLIN (*MANIS JAVANICA* DESMAREST, 1822) USING
CYTOCHROME B mtDNA MARKER)

Wirdateti, Gono Semiadi, Yulianto

Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi,
Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
Jln. Raya Jakarta- Bogor KM 46. Cibinong 16911
Telepon: 021-8795056
Email : teti_mzb@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui profil genetik trenggiling (*Manis javanica*) dalam penentuan asal usul satwa tersebut dalam proses budidaya dan perdagangan ilegal. Koleksi sampel trenggiling diambil dari beberapa lokasi penangkapan hasil sitaan yaitu Tangerang, Medan dan Lampung serta sampel alam yaitu dari Balik Bukit, Tanggamus, Provinsi Lampung dan Sukabumi, Jawa Barat. Penelitian menggunakan gen *Cytochrome b* (Cyt. B) mitokondria DNA (mtDNA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa trenggiling hasil sitaan tersebar di dalam tiga *clade* dan dua kelompok berdasarkan perbedaan basa dari jajaran nukleotida sepanjang 420 nt. Variasi haplotipe tinggi yaitu terdiri dari 19 haplotipe (TR1-TR19) dari 19 individu. Pada *clade* pertama yaitu TR4,7,16,9,dan 19, substitusi tinggi pada basa adenin (A); *clade* kedua yaitu TR14,17,1,2,15,3,8, dan 13, substitusi tinggi pada basa guanin (G) dan *clade* ketiga yaitu TR5,6,10,11, dan 12., substitusi tinggi pada basa cytosin (C). Dapat disimpulkan bahwa variasi haplotipe dari masing-masing populasi cukup tinggi tetapi jarak genetik antar individu rendah. Secara keseluruhan mutasi yang terjadi didominasi oleh transisi dari basa guanin ke adenin.

Kata-kata kunci : trenggiling, *Manis javanica*, sitaan, cytB mtDNA

ABSTRACT

The aim of this study was to identify the genetic profile of Malay pangolin (*Manis javanica*) and origin patterns of confiscated specimens. Tissue samples of Malay pangolin were collected from several confiscated materials in Tangerang, Medan, and Lampung. Wild collections tissue were also conducted in Lampung and Sukabumi. The study was conducted using conserved Cytochrome b (Cyt. B) DNA mitochondria (mtDNA). The results showed that based on nucleotide base length of 420 nt, confiscated pangolin was distributed in three clades and two groups. Haplotype variations was high, consisted of 19 haplotypes in 19 individuals (TR1-TR19). On first clade (TR4,7,16,9,19) high substitution occurred in adenine base, clade two (TR14,17,1,2,15,3,8,13) high substitution occurred in guanine base and clade three (TR5,6,10,11,12) in cytosine. It was concluded that haplotype variation of each populations was high and for genetic distance between individuals was low. Mutation rates was dominated by transition from guanine to adenine

Key words : Malay pangolin, *Manis javanica*, smuggling, cytB mtDNA

PENDAHULUAN

Trenggiling (*Manis javanica*) yang disebut juga *Malayan Pangolin* termasuk ke dalam famili *Manidae*, ditemukan di Asia Tenggara sampai Indo China. Trenggiling, di Indonesia tersebar di pulau Sumatra, Jawa, dan Kalimantan serta pulau-pulau sekitarnya (Corbert dan Hill 1992). Populasi *M. javanica* mengalami penurunan karena perubahan lingkungan dalam habitat, perburuan dan penggunaan untuk pengobatan tradisional terutama untuk *Manis pendactyla* (Wu *et al.*, 2002). *M. javanica* termasuk status *endangered* (mendekati kepunahan) (IUCN, 2010). Meskipun seluruh genus *Manis spp.* dilindungi oleh perundangundangan Nasional maupun International di bawah *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (CITES), perdagangan *illegal* trenggiling tidak berhenti tetapi semakin meningkat (Newton *et al.*, 2008; Pantel dan Chin, 2009). Di dunia trenggiling termasuk dalam *Appendix II CITES*. Masuknya trenggiling dalam daftar CITES karena kondisi perdagangan internasional yang dirasakan telah di luar batas kewajaran dan daya mampu reproduksi satwa tersebut, sehingga dikhawatirkan akibat dari perdagangan yang tidak terkontrol mengakibatkan populasinya terganggu di alam atau menjadi punah.

Tingginya minat internasional terhadap trenggiling lebih banyak sebagai akibat dari tingginya konsumen satwa eksotik di daratan Cina dan semenanjung sekitar Vietnam, Laos, dan Kamboja. Trenggiling terutama di wilayah Indo-China, menjadi salah satu bahan dasar *Traditional Chinese Medicine* (TCM) yang telah berumur ratusan tahun dan merupakan budaya bangsa. Saat ini dilaporkan bahwa di kawasan tersebut keberadaan jenis trenggiling setempat (*M. pentadactyla*) telah sangat rendah dan dikhawatirkan di ambang kepunahan, sehingga pensuplai trenggiling banyak mencari ke Negara Asia dan Asia Tenggara, seperti Indonesia, Malaysia hingga ke daerah India dan kemungkinan sampai ke Afrika. Ini dapat terjadi mengingat harga jual yang sangat tinggi dengan teknik penangkapan yang relatif mudah. Sementara itu sisik dan daging trenggiling menunjukkan permintaan yang besar di Asia dan Afrika. Ancaman terbesar terhadap keberadaan trenggiling adalah perburuan liar (Newton *et al.*, 2008; Pantel dan Chin, 2009; Duckworth *et al.*, 1999; Ellis, 2005). Hal ini

menjadi perhatian khusus karena trenggiling memiliki laju reproduksi lambat, yang menghambat kemampuan mereka untuk pulih dari penurunan populasi yang begitu cepat (Newton *et al.*, 2008; Nowak, 1999; Lim dan Ng, 2008).

Selain itu, trenggiling tidak berkembang di penangkaran dan sangat sulit untuk berkembang biak di luar habitat, sehingga program penangkaran trenggiling untuk tujuan konservasi sulit berhasil (Chin *et al.*, 2006; Pantel dan Chin, 2009). Penelitian tentang trenggiling sangat terbatas, beberapa penelitian dasar yang telah dilaporkan adalah mengenai taksonomi, kromosom, dan sangat sedikit mengenai molekuler, persebaran dan ekologi. Semua penelitian tentang trenggiling tersebut lebih memfokuskan pada jenis yang tidak berasal dari Indonesia (Munyala *et al.*, 2008, Nie *et al.*, 2011, Meyer *et al.*, 2010, Gaudin dan Wible 1999). Hingga saat ini, perhatian mengenai trenggiling masih sangat didominasi oleh permasalahan kekhawatiran karena tingkat perdagangan antar negara yang terjadi (Pantel dan Chin, 2009). Perlindungan hewan ini rentan oleh badan-badan penegak hukum satwa liar karena terhambat oleh kurangnya metode yang handal dan akurat dalam mengidentifikasi spesies trenggiling ataupun produk trenggiling. Dengan demikian perlu dilakukan pengungkapan penciri dari sumber genetik trenggiling yang berguna dalam mengidentifikasi satwa tersebut di dalam perdagangan *illegal* dan juga di dalam usaha konservasi dan restorasi trenggiling baik secara *in-situ* maupun *ex-situ*. Untuk itu dilakukan penelitian menggunakan sekuen dari genome mtDNA gen *Cytochrome b* pada *M. javanica*. Gen *cytochrom b* mtDNA banyak digunakan pada studi phylogenetik dan identifikasi species karena mengalami mutasi rendah dan *conserve* (Kuwayama dan Ozawa, 2000; Irwin *et al.*, 1991) dan juga digunakan dalam studi evolusi molekuler (Kocher *et al.*, 1989). Selain itu, mtDNA memiliki stabilitas tinggi dan mempunyai jumlah *copy* DNA yang lebih tinggi dari DNA inti (Parson *et al.*, 2000). Gen tersebut juga telah digunakan untuk analisis di dalam mengendalikan perdagangan internasional pada spesies terancam punah (Prusak *et al.*, 2005). Hsieh *et al.*, (2003) menyatakan bahwa fragmen dari gen *Cyt b* cukup dapat membedakan spesies yang berhubungan dekat. Dalam penelitian ini penggunaan *Cyt b* bertujuan untuk mengungkap profile genetik trenggiling guna

aplikasinya di dalam konservasi dan perdagangan satwa.

METODE PENELITIAN

Koleksi Sampel dan laboratorium

Penelitian menggunakan sampel berupa jaringan (daging) trenggiling yang dikoleksi dari hasil sitaan dan tangkapan di beberapa lokasi yaitu Jakarta, Medan, Balai Konservasi Sumber Daya Alam (BKSDA) Tegal Alur, Sukabumi, dan Lampung. Total sampel sebanyak 19 individu yaitu sembilan sampel dari sitaan di Jakarta; dua sampel dari BKSDA Tegal Alur; lima sampel dari Medan, dua sampel hasil sitaan tangkapan wilayah Lampung (Balik Bukit dan Tanggamus) dan satu sampel dari hasil tangkapan wilayah Sukabumi (Jawa Barat). Tiga sampel hasil tangkapan adalah mewakili dari populasi alam yang diketahui asal usulnya, sementara 16 sampel lainnya merupakan *unidentified* (tidak diketahui).

Total DNA diekstrak dari jaringan (daging) yang diawetkan pada ethanol 95%. Keseluruhan sampel trenggiling diamplifikasi dengan PCR menggunakan gen *Cyt b* mtDNA. Primer yang digunakan adalah universal (Kocher *et al.*, 1989) yaitu *forward* H 15149, 5'-GCCCTCA-GAATGATATTTGTCCTCA-3 dan *reverse* L 14724, 5'-CGAA GCTTGATATGA AAAACCA-TCGTTG-3. Volume PCR dalam 25 ul terdiri dari; 10 mM Tris-HCl (pH 8,3); 50 mM KCl; 1,5–3,0 mM MgCl₂; 10um dNTP; 2.5 pm primers (First Base), 5 U Taq Polymerase (Qiagen), DNA template konsentrasi 100–200 ng dan *Milliquote* (MQ) water. Kondisi PCR prede-naturasi 5 menit pada 95°C; (denaturasi 95°C selama 30 detik, *annealing* 56°C selama 30 detik, *elongasi* 72°C selama 1 menit) sebanyak 40 siklus, dan final *elongasi* 10 menit pada 72°C.

Analisis Data

Semua sekuen yang dihasilkan dibandingkan dengan data base GenBank program BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>) untuk mengetahui sekuen sesuai dengan spesies yang diteliti dan digunakan sebagai pembandingan dalam analisis. Semua sekuen diedit dengan program Bioedit v 5.0.6 (Hall, 2001). dan di-*aligned* (penjajaran) menggunakan Clustal X version 1.82 software (Thompson *et al.*, 1997). Analisis data dari haplotipe (hd), *Nucleotide diversity* (δ) dengan metode Tajima (1989), distance (d), variability

dan transisi/transversi diuji menggunakan MEGA Version 4.0 (Tamura *et al.*, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sekuen *Cytochrome b* Trenggiling

Amplikasi gen *Cyt b* dari 19 sampel menghasilkan panjang sekuen sekitar 420 bp dengan menggunakan primer universal H15149 dan L14724. Sekuensing dilakukan menggunakan kedua primer *forward* (H) dan *reverse* (L). Sekuen tersebut setelah disejajarkan menggunakan Clustal X, terdapat beberapa insersi dan delesi basa atau gap (basa yang tidak berpasangan), sehingga panjang sekuen yang dapat dianalisis diluar gap tersebut sepanjang 373 nt. Sekuen dari *M. javanica* hasil penelitian dibandingkan dengan sekuen *M. pendactyla* yang tersedia di GenBank dengan *accession* no. AJ304500.1 dan JN411577.1, kemudian sekuen tersebut digunakan sebagai pembandingan dalam analisis sehingga total sampel yang dianalisis sebanyak 20 sampel. Sekuen nukleotida *M. javanica* dari sampel penelitian memberikan kesamaan yang tinggi dengan sekuen *M. pendactyla* yaitu sekitar 98% sampai 99% untuk panjang sekuen sekitar 420 nt atau sepertiga dari keseluruhan panjang sekuen *Cyt b* dengan variasi situs antara 4 sampai 8 nt. Akan tetapi hasil penelitian Hsieh *et al.*, (2011), analisis sekuen *D-loop M. pendactyla* memberikan kesamaan sekitar 71,7% sampai 82,7% dengan *M. tetradactyla* dan dibandingkan dengan *M. pendactyla* dari GenBank memiliki kesamaan sekitar 99,9%. Dengan demikian hasil penelitian ini menunjukkan secara genetik *M. javanica* lebih dekat dengan *M. pendactyla* yang tersebar di wilayah China atau Asia sementara *M. tetradactyla* tersebar di wilayah Afrika. Hal ini menunjukkan bahwa gen *Cyt b* merupakan daerah *conserve* (mutasi rendah), sehingga banyak digunakan sebagai marker guna identifikasi dalam ataupun antar spesies. *Cytochrome b* secara luas juga digunakan dalam studi sistematik guna memecahkan perbedaan pada tingkat taksonomi dan dianggap gen yang paling berguna dalam studi phylogenetik yang berkaitan dengan struktur dan fungsi protein (Esposti *et al.*, 1993).

Hasil analisis 20 sekuen sepanjang 373 nt *Cyt-b* mtDNA ditemukan 32 variasi situs dan memberikan 20 haplotipe yaitu 21 situs informatif dan 11 situs *singleton* (Tabel 1.) dengan nilai ratio transisi/transversi R = 2,319.

Laju transisi basa purin adalah 8,107 dan laju tranversi basa pyrimidin adalah 3,780. Persentase perbedaan nukleotida pada sekuen *Cyt b* dari sampel trenggiling hasil tangkapan dan sitaan adalah berkisar dari 0,3% sampai dengan 4, 2% (rata-rata 2,25%), sedangkan keragaman nukleotida (δ) menunjukkan 0,025 atau 2,5% dan keragaman haplotipe (h) adalah sekitar 0,947 atau 94,7%. Keragaman genetik terlihat cukup tinggi tetapi dari rata-rata jarak genetik (d) $0,026 \pm 0,006$ menunjukkan variasi rendah di dalam populasi. Populasi yang dimaksud terutama adalah dari hasil sitaan, sehingga untuk identifikasi asal trenggiling hanya dapat mengacu kepada tiga sampel yang diperoleh dari alam yaitu Lampung dan Sukabumi. Semua penghitungan analisis pada sekuen dilakukan dengan MEGA 4.0 (Tamura et al., 2007).

Perbedaan Genetik Antara Populasi

Trenggiling tersebar hampir menyeluruh di Pulau Sumatra, Jawa, dan Kalimantan serta pulau-pulau sekitarnya. Hasil sitaan trenggiling merupakan tangkapan dari pesebaran yang tidak diketahui asal usulnya. Hasil analisis menunjukkan bahwa rata-rata jarak genetik (d) adalah $0,026 \pm 0,006$ pada sampel yang diperoleh dari hasil sitaan dan tangkapan dari alam (Tabel 2). Jarak genetik tersebut terlihat cenderung rendah di antara individu, yang menunjukkan struktur genetik di antara populasi trenggiling dari pesebaran berbeda tidak begitu bervariasi. Hal ini disebabkan sifat gen *Cyt b* yang *conserve* jarang mengalami mutasi basa, sehingga kecil terjadi perbedaan basa pada jajaran nukleotida. Dibandingkan dengan kelompok *Cervidae* (rusa), jarak genetik, keragaman nukleotida, dan keragaman haplotipe pada trenggiling lebih baik atau lebih tinggi. Hasil penelitian pada jenis rusa

Tabel 1. Variasi situs nukleotida dari 20 haplotipe gen Cytochrome b pada sampel trenggiling sitaan dan alam.

Haplotipe ^b	Ne ^c	Nucleotide site ^a			
		1466789	1111111122	2223333333	33
		1340807873	1124446902	4790005667	77
TR4LM	1	GTCAATGTAT	GCGAATGTAG	CGAATGAAGC	AA
TR7LT	1	.G.....
NC0160081	1A..GCT.	T.
TR9LJ	1	.AA.....	A.....A..	.A.....	..
TR19Lb	1	.AA.....	AA...A..	.A.....	..
TR16Lg	1	.AA.....A..
TR1LM	1C....	...G..A..	..GG..A....	..
TR17LJ	1C....A..	..GG.....	..
TR14LJ	1C..G.A..	..GG.....	..
TR18LT	1GC..G.GCA..	..GG.....	..
TR8LS	1	CC.G.....	A.....A..	.AGG.....	..
TR2LM	1	.AA..C....	...G..A..	..GG.....A	..
TR15LM	1	.AA..C....	...G..A..	..GG.....	..
TR13LJ	1	.AA..CA.G.	A.....C	.AGG.....A	..
TR3LM	1	.G...C....A..	..G.....A	..
TR5LJ	1C...C	.T...CCCG.C.....	.T
TR6LJ	1C...C	.T...CCCG.	T.G.C.....	..
TR10LJ	1	AAA..C.C.C	ATA..CCCG.C.....	..
TR11LJ	1	.AA..C.C.C	ATA..CCCGC	.A..C...A	..
TR12LJ	1	AAA..C...C	AT...CCCG.C.....A	..

Keterangan :^a Posisi situs yang mengalami mutasi pada jajaran sekuen Cyt-b

^b Haplotipe yang ditemukan pada penelitian ini

^c Jumlah sampel

TR19Lb, TR16Lg : Trenggiling asal Lampung; TR8LS: Trenggiling asal Sukabumi

TRLM, TRLJ, TRLT: Trenggiling sitaan

yang juga merupakan hasil tangkapan alam atau perburuan menunjukkan, bahwa pada rusa sambar (*Cervus unicolor*) jarak genetik (d) 0,013 ± 0,002, keragaman nukleotida (δ) 0,025 (Wiradateti, 2011); pada sika deer (*Cervus nippon*) keragaman nukleotida (δ) 0,0106 (Wu *et al.*, 2004), *Chinese water deer* (*Hydropotes inermis inermis*) dengan keragaman haplotipe (h) 0,923±0,025 dan keragaman nukleotida (δ) 1,318 ± 0,146% (Hu *et al.*, 2006); dan *black muncak* (*Muntiacus muncak*) dengan keragaman haplotipe (h) 0,862 dan keragaman nukleotida (δ) 0,0056 (Wu dan Fang, 2005).

Pohon filogeni digambarkan dengan *Neighbor Joining* (NJ) dari 20 haplotipe trenggiling (Gambar 1). Analisis filogeni berdasarkan haplotipe, digunakan untuk menggambarkan kelompok trenggiling yang diperoleh dari hasil sitaan dan tangkapan alam. Pohon filogeni menunjukkan dua kelompok dan satu kelompok terdiri dari dua sub kelompok. Individu pada kelompok kedua sebanyak lima haplotipe menunjukkan jarak genetik yang cukup tinggi dibandingkan dengan haplotipe lainnya. Jarak genetik kelima haplotipe tersebut dengan haplotipe lain berkisar 0,02–0,057 (rata-rata 0,041) (Tabel 2.). Kelima haplotipe ini berasal dari lokasi sitaan yang sama yaitu daerah Jakarta, sehingga dimungkinkan kelima haplotipe berasal dari populasi atau lokasi yang

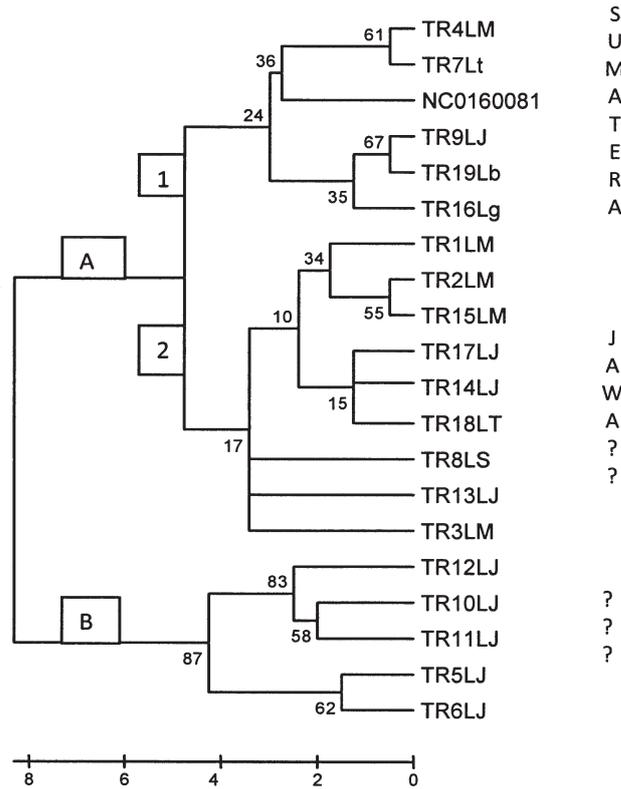
sama. Tiga haplotipe lain hasil sitaan Jakarta tersebar di dua *clade* yaitu dua haplotipe membentuk *clade* dengan sampel berasal dari Sukabumi, Jawa Barat (alam) dan satu haplotipe membentuk *clade* dengan sampel yang berasal dari Lampung (alam). Sementara haplotipe lain dari sampel sitaan Medan tersebar di dua *clade* pada kelompok yang sama yaitu pada *clade* haplotipe Sumatra (Lampung) dan *clade* Jawa Barat (Sukabumi). Di dalam penelitian ini berdasarkan pohon filogeni menggambarkan bahwa populasi trenggiling dari Sumatera memiliki kekerabatan yang lebih dekat dengan populasi Jawa.

Komposisi variasi basa haplotipe pada kelompok atau *clade* yang terbentuk menunjukkan struktur berbeda yaitu pada *clade* 1 kelompok A mutasi yang terjadi tinggi pada substitusi basa adenin (A), *clade* 2 kelompok A substitusi tinggi pada basa guanin (G) dan pada haplotipe kelompok B, substitusi tinggi pada basa cytosin (C) (Tabel 1). Dari hasil analisis ini diperoleh gambaran asal usul trenggiling hasil sitaan. Perhitungan persentase substitusi nukleotida menunjukkan transversi dari timin (T)-adenin (A) 3,83%, A-T 3,18%, C-A 3,83%, A-C 3,7%, C-T 3,18%, T-G 2,13%, dan C-G 2,13%. Substitusi transisi dari G-A 31,03%, C-T 12,01%, T-C 13,99% dan A-G 17,29%. Artinya pada jajaran nukleotida gen *cyt b* trenggiling, mutasi

Tabel 2. Jarak genetik (d) trenggiling dari 20 sampel hasil sitaan dan tangkapan alam.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	-																			
2	0.003	-																		
3	0.014	0.016	-																	
4	0.014	0.014	0.022	-																
5	0.016	0.016	0.025	0.003	-															
6	0.008	0.008	0.016	0.005	0.008	-														
7	0.016	0.019	0.025	0.025	0.027	0.019	-													
8	0.011	0.014	0.019	0.019	0.022	0.014	0.005	-												
9	0.014	0.016	0.022	0.022	0.025	0.016	0.008	0.002	-											
10	0.022	0.025	0.030	0.030	0.033	0.025	0.016	0.011	0.008	-										
11	0.022	0.022	0.030	0.016	0.019	0.022	0.022	0.016	0.019	0.027	-									
12	0.022	0.022	0.031	0.019	0.022	0.014	0.011	0.011	0.014	0.022	0.025	-								
13	0.019	0.019	0.028	0.016	0.019	0.011	0.008	0.008	0.011	0.019	0.022	0.003	-							
14	0.030	0.030	0.045	0.022	0.025	0.027	0.030	0.025	0.022	0.030	0.028	0.019	0.022	-						
15	0.014	0.011	0.022	0.019	0.022	0.014	0.014	0.008	0.011	0.019	0.022	0.011	0.014	0.025	-					
16	0.025	0.028	0.036	0.036	0.036	0.031	0.033	0.028	0.030	0.033	0.045	0.039	0.036	0.051	0.031	-				
17	0.028	0.030	0.039	0.039	0.039	0.033	0.030	0.025	0.028	0.030	0.042	0.036	0.033	0.048	0.028	0.008	-			
18	0.039	0.039	0.051	0.033	0.033	0.033	0.047	0.042	0.045	0.047	0.048	0.042	0.039	0.047	0.042	0.019	0.022	-		
19	0.045	0.045	0.057	0.033	0.033	0.039	0.053	0.048	0.051	0.053	0.051	0.042	0.045	0.036	0.042	0.025	0.028	0.011	-	
20	0.036	0.036	0.048	0.030	0.030	0.030	0.045	0.039	0.042	0.045	0.045	0.033	0.036	0.039	0.033	0.016	0.019	0.008	0.014	-

Keterangan: No. 1-20 mengikuti urutan haplotipe pada Tabel. 1



Gambar 1. Pohon filogeni dari haplotipe trenggiling berdasarkan gen *Cyt b* mtDNA, menggunakan metode *neighbor joining* (Saitou dan Nei,1987).

atau pergantian basa tinggi terjadi pada basa purin dari guanin ke adenin dan rendah pada basa pyrimidin. Hasil ini menunjukkan bahwa komposisi mutasi di jajaran sekuen *Cyt b* mtDNA *M. javanica* tinggi pada basa purin. Mutasi yang terjadi secara transisi dari G-A adalah dominan ditemui pada *clade* 2 dan berdasarkan pengelompokan berada dalam satu *clade* dengan trenggiling berasal dari Sukabumi (Jawa Barat). Sementara persentase mutasi dari A-G tinggi pada populasi yang berada satu *clade* dengan sampel berasal dari Lampung. Dengan demikian pola mutasi tersebut dari profil genetik trenggiling dan gambaran pohon filogeni diharapkan dapat memberikan suatu informasi asal penangkapan dan populasi trenggiling di masing-masing wilayah pesebaran sebagai acuan dalam manajemen konservasi trenggiling baik secara *in-situ* maupun *ex-situ*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis gen *Cytochrome b* mtDNA, menunjukkan keragaman

haplotipe trenggiling cukup tinggi, tetapi jarak genetik antar individu adalah rendah. Komposisi mutasi basa secara substitusi dapat mengelompokkan masing-masing individu dalam suatu *clade* yang mengindikasikan asal populasi. Pola mutasi nukleotida pada *cyt b* trenggiling lebih didominasi oleh substitusi transisi yaitu pada basa purin (G-A) pada populasi Jawa dan A-G pada populasi Sumatra. Tetapi hasil ini belum dapat memberikan hasil yang signifikan karena asal sampel umumnya tidak diketahui dengan pasti.

SARAN

Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan menggunakan sampel berasal dari populasi lokasi yang diketahui. Untuk mendapatkan hasil yang sensitif dari penanda masing-masing populasi perlu dilakukan pengujian pada gen lain dengan menggunakan primer spesifik, sehingga dapat diketahui profile genetic dari masing-masing pesebaran

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Program Kompetitif LIPI yang telah mendanai penelitian ini. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada staf BKSDA Lampung, Bapak Yuliansyah (Kapolsek Balik Bukit, Lampung) dan pihak-pihak yang telah membantu dalam perolehan sampel penelitian.

PUSTAKA

- Chin SC, Liu CH, Guo JC, Chen, L.S. Yeh SY. 2006. A 10-year review of autopsy of rescued Formosan pangolin (*Manis pentadactyla pentadactyla*) in Taipei zoo. *Proceedings of AZWM*, 43.
- Duckworth JW, Salter RE, Khounboline K. 1999. Wildlife in Laos PDR: status report. IUCN, Vientiane.
- Ellis, T. 2005. Tiger bone and rhino horn: the destruction of wildlife for traditional Chinese medicine. Island Press, London, U.K.
- Esposti DM, De Vries S, Crimi M, Ghelli A, Patarnello T, Meyer A. 1993. Mitochondrial cytochrome *b*: evolution and structure of the protein. *Biochim Biophys Acta* 1143:243–271.
- Gaudin TJ, Wible JR. 1999. The Entotympanic of Pangolins and the Phylogeny of the Pholidota (Mammalia)
- Hall T. 2001. Bioedit version 5.0.6. Department of Microbiology, North Carolina State University. <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html> *Journal of Mammalian Evolution*, Vol. 6.
- Hsieh HM, Huang LH, Tsai LC, Kuo YC, Meng HH, Linacre A, Lee JCI, 2003. Species identification of rhinoceros horns using the cytochrome *b*. *Forensic Science International* 136, 1-11
- Hsieh HM, James CI, Lee BC, Wud JH, Chen CA, Chen YJ, Wang GB, Chin SC, Wang LC, Adrian L, Tsai LC. 2011. Establishing the pangolin mitochondrial D-loop sequences from the confiscated scales. *Forensic Science International: Genetics* 5 (2011) 303–307.
- Hu J, Fang SG, Wan QH. 2006. Genetic Diversity of Chinese Water Deer (*Hydropotes inermis inermis*): Implications for conservation. *Biochemical Genetics* 44(314): 161-172
- Irwin DM, Kocher TD, Wilson A.C.. 1991. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. *J Mol Evol* 32 (1991) 128–144.
- IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 14 February 2011 .
- Kocher TD, Thomas WK, Meyer M, Edwards SV, Paabo S, Villablanca FX, Wilson AC. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86: 6196-6200.
- Kuwayama P, Ozawa T. 2000. Phylogenetic relationships among European red deer, wapiti, and sika deer inferred from mitochondrial DNA sequences, *Mol. Phylogenet. Evol.* 15: 115–123.
- Lim NTL, Ng PKL. 2008. Home range, activity cycle and natal den usage of a female Sunda pangolin *Manis javanica* (Mammalia : Pholidota) in Singapore). *Endangered Species Research* 4: 233-240.
- Meyer W, Liumsricharoen M, Hornickel I, Suprasert A, Schnapper A, Fleischer L. 2010. Demonstration of substances of innate immunity in the integument of the Malayan pangolin (*Manis javanica*). *Eur J Wildl Res* 56:287–296.
- Munyala R, Liumsricharoen M, Pongket P, Prapong T, Suprasert A. 2008. Characterization of Glycoconjugates in the Sublingual Salivary Gland of Malayan Pangolin (*Manis javanica*). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 42 : 88 – 94.
- Newton P, Thai NV, Robertson S, Bell D. 2008. Pangolins in peril: using local hunters knowledge to conserve elusive species in Vietnam. *Endangered Species Research*, 6: 41-53. .
- Nie W, Wang J, Su W, Wang Y, Yang F. 2009. Chromosomal rearrangements underlying karyotype differences between Chinese pangolin (*Manis pentadactyla*) and Malayan pangolin (*Manis javanica*) revealed by chromosome painting *Chromosome Research* 17:321–329
- Nowak RM, Walker's. 1999. Mammals of the world, Vol 2, 6th ed. Baltimore. John Hopkins University Press,.
- Pantel S, Chin SY. 2009. Proceedings of the Workshop on Trade and Conservation of Pangolins Native to South and Southeast Asia, TRAFFIC Southeast Asia, Kuala Lumpur.

- Parson W, Pegoraro K, Niederstatter H, Foger M, Steinlechner M. 2000. Species identification by means of the cytochrome b gene. *International Journal of Legal Medicine* 114, 23-28.
- Prusak B, Grzybowski G, Zieba G. 2004. Taxonomic position of *Bison bison* (Linnaeus, 1758) and *Bison bonasus* (Linnaeus, 1758) based on analysis of cytb gene. *Animal Science Papers and Reports* 22, (1), 27-35.
- Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol.Biol.Evol.* 4;406-425
- Tajima F. 1989. Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123: 585-595
- Tajima F, Nei M. 1984. Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Molecular Biology and Evolution* 1:269-285.
- Tamura K, Nei M. Kumar S. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *PNAS* 101:11030-11035.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0
- Thomson JD, Gibson TJ, Plewniak, F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleid Acids Res.* 24: 4876-4882
- Wirdateti. 2011. Keragaman Genetik Rusa sambar (*Rusa unicolor*), Pemanfaatan dan Implikasinya untuk Konservasi. *Jurnal Biologi Indonesia.* 8(1): 131-140
- Wu SB, Ma GZ, Tang M, Chen H, Liu NF. 2002. The status and conservation strategy of pangolin resource in China. *J Nat Res* 17:174–180.).
- Wu HL, Fang SG. 2005. MtDNA genetic diversity of black muntjac (*Muntiacus crinifrons*): n endangered species endemic to China. *Biochem Genet* 43:407-416.
- Wu H, Wang, QH, Fang SG. 2004. Two genetically distinct units of the Chinese Sika deer (*Cervus nippon*): Analyses of mitochondrial DNA variation. *Biol Conserv* 119:183-190.