

Jurnal Kajian Veteriner
ISSN : 2356-4113
EISSN : 2528-6021

Vol. 7 No. 1 : 12-46 (2019)
DOI: 10.35508/jkv.v7i1.02

KAJIAN MOLEKULER KUSKUS (FAMILI *PHALANGERIDAE*) DI PENANGKARAN DESA LUMOLI, SERAM, MALUKU BERDASARKAN URUTAN GEN ATP8

*(Molecular Study of Cuscus (Family of Phalangeridae) in Lumoli Rural District
Breeding Farm, Seram, Maluku Based by Gene Sequence of ATP 8)*

Marthinus Usmany^{1*}, Pieter Kakisina²

¹Guru Biologi Pada SMA Negeri 4, Ambon

Jl. Wolter Monginsidi Lateri Ambon, 97232 (0911) 322091

²Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Pattimura, Ambon

*Korespondensi : menos.usmany@yahoo.co.id; menosusmany03@gmail.com

Pemasukan Artikel : 7 Januari 2019 Direvisi : 17 Mei 2019 Diterima : 7 Juni 2019 Publikasi Daring : 15 Juni 2019

ABSTRACT

The cuscus is an Australian animal (marsupial) which belongs to the Phalangeridae family and its distribution is limited in eastern Indonesia, Australia and Papua New Guinea. Through IUCN data, cuscus is categorized as endangered species, in CITES it is classified as Appendix II. The population of cuscus is decreasing due to the threat of deforestation, many are hunted for consumption, and are traded illegally. To overcome the above problems, it is necessary to conduct a comprehensive study of the study of cuscus genotypes in the hope that they can assist in future wildlife conservation efforts. The purpose of this study was to molecularly examine the types of living cuscus in captivity in Lumoli Village, West Seram Regency, Maluku. This research begins with the stages of DNA isolation through cuscus tissue. DNA isolation products were amplified in the ATP 8 gene region by the PCR method, sequenced. Data was analyzed using MEGA program version 5.1. The PCR reaction produces 681 bp of product. The results of the analysis obtained 85 different nucleotide sites. The nucleotide sequence of the ATP 8 gene was analyzed using kimura 2 parameters. The construction of the filogram using the neighbor joining method with a bootstrap value 1000 times based on the ATP 8 gene sequence shows the kinship between the four types of cuscus, which produces two branches of Phalanger and Spilocuscus, namely brown cuscus related to white cuscus and related cuscus with spotted cuskus.

Key Words : Cuscus, ATP8 gene, PCR, Nukleotida.

PENDAHULUAN

Pulau Seram merupakan salah satu pulau di propinsi Maluku yang memiliki sumber daya alam berupa kekayaan flora dan fauna yang

cukup tinggi. Hal ini dibuktikan dengan adanya beragam jenis spesies tumbuhan dan hewan yang bervariasi.

Kekayaan keanekaragaman flora dan fauna ini perlu dipertahankan sebagai suatu sumber kekayaan alam yang patut dilestarikan dari ancaman kepunahan yang disebabkan oleh adanya aktifitas manusia serta perkembangan pembangunan (Farida dkk.,2004; Dahruddin dkk., 2005; Fatem dan Sawen, 2007; Saragih, 2010).

Desa Lumoli secara administrasi termasuk wilayah pemerintahan kecamatan Piru, Kabupaten Seram Bagian Barat. Untuk mencapai lokasi penelitian diperlukan waktu perjalanan dari ibu kota propinsi kurang lebih 2 jam dengan kendaraan bermotor. Keadaan topografi desa Lumoli adalah datar hingga berbukit dengan variasi kemiringan berkisar 0 – 30% dengan ketinggian 200 – 500 m di atas permukaan laut. Jenis tanah untuk daerah datar sampai sekitar sungai yaitu jenis tanah podsolik dan berpasir dengan warna coklat sampai kehitaman serta pada bagian tertentu banyak mengandung bebatuan. Daerah perbukitan dijumpai tanah podsolik dengan warna merah kekuningan dengan bahan induk berupa endapan batuan daerah perbukitan.

Seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk, kebutuhan akan pangan dan kegiatan pembangunan, telah terjadi eksploitasi sumber daya alam hayati yang berlebihan,

sehingga mengganggu kelestarian biodiversitas suatu kawasan termasuk di dalamnya keberadaan jenis satwa seperti kuskus. Kuskus merupakan mamalia berkantung, endemik Maluku dan Papua. Kuskus digolongkan ke dalam famili *Phalangeridae*. Kuskus merupakan hewan yang diburu untuk dimanfaatkan daging dan rambutnya oleh manusia. Kegiatan perburuan dan penangkapan kuskus yang tidak terkontrol akan berdampak pada terancamnya keberadaan kuskus di habitat aslinya. Beberapa jenis kuskus sudah dinya-takan terancam kepunahan (*endangered*) dan menuju kepunahan (*vulnerable*) (Latinis, 1996; Helgen dan Flanemry, 2004; Fatem dan Sawen, 2007)

Kuskus termasuk hewan herbivoral yang hidup diatas pohon dan mengambil daun muda dan buah sebagai bahan makanan. Pada kondisi tertentu kuskus juga menangkap vertebrata kecil, burung, kadal, tetapi juga dapat mengambil telur burung untuk dikonsumsi (George,1987). Kuskus di Indonesia sudah dilindungi sejak tahun 1990 melalui Peraturan Perburuan Binatang Liar (PPBL) No. 226/1931, UU No. 5/1990 tentang konservasi sumber daya alam hayati dan ekosistemnya, dan UU No. 7/1999 tentang pengawetan jenis tumbuhan dan satwa (Saragih, dkk., 2010). Selanjutnya Pattiselanno (2007) menyatakan bahwa kuskus juga merupakan satwa liar yang berstatus terancam punah daftar IUCN

(International Union for Conservation of Nature) dan dalam *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES)*, digolongkan dalam Appendix II.

Pengetahuan tentang jenis-jenis kuskus dan kajian molekuler merupakan nilai penting yang sangat diperlukan dalam proses konservasi kuskus di masa yang akan datang teristi-mewa terhadap jenis kuskus yang hidup dipenangkaran maupun yang hidup alami di hutan Maluku. Widayanti (2006), menyatakan faktor penting yang harus diketahui dengan pasti dalam proses konservasi suatu spesies adalah tersedianya informasi tentang pengkajian diferensiasi secara genetik molekuler sehingga

pola konservasi dapat lebih terarah. Untuk menentukan hubungan kekerabatan dapat dilakukan melalui pengamatan DNA mitokondria (mtDNA) karena memiliki kelebihan tertentu seperti dapat diperoleh dari sampel yang telah lama, laju evolusi cepat, dan bisa dari gen ibu (Rane, 2011).

Menurut Widayanti *et al.* (2012), Salah satu gen yang dapat dipakai sebagai penanda dalam membedakan beberapa species hewan tertentu seperti Tarsius maupun beberapa jenis burung kicau adalah gen ATP8. Diharapkan bahwa urutan gen ATP8, juga dapat digunakan sebagai penanda genetik mamalia khususnya kuskus, sehingga usaha konservasi dan manajemennya dapat tepat dan berhasil guna.

MATERI DAN METODE

Isolasi DNA Total

Sampel jaringan diambil dari hasil biopsi empat jenis kuskus yang hidup di penangkaran. Total DNA diekstraksi (jaringan otot paha) hasil biopsi yang ditambah buffer *RNA Lateral* sebagai *stabilizer*. Isolasi dan purifikasi DNA menggunakan protokol DNA *Isolation Kit* (Geneaid).

Desain Primer

Data sekuen nukleotida yang digunakan dalam proses desain primer gen penyandi ATP8 diambil

dari database *genbank* genom mtDNA *P. vestitus* *accession number* (AB 241057.1) sebanyak 15318 bp, selanjutnya dengan menggunakan program *primer 3 online* digunakan untuk menyeleksi primer-primer mana yang diestimasi memberikan kemungkinan hasil yang baik. Urutan basa primer untuk amplifikasi gen ATP8 sampel kuskus disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Urutan basa primer untuk mengamplifikasi gen ATP 8 Kuskus

Target	F/R	Urutan Basa	Jumlah Basa	Tm (°C)
ATP8	F	5' GCTCTTTCAGCCATTTTACCC 3'	21	60,09
15318 bp	R	5' GTGGTTATGAGGTTGGCTTGA 3'	21	59,99

Amplifikasi Gen ATP8 mtDNA kuskus dengan PCR

Amplifikasi DNA dari empat sampel kuskus dilakukan dengan teknik *polymerase chain reaction*. Amplifikasi gen penyandi ATP8 ditentukan dengan menggunakan primer spesifik pada table 1 diatas. Campuran reaksi PCR adalah sebanyak 30 µl terdiri dari 2 µl primer 1 dan 2 masing-masing dengan konsentrasi (10 pmol), 15 µl *KAPATaq DNA polymerase*, 1µl DNA total, dan ditambahkan ddH₂O untuk memenuhi volume satu reaksi hingga mencapai 30 µl. Kondisi mesin PCR yang digunakan untuk amplifikasi gen ATP8 sebagai berikut : predenaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* atau proses penempelan primer pada suhu 52°C selama 45 detik. Elongasi atau proses pemanjangan pada suhu 72°C selama 1 menit dan *post elongation* yaitu fase untuk memastikan pemanjangan sempurna pada suhu 72°C selama 5 menit. Reaksi PCR dilakukan sebanyak 35 siklus.

Produk PCR dideteksi dengan cara dimigrasikan pada gel agarosa 1,5% dengan menggunakan buffer 1x *tris borate* EDTA (TBE) dalam piranti electrophoresis (Hoefer, USA). Fragmen DNA diamati

dengan bantuan UV transluminator ($\lambda=260$ nm), sedangkan panjang DNA hasil amplifikasi dapat diketahui dengan penanda DNA yang berukuran 100 *basepair* (bp) yang digunakan sebagai petunjuk panjang nukleotida.

Sekuensing Produk PCR

Sekuensing hasil PCR untuk menentukan runutan nukleotida. Sekuensing dilakukan di PT. Genetika Science Jakarta dengan menggunakan metode Sanger (metode terminasi rantai). Sekuensing DNA dilakukan 2 kali reaksi untuk masing-masing sampel, yaitu menggunakan primer *forward* dan *reverse* masing-masing dengan konsentrasi (10 pmol). Hasil PCR digunakan sebagai cetakan untuk reaksi penentuan runutan nukleotida. Komponen lain yang digunakan selain hasil PCR dan primer adalah *Taq Polymerase*, dNTP dan ddNTP. Kondisi reaksi adalah predenaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* atau proses penempelan primer pada suhu 58°C selama 45 detik. Elongasi atau proses pemanjangan pada suhu 72°C selama 45 detik dan *postelongation* yaitu fase untuk memastikan pemanjangan sempurna pada suhu 72°C

selama 5 menit. Hasil sekuensing yang bagus ditandai dengan grafik *spektroferogram* yang *single peak*, tanpa adanya *noise*.

Analisis Data

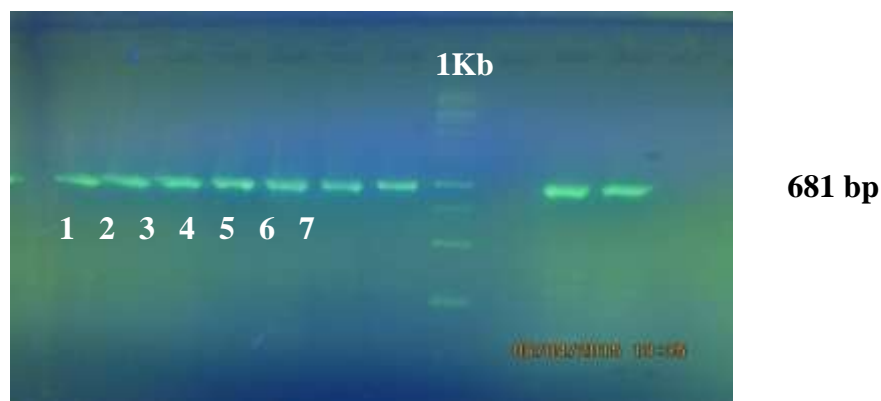
Data sekuen DNA gen penyandi ATP8 hasil sekuensing dianalisis menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool Nucleotida* (BLASTN). Perbandingan dilakukan menggunakan sekuen-sekuen yang

paling mirip baik *highly similar sequence* maupun *some what similar sequence*. Pohon filogenetik dianalisis berdasarkan sekuen nukleotida dan asam amino dengan metode *Neighbor Joining* dengan nilai bootstrap 1000x. Data yang digunakan sebagai pembanding diambil dari data *Genebank* antara lain *T. Vulpecula* (*accession number* AB241057.1) dan *P. Vestitus* (*accession number* AB 241057.1).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sepasang primer pada penelitian ini didesain untuk mengamplifikasi daerah gen ATP8. Produk PCR hasil amplifikasi menggunakan primer ATP8F dan ATP8R adalah sekitar

681 pasangan basa (bp). Hasil PCR gen ATP8 yang dimigrasikan pada gel agarosa 1% yang diwarnai dengan bioatlas disajikan pada Gambar 1.



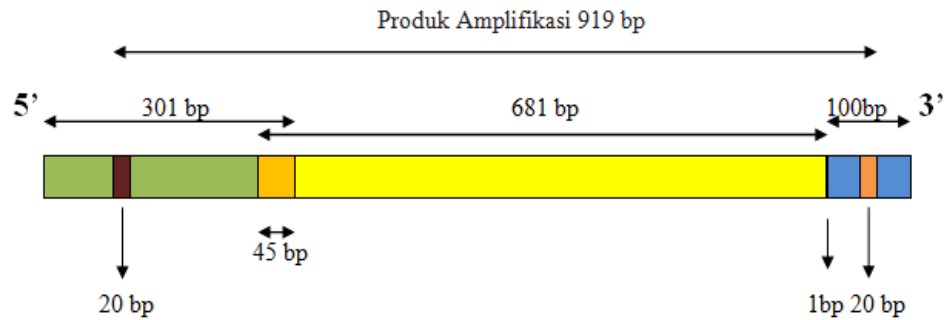
Gambar 1. Hasil amplifikasi gen ATP8 pada *Spilococcus maculatus* dan *Phalanger sp* pada gel agarose 1,5%.

Keterangan : DNA Ladder 1000 bp (1 Kb)

1. Kuskus Putih Desa Lumoli (MT),
2. Kuskus Putih Desa Allang (PII),
3. Kuskus Coklat Desa Lumoli (MD),
4. Kuskus Coklat Desa Hatu (CI),
5. Kuskus Kelabu Desa Allang (KI),
6. Kuskus Totol Desa Lumoli (TII),
7. Kuskus Kelabu Desa Lumoli M (Kelabu).

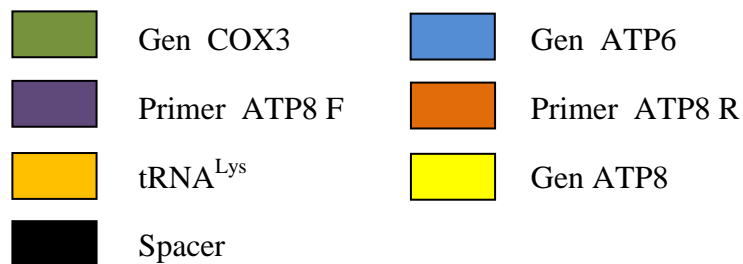
Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa tujuh sampel kuskus yang diamplifikasi pada gen ATP8 menghasilkan ukuran DNA yang teramplifikasi sebesar 681 bp. Hasil ini diperoleh setelah primer yang digunakan diplotkan dengan

data genom mitokondria *P. vestitus* *acesion number* (AB 241057.1) sebanyak 15318 bp yang ada di GenBank. Letak penempelan primer untuk amplifikasi gen ATP8 disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Lokasi penempelan primer ATP8 F dan ATP8 R untuk amplifikasi daerah gen ATP8 genom mitokondria.

Keterangan :



Gambar 2 menunjukkan bahwa letak penempelan primer ATP8 F yaitu pada daerah gen COX3, sedangkan penempelan primer ATP8 R terletak pada daerah gen ATP6. Hasil amplifikasi PCR sebanyak 681 bp pada sekuen genom mitokondria terdiri dari gen COX3 2 bp, gen ATP8 630 bp, gen ATP6 49 bp. Urutan DNA hasil penelitian dan species kuskus yang diambil dari GenBank disejajarkan berganda dan

selanjutnya dilakukan analisis keragaman nukleotida. Hasil pengurutan sepanjang 919 nukleotida setelah disejajarkan dengan urutan yang ada di GenBank dipilih 681 yang merupakan urutan penyusun gen ATP8 yang akan menyandi 85 nukleotida pembeda. Hal ini dilakukan agar gen ATP8 dapat diamplifikasi secara keseluruhan dan bukan parsial. Hasil amplifikasi yang dianalisis hanyalah 681 bp sesuai nukleotida

gen ATP8. Pada prinsipnya, primer yang bagus adalah primer yang mampu mengamplifikasi keseluruhan gen bukan parsial. Hasil penjajaran berganda dari sekuen nukleotida kuskus yang diteliti diperoleh 681 nukleotida yang didapat untuk analisis

berikutnya. Dari 681 nukleotida terdapat 85 situs yang berbeda, dan perbedaan jumlah nukleotida dari masing-masing kuskus hasil penelitian dan kuskus pembanding dari Genbank disajikan pada Gambar 3.

Kuskus MT	A	T	G	A	A	C	G	A	A	A	A	T	[12]
Kuskus PIII	[12]
Kuskus MD	[12]
Kuskus CI	[12]
Kuskus KI	[12]
Kuskus TII	[12]
Kuskus M	[12]
<i>Phalanger vestitus</i>	[12]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	[12]
Kuskus MT	T	T	A	T	T	T	G	C	C	A	C	A	[24]
Kuskus PIII	[24]
Kuskus MD	[24]
Kuskus CI	[24]
Kuskus KI	C	[24]
Kuskus TII	C	[24]
Kuskus M	C	[24]
<i>Phalanger vestitus</i>	[24]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	C	[24]
Kuskus MT	T	T	C	A	C	T	A	T	C	C	C	T	[36]
Kuskus PIII	[36]
Kuskus MD	[36]
Kuskus CI	C	.	.	.	[36]
Kuskus KI	T	C	.	.	C	.	.	.	[36]
Kuskus TII	T	C	.	.	C	.	.	.	[36]
Kuskus M	T	C	.	.	C	.	.	.	[36]
<i>Phalanger vestitus</i>	C	.	.	.	[36]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	T	C	.	.	C	.	.	.	[36]
Kuskus MT	T	C	C	A	T	C	A	T	A	G	G	T	[48]
Kuskus PIII	[48]
Kuskus MD	[48]
Kuskus CI	[48]

Kuskus KI	A	.	T	[48]	
Kuskus TII	A	.	T	[48]	
Kuskus M	A	.	T	[48]	
<i>Phalanger vestitus</i>	T	[48]	
<i>Spilocuscus maculatus</i>	A	.	T	[48]	
Kuskus MT	A	T	T	A	C	A	A	C	A	C	T	A	[60]
Kuskus PIII	[60]
Kuskus MD	[60]
Kuskus CI	[60]
Kuskus KI	[60]
Kuskus TII	[60]
Kuskus M	[60]
<i>Phalanger vestitus</i>	[60]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	[60]
Kuskus MT	C	C	A	A	T	C	A	T	T	A	T	A	[72]
Kuskus PIII	[72]
Kuskus MD	[72]
Kuskus CI	[72]
Kuskus KI	.	.	C	C	.	.	T	.	[72]
Kuskus TII	.	.	C	C	.	.	T	.	[72]
Kuskus M	.	.	C	C	.	.	T	.	[72]
<i>Phalanger vestitus</i>	T	[72]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	C	C	.	.	T	.	[72]
Kuskus MT	T	T	T	C	T	T	C	C	A	T	G	C	[84]
Kuskus PIII	[84]
Kuskus MD	[84]
Kuskus CI	[84]
Kuskus KI	C	.	C	T	.	C	[84]
Kuskus TII	C	.	C	T	.	C	[84]
Kuskus M	C	.	C	T	.	C	[84]
<i>Phalanger vestitus</i>	C	.	C	T	.	.	.	C	[84]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	C	.	C	T	.	C	[84]
Kuskus MT	C	T	A	A	T	T	C	T	C	A	C	C	[96]
Kuskus PIII	[96]
Kuskus MD	[96]
Kuskus CI	[96]
Kuskus KI	C	[96]
Kuskus TII	C	[96]
Kuskus M	C	[96]
<i>Phalanger vestitus</i>	T	[96]

<i>Spilocusculus maculatus</i> C	[96]
Kuskus MT	T C C C C A A A A C G C	[108]
Kuskus PIII	[108]
Kuskus MD	[108]
Kuskus CI	[108]
Kuskus KI	. . T	[108]
Kuskus TII	. . T	[108]
Kuskus M	. . T	[108]
<i>Phalanger vestitus</i>	[108]
<i>Spilocusculus maculatus</i>	[108]
Kuskus MT	T G A C T A C C C A A C	[120]
Kuskus PIII	[120]
Kuskus MD	[120]
Kuskus CI	[120]
Kuskus KI	. . . T	[120]
Kuskus TII	. . . T	[120]
Kuskus M	. . . T	[120]
<i>Phalanger vestitus</i>	[120]
<i>Spilocusculus maculatus</i>	. . . T . G	[120]
Kuskus MT	C G A A T C C A A A C C	[132]
Kuskus PIII	[132]
Kuskus MD	[132]
Kuskus CI	[132]

Kuskus PIII	[168
]	
Kuskus MD	[168
]	
Kuskus CI	[168
]	
Kuskus KI	[168
]	
Kuskus TII	[168
]	
Kuskus M	[168
]	
<i>Phalanger vestitus</i>	G	[168
]	
<i>Spilocuscus</i>	[168
]	
<i>maculatus</i>]
Kuskus MT	A T G A T A A C A A T A	[180
]	
Kuskus PIII	[180
]	
Kuskus MD	[180
]	
Kuskus CI	[180
]	
Kuskus KI	T
]	[180
Kuskus TII	T
]	[180
Kuskus M	T
]	[180
<i>Phalanger vestitus</i>	C
]	[180
<i>Spilocuscus</i>	[180
]	
<i>maculatus</i>]
Kuskus MT	C A T A A C A A C A A	[192
]	
Kuskus PIII	[192
]	
Kuskus MD	[192
]	
Kuskus CI	[192
]	
Kuskus KI	C
]	[192
Kuskus TII	C
]	[192

Kuskus CI	[228]		
Kuskus KI	A	T	C	[228]		
Kuskus TII	A	T	C	[228]		
Kuskus M	A	T	C	[228]		
<i>Phalanger vestitus</i>	C	[228]		
<i>Spilocusculus maculatus</i>	G	T	C	[228]		
Kuskus MT	C	T	A	T	T	C	A	T	C	G	C	A	[240]
Kuskus PIII	[240]	
Kuskus MD	[240]	
Kuskus CI	[240]	
Kuskus KI	T	[240]	
Kuskus TII	T	[240]	
Kuskus M	T	[240]	
<i>Phalanger vestitus</i>	T	[240]	
<i>Spilocusculus maculatus</i>	T	T	[240]	
Kuskus MT	T	C	A	A	C	C	A	A	C	T	T	A	[252]
Kuskus PIII	[252]	
Kuskus MD	[252]	
Kuskus CI	[252]	
Kuskus KI	T	C	[252]	
Kuskus TII	T	C	[252]	
Kuskus M	T	C	[252]	
<i>Phalanger vestitus</i>	T	C	[252]	

<i>Spilocusculus maculatus</i>	. . . C C . . .	[252]
Kuskus MT	C T T G G A T T A C T G	[264]
Kuskus PIII	[264]
Kuskus MD	[264]
Kuskus CI	[264]
Kuskus KI G . . . C	[264]
Kuskus TII G . . . C	[264]
Kuskus M G . . . C	[264]
<i>Phalanger vestitus</i> C . . . T . . . A	[264]
<i>Spilocusculus maculatus</i> C	[264]
Kuskus MT	C C A T A C T C C T T C	[276]
Kuskus PIII	[276]
Kuskus MD	[276]
Kuskus CI	[276]
Kuskus KI T	[276]
Kuskus TII T	[276]
Kuskus M T	[276]
<i>Phalanger vestitus</i> T	[276]
<i>Spilocusculus maculatus</i> T	[276]
Kuskus MT	A C C C C A A C C A C A	[288]
Kuskus PIII	[288]
Kuskus MD	[288]
Kuskus CI	[288]
Kuskus KI	. . . A A	[288]

Kuskus TII	. . A A . . .	[288]
Kuskus M	. . A A . . .	[288]
<i>Phalanger vestitus</i>	[288]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	. . A . . C . . A . . .	[288]
Kuskus MT	C A A C T C T C C A T A	[300]
Kuskus PIII	[300]
Kuskus MD	[300]
Kuskus CI	[300]
Kuskus KI	[300]
Kuskus TII	[300]
Kuskus M	[300]
<i>Phalanger vestitus</i>	[300]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	[300]
Kuskus MT	A A C A T T G G C A T A	[312]
Kuskus PIII	[312]
Kuskus MD	[312]
Kuskus CI	[312]
Kuskus KI T . . . G	[312]
Kuskus TII T . . . G	[312]
Kuskus M T . . . G	[312]
<i>Phalanger vestitus</i> T	[312]
<i>Spilocuscus maculatus</i> T . . . G	[312]
Kuskus MT	G C T A T C C C A C T A	[324]

Kuskus PIII	[324]
Kuskus MD	[324]
Kuskus CI	[324]
Kuskus KI	. . A	[324]
Kuskus TII	. . A	[324]
Kuskus M	. . A	[324]
<i>Phalanger vestitus</i>	[324]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	. . A	[324]
Kuskus MT	T G A C T A G G A A C T	[336]
Kuskus PIII	[336]
Kuskus MD	[336]
Kuskus CI	[336]
Kuskus KI	C [336]
Kuskus TII	C [336]
Kuskus M	C [336]
<i>Phalanger vestitus</i>	[336]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	C [336]
Kuskus MT	G T A A T C A T A G G A	[348]
Kuskus PIII	[348]
Kuskus MD	[348]
Kuskus CI	[348]
Kuskus KI	[348]
Kuskus TII	[348]
Kuskus M	[348]

<i>Phalanger vestitus</i>	. . T . . T	[348]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	[348]
Kuskus MT	T T C C G A A A C A A A	[360]
Kuskus PIII	[360]
Kuskus MD	[360]
Kuskus CI	[360]
Kuskus KI	[360]
Kuskus TII	[360]
Kuskus M	[360]
<i>Phalanger vestitus</i>	. . T	[360]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	[360]
Kuskus MT	C C A A A A A C T T C A	[372]
Kuskus PIII	[372]
Kuskus MD	[372]
Kuskus CI	[372]
Kuskus KI C . . T	[372]
Kuskus TII C . . T	[372]
Kuskus M C . . T	[372]
<i>Phalanger vestitus</i> G C	[372]
<i>Spilocuscus maculatus</i> C . . T	[372]
Kuskus MT	C T A G C A C A C T T C	[384]
Kuskus PIII	[384]
Kuskus MD	[384]

Kuskus CI	[384]	
Kuskus KI	T	.	.	.	C	[384]	
Kuskus TII	T	.	.	.	C	[384]	
Kuskus M	T	.	.	.	C	[384]	
<i>Phalanger vestitus</i>	T	.	.	.	[384]	
<i>Spilocuscus maculatus</i>	T	.	.	.	C	[384]	
Kuskus MT	T	T	A	C	C	A	C	A	A	G	G	T	[396]
Kuskus PIII	[396]
Kuskus MD	[396]
Kuskus CI	[396]
Kuskus KI	C	C	[396]
Kuskus TII	C	C	[396]
Kuskus M	C	C	[396]
<i>Phalanger vestitus</i>	[396]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	C	C	[396]
Kuskus MT	A	C	A	C	C	A	A	C	C	C	C	A	[408]
Kuskus PIII	[408]
Kuskus MD	[408]
Kuskus CI	[408]
Kuskus KI	T	[408]
Kuskus TII	T	[408]
Kuskus M	T	[408]
<i>Phalanger vestitus</i>	[408]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	T	[408]

Kuskus MT	C T A A T C C C C A T A	[420]
Kuskus PIII	[420]
Kuskus MD	[420]
Kuskus CI	[420]
Kuskus KI	[420]
Kuskus TII	[420]
Kuskus M	[420]
<i>Phalanger vestitus</i> A	[420]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	[420]
Kuskus MT	C T A A T T A T C A T C	[432]
Kuskus PIII	[432]
Kuskus MD	[432]
Kuskus CI	[432]
Kuskus KI	[432]
Kuskus TII	[432]
Kuskus M	[432]
<i>Phalanger vestitus</i> C T	[432]
<i>Spilocuscus maculatus</i> C	[432]
Kuskus MT	G A A A C A A T C A G C	[444]
Kuskus PIII	[444]
Kuskus MD	[444]
Kuskus CI	[444]
Kuskus KI T	[444]

Kuskus TII T . . .	[444]
Kuskus M T . . .	[444]
<i>Phalanger vestitus</i>	. . G T . . .	[444]
<i>Spilocuscus maculatus</i> T . . .	[444]
Kuskus MT	C T A T T C A T T C A A	[456]
Kuskus PIII	[456]
Kuskus MD	[456]
Kuskus CI	[456]
Kuskus KI T . . . C . . .	[456]
Kuskus TII T . . . C . . .	[456]
Kuskus M T . . . C . . .	[456]
<i>Phalanger vestitus</i>	[456]
<i>Spilocuscus maculatus</i> T . . .	[456]
Kuskus MT	C C A C T A G C C T T A	[468]
Kuskus PIII	[468]
Kuskus MD	[468]
Kuskus CI	[468]
Kuskus KI	[468]
Kuskus TII	[468]
Kuskus M	[468]
<i>Phalanger vestitus</i>	[468] G
<i>Spilocuscus maculatus</i>	[468] C
Kuskus MT	G C G G T A C G A C T A	[480]
Kuskus PIII	[480]

Kuskus MD	[480
]
Kuskus CI	[480
]
Kuskus KI	. . A	[480
]
Kuskus TII	. . A	[480
]
Kuskus M	. . A	[480
]
<i>Phalanger vestitus</i>	. . A G	[480
<i>Spilocuscus</i>]
<i>maculatus</i> A	[480
]
Kuskus MT	A C A G C C A A C A T T	[492
]
Kuskus PIII	[492
]
Kuskus MD	[492
]
Kuskus CI	[492
]
Kuskus KI	[492
]
Kuskus TII	[492
]
Kuskus M	[492
]
<i>Phalanger vestitus</i>	C [492
<i>Spilocuscus</i>]
<i>maculatus</i>	[492
]
Kuskus MT	A C C G C A G G A C A T	[504
]
Kuskus PIII	[504
]
Kuskus MD	[504
]
Kuskus CI	[504
]
Kuskus KI	. . A C C	[504
]
Kuskus TII	. . A C C	[504
]
Kuskus M	. . A C C	[504
]

<i>Phalanger vestitus</i>	[504	
<i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	A	C	.	.	C]	
Kuskus MT	C	T	T	C	T	C	A	T	T	C	A	C	[516
Kuskus PIII]
Kuskus MD	[516
Kuskus CI]
Kuskus KI	.	.	A	.	.	G	[516
Kuskus TII	.	.	A	.	.	G]
Kuskus M	.	.	A	.	.	G	[516
<i>Phalanger vestitus</i>	.	.	A	.	.	T]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	A	.	.	A	[516
Kuskus MT	C	T	A	A	T	T	G	G	C	T	C	A	[528
Kuskus PIII]
Kuskus MD	[528
Kuskus CI]
Kuskus KI	T	[528
Kuskus TII	T]
Kuskus M	T	[528
<i>Phalanger vestitus</i>]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	T	[528
Kuskus MT	G	C	C	A	C	A	C	T	A	G	C	C	[540
Kuskus PIII]
Kuskus MD	[540
Kuskus CI]

Kuskus KI	.	.	T	.	.	C	T	[540]
Kuskus TII	.	.	T	.	.	C	T	[540]
Kuskus M	.	.	T	.	.	C	T	[540]
<i>Phalanger vestitus</i>	.	.	A	.	.	G	[540]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	T	.	.	C	T	[540]
Kuskus MT	C	T	A	T	C	A	T	C	C	A	T	C	[552]
Kuskus PIII	[552]
Kuskus MD	[552]
Kuskus CI	[552]
Kuskus KI	.	.	C	[552]
Kuskus TII	.	.	C	[552]
Kuskus M	.	.	C	[552]
<i>Phalanger vestitus</i>	T	[552]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	C	T	.	.	.	[552]
Kuskus MT	A	G	C	A	T	A	A	T	A	G	C	T	[564]
Kuskus PIII	[564]
Kuskus MD	[564]
Kuskus CI	[564]
Kuskus KI	G	.	C	.	.	T	A	[564]
Kuskus TII	G	.	C	.	.	T	A	[564]
Kuskus M	G	.	C	.	.	T	A	[564]
<i>Phalanger vestitus</i>	.	A	C	.	.	T	A	[564]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	G	.	C	.	.	T	A	[564]

Kuskus MT	T C A T C C A T T A C A	[576]
Kuskus PIII	[576]
Kuskus MD	[576]
Kuskus CI	[576]
Kuskus KI	. . . A . T . . C . . .	[576]
Kuskus TII	. . . A . T . . C . . .	[576]
Kuskus M	. . . A . T . . C . . .	[576]
<i>Phalanger vestitus</i> T . . C . . .	[576]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	. . . A . T . . C . . .	[576]
Kuskus MT	T T C A T C A T C C T C	[588]
Kuskus PIII	[588]
Kuskus MD	[588]
Kuskus CI	[588]
Kuskus KI C	[588]
Kuskus TII C	[588]
Kuskus M C	[588]
<i>Phalanger vestitus</i>	[588]
<i>Spilocuscus maculatus</i> C	[588]
Kuskus MT	C T T C T A C T A A C A	[600]
Kuskus PIII	[600]
Kuskus MD	[600]
Kuskus CI	[600]
Kuskus KI	T	[600]
Kuskus TII	T	[600]


Kuskus M	T	[600]
<i>Phalanger vestitus</i>	G	[600]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	T	[600]
Kuskus MT	A	T	T	T	T	A	G	A	G	C	T	A	.	.	[612]
Kuskus PIII	[612]
Kuskus MD	[612]
Kuskus CI	[612]
Kuskus KI	.	.	C	C	A	[612]
Kuskus TII	.	.	C	C	A	[612]
Kuskus M	.	.	C	C	A	[612]
<i>Phalanger vestitus</i>	.	.	C	C	A	[612]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	C	C	A	[612]
Kuskus MT	G	C	A	G	T	A	G	C	C	A	T	A	.	.	[624]
Kuskus PIII	[624]
Kuskus MD	[624]
Kuskus CI	[624]
Kuskus KI	.	.	T	[624]
Kuskus TII	.	.	T	[624]
Kuskus M	.	.	T	[624]
<i>Phalanger vestitus</i>	[624]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	T	[624]
Kuskus MT	A	T	T	C	A	A	G	C	T	T	A	C	.	.	[636]
Kuskus PIII	[636]


Kuskus MD	[636]
Kuskus CI	[636]
Kuskus KI	.	.	C	T	.	[636]
Kuskus TII	.	.	C	T	.	[636]
Kuskus M	.	.	C	T	.	[636]
<i>Phalanger vestitus</i>	.	.	C	[636]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	C	[636]
Kuskus MT	G	T	T	T	T	T	A	C	C	C	T	A	.	.	.	[648]
Kuskus PIII	[648]
Kuskus MD	[648]
Kuskus CI	[648]
Kuskus KI	.	.	C	[648]
Kuskus TII	.	.	C	[648]
Kuskus M	.	.	C	[648]
<i>Phalanger vestitus</i>	C	.	[648]
<i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	C	[648]
Kuskus MT	C	T	A	G	T	A	A	G	T	T	T	G	.	.	.	[660]
Kuskus PIII	[660]
Kuskus MD	[660]
Kuskus CI	[660]
Kuskus KI	T	C	[660]
Kuskus TII	T	C	[660]
Kuskus M	T	C	[660]
<i>Phalanger vestitus</i>	T	[660]


<i>Spilocusculus maculatus</i>	T C	[660]
Kuskus MT	T A C C T A C A T G A C	[672]
Kuskus PIII	[672]
Kuskus MD	[672]
Kuskus CI	[672]
Kuskus KI	[672]
Kuskus TII	[672]
Kuskus M	[672]
<i>Phalanger vestitus</i>	[672]
<i>Spilocusculus maculatus</i>	[672]
Kuskus MT	A A C T C C T A A	[681]
Kuskus PIII	[681]
Kuskus MD	[681]
Kuskus CI	[681]
Kuskus KI	[681]
Kuskus TII	[681]
Kuskus M	[681]
<i>Phalanger vestitus</i>	. . T	[681]
<i>Spilocusculus maculatus</i>	[681]

Gambar 3. Posisi situs nukleotida yang mengalami perubahan pada gen ATP8 (681 nt) sampel kuskus dengan *Phalanger vestitus* (Genebank) dan *Spilocusculus maculatus* (Genebank).

Keterangan :

 : Nukleotida sampel kuskus MT

 : Posisi situs nukleotida yang menyebabkan perubahan asam amino

 : Posisi situs nukleotida yang tidak menyebabkan perubahan asam amino

Pada gambar 3 Nukleotida yang mengalami perubahan antara sampel kuskus (MT, PIII, MD, CI) dengan kuskus (KI, TII, M) adalah sebanyak 85 situs nukleotida berbeda yakni pada situs nomor 13, 29, 30, 32, 37, 39, 63, 69, 72, 73, 75, 76, 78, 90, 99, 112, 132, 133, 140, 141, 144, 145, 150, 154, 155, 156, 176, 183, 195, 213, 216, 222, 223, 228, 237, 243, 250, 261, 264, 276, 279, 285, 309, 312, 315, 336, 369, 372, 373, 378, 385, 396, 405, 441,

450, 453, 471, 495, 501, 504, 507, 510, 517, 531, 534, 540, 543, 558, 560, 563, 564, 568, 570, 573, 581, 589, 603, 604, 609, 615, 627, 636, 639, 649, dan 657.

Berdasarkan urutan nukleotida pembeda dari keempat sampel kuskus yang hidup dipenangkaran dengan pembandingan dari GenBank serta sampel diluar lokasi maka didapatkan perbedaan jarak genetik antara *Phalanger* dan *Spilocuscus* disajikan pada tabel 2.

Tabel. 2. Matriks perbedaan nukleutida (681 nt) sekuen gen ATP8 pada kuskus yang hidup di penangkaran.

No	Kode Sampel	1	2	3	4	5	6	7
1	Kuskus 1 MT	0						
2	Kuskus 2 PII	0	0					
3	Kuskus 3 MD	0	0	0				
4	Kuskus 4 CI	1	1	1				
5	Kuskus 5 KI	85	85	85	84			
6	Kuskus 6 TII	85	85	85	84	0		
7	Kuskus 7 M	85	85	85	84	0	0	
8	<i>Phalanger Vestitus</i> (Genbank)	58	58	58	57	89	89	89
9	<i>Spilocuscus maculatus</i> (Genbank)	87	87	87	86	15	15	89

Keterangan :

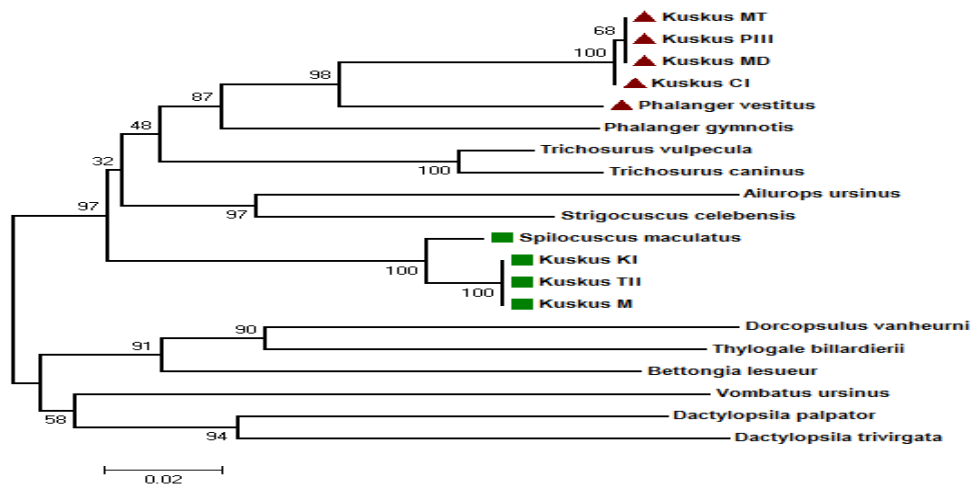
1. Kuskus Desa Lumoli MT (Putih),
2. Kuskus Desa Allang PII (Putih),
3. Kuskus Desa Lumoli MD (Coklat),
4. Kuskus Desa Hatu CI (Coklat),
5. Kuskus Desa Allang KI (Kelabu),
6. Kuskus Desa Lumoli TII (Totol),
7. Kuskus Desa Lumoli M (Kelabu).

Tabel 2 menunjukkan bahwa hasil penjajaran berganda dari

sekuen nukleutida memperlihatkan perbedaan nukleutida berkisar dari

nol (0) sampai dengan 72 nukleotida pada sampel kuskus yang diteliti, dan memiliki kisaran sampai 76 jika dibandingkan dengan nukleotida kuskus dari Genbank. Kisaran perbedaan nukleotida yang kecil menunjukkan bahwa tidak ada keragaman yang signifikan di dalam sekuen nukleotida pada kuskus yang hidup di

penangkaran. Keragaman nukleotida dari kuskus yang diteliti dengan kuskus pembandingan dari *Genbank* berdasarkan sekuen nukleotida gen ATP8 dapatlah dibuat pohon filogenetik kuskus dengan menggunakan metode *Neighbor joining* dengan nilai *bootstrap* 1000 kali yang dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 4. Pohon Filogenetik Kuskus berdasarkan Sekuen Nukleotida Gen ATP8.

Gambar 4 menunjukkan bahwa pohon filogenetik dari hasil sekuen nukleotida kuskus yang hidup dipenangkaran dengan beberapa species kuskus dari Genbank sebagai pembandingan berdasarkan sekuen nukleotida gen ATP8 menghasilkan dua percabangan. Percabangan pertama adalah kelompok *Phalanger* dan percabangan kedua adalah kelompok *Spilocuscus*. Pada percabangan pertama nilai kekerabatan kuskus putih (MT) asal penangkaran (Desa Lumoli), kuskus coklat (MD) asal

penangkaran (Desa Lumoli) dengan kuskus putih (PII) pembandingan asal pulau Ambon (Desa Allang) memiliki nilai bootstrap sebesar 68%. Nilai kekerabatan kuskus putih (MT), kuskus coklat (MD), kuskus putih (PII) terhadap kuskus coklat (CI) pembandingan asal Desa Hatu memiliki nilai bootstrap sebesar 100%. Nilai kekerabatan kuskus putih (MT), kuskus coklat (MD), kuskus putih (PII), kuskus coklat (CI) terhadap kuskus kelabu (Genbank) memiliki nilai bootstrap sebesar 98%. Pada percabangan

kedua nilai kekerabatan kuskus kelabu (KI) pembanding, kuskus kelabu (M) dan kuskus bertotol (TII) memiliki nilai bootstrap sebesar 100%. Nilai kekerabatan kuskus kelabu (KI), kuskus kelabu (M), kuskus bertotol (TII) terhadap kuskus bertotol (Genbank) memiliki nilai bootstrap 100%. Dari empat sampel kuskus yang diteliti berdasarkan tampilan pohon

filogenetik, maka dapatlah dijelaskan bahwa pada percabangan pertama kuskus coklat (*Phalanger orientalis*) memiliki hubungan kekerabatan dengan kuskus putih (*Phalanger urinus*), sedangkan pada percabangan kedua kuskus kelabu (*Phalanger vestitus*) memiliki hubungan kekerabatan dengan kuskus bertotol (*Spilocuscus maculatus*).

KESIMPULAN

Hasil pohon filogenetik menunjukkan kuskus yang hidup totol (*Spilocuscus maculatus*) berkerabat dekat dengan kuskus kelabu (*Phalanger gymnotis*) dan kuskus coklat (*Phalanger orientalis*)

berkerabat dekat dengan kuskus putih (*Phalanger urinus*). Gen ATP8 dapat dipakai sebagai penanda genetik pada kuskus yang hidup dipenangkaran desa Lumoli, Seram, Maluku.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada Pemerintah dan masyarakat desa Lumoli Kabupaten Seram Bagian Barat, Pimpinan dan staf Laboratorium Bioteknologi Universitas Duta Wacana Yogyakarta, Pimpinan dan Staf

Fakultas Peternakan UGM, Pimpinan dan Staf Laboratorium Biologi Fakultas MIPA UNPATTI, Pimpinan dan Staf Fakultas Pertanian Jurusan Kehutanan UNPATTI, yang telah membantu penulis dalam pengumpulan data penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, S., Bankier, A.T., Barrel, B.G., de Bruijn, M.h., Coulson, A.R., Drouin, J., Eperon, I.C., Nierlich, D.P., Roe, B.A., and Sangar, F. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial gene, *e*. Nature. (290) : 457-465. (Diakses : 8 Januari 2018)
- Bayu, E.S. 2005. Pewarisan Bahan Genetik di Luar Nukleus. E-USU Repository Universitas Sumatera Utara.
- Browning, K.S. 1982. Cytochrome oxidase subunit III gen in

- Neurospora crassa mitochondria Location and sequence . J. Biol. Chem. 257 : 5253-5256 (Diakses : 8 Januari 2018)
- Cahyadi, A. 2012. Defenisi Satwa Liar (online), <http://cahya.diblogsan.blogspot.com/2012/04/defenisi-satwa-liar.html> (Diakses : 10 Juni 2018)
- Erwanto Y, Sugiyono., Rohman A., Abidin M.Z., Ariyani D. 2012. Identifikasi Daging Babi Menggunakan Metode PCR-RFLP Gen Cytochrom b dan PCR Primer Spesifik Gen Amelogenin. Agritech.32(4) : 370-377.
- Fatchiyah, 2006. Gel Elektroforesis. Laboratorium Sentral Biologi Molekuler dan Seluler. Departemen Biologi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Fatem, S., Sawen, D. Jenis Kuskus di Pantai Utara Manokwari Papua. Biodiversiti. 8(2) 233-237. (Diakses : 29 Juni 2019).
- Flannery, T., M. Archer, and G. Maynes. 1987. The Phylogenetic Relationships of Living Phalangerids (Phalangeroidea : Marsupialia) with a suggested new taxonomy. In Possum and Opossum : Studies In Evolution.(M. Archer, Ed.). Surrey Beatty & Sons and The Royal Zoological Society of New South Wales : Sydney.
- Flannery, T. 1987. A New Species of Phalanger (Phalangeridae : Marsupialia) from montane Western Papua New Guinea. Records of Australia Museum. 39(4) : 183-193.(Diakses : 16 September 2018).
- Flannery, T. 1990. Mammals of New Guinea. Robert Brown and Associates. (Diakses : 20 Agustus 2018).
- Flannery, T. 1995. Mammals of the south-west Pasific and Moluccan Island. Sydney : Reed Books. (Diakses : 20 Agustus 2018).
- George, G.G. 1987. Characterisation of the living species of cuscus (Marsupialia: Phalangeridae). Pp. 507-526, In Possum and Opossum : Studies In Evolution. (M. Archer Ed). Surrey Beatty & Sons and The Royal Zoological Society of New South Wales : Sydney.
- Giles, R.E., Blanc, H., Cann, H.M., Wallace, D.C.1980. Maternal Inheritance of Human Mitochondrial DNA. Proc. Natl Acad Sci. USA. 77 : 6715-6719.
- Gilmore, D.P. 2002. Sexual Dimorphism in The Central Nervous System of Marsupials. Int Review of

- Cytology. Vol. 214 : 193-224.
- Guyton, A.C. 1996. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. EGC. Press, Jakarta.
- Heinshon, T.E. 2005. Den Sites and Habitats Utilised by The Northern Common Cuscus *Phalanger orientalis* (Marsupialia Phalangeridae) In East Timor. Australia Mammalogy. Vol.27. 99 - 101.
- Helgen, K.M., Flannery, T.F. 2004. Notes on The Phalangerid Marsupial Genus *Spilocuscus*, With Description Of A New Species From Papua. Journal Of Mammalogy. Vol. 85(5). 825-833.
- Hume, I.D. 1999. Marsupial Nutrition. Cambridge University Press. Australia.
- Isaac, J.L., and Johnson, C.N. 2012. Sexual Dimorphism and Synchrony of Breeding : Variation in Polygyny Potential Among Populations in The Common Brushtail Possum, *Trichosurus vulpecula*. Behav Eco. Vol. 14 No. 6. 818-822
- Lander, E.S. and Bolstein, D. 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. Genetics 121: 185-199. (Diakses : 25 Agustus 2018).
- Latinis, K. 1996. Hunting The Cuscus in Western Seram. The Role of The Phalanger in Subsistence Economies in Central Maluku. Cakalele Press. University Of Hawaii. (Diakses : 16 Agustus 2018).
- Lewis, R. 2003. Human Genetica : Concepts and Application. The McGraw-Hill company Inc. Boston. (Diakses : 10 Januari 2019).
- Mariana, E. 2011. Analisis Keragaman Gen Laktoferin Pada Sapi Friesian-Holstein Dengan Metode PCR-RFLP. Agripet. Vol. 11(1) 15-22.
- Marlina, Mutalib, S.A, Islami, S.N, Sari, H.K, Fitriyah. 2013. *Pengembangan Metode PCR dan Southern Hybridization untuk Deteksi Gen Babi Pada Cangkang Kapsul*. Prosiding Seminar Nasional. Universitas Kebangsaan Malaysia. Bangi. Malaysia. (Diakses : 10 Januari 2019).
- Martojo, H. 1990. *Peningkatan Mutu Genetik Ternak. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan*. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Mckay, D.M and Winter, J.W. 2006. Fauna Of Australia. Phalangeridae. Australia.

- Megarani, D. V., 2012. Kajian Keragaman Genetik Gen Penyandi NADH Pada Tarsius sp. Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Menzies, J. L., 1991. A Handbook of New Guinea Marsupials and Monotremes. Kristen Press Inc. Madang Papua New Guinea.
- Ngili, Y. 2008. Mengenal DNA Mitokondria dan Aplikasinya. [http : // www. Kompas.co.id/kompas-cetak/0311/04/inspirasi/664826.htm](http://www.kompas.co.id/kompas-cetak/0311/04/inspirasi/664826.htm) (Diakses : 10 Januari 2019).
- Nowak, R.M. 1999. Walker's Mammals of The world. 6th Ed. Volume 1. The Jhon Hopkins University Press. (Diakses : 30 Agustus 2018).
- Pattiselano, F. 2007. Perburuan Kuskus (Phalangeridae) oleh Masyarakat Napan di Pulau Ratewi, Nabire, Papua. Biodiversitas. Vol. 8. UNIPA Papua. (Diakses : 16 Agustus 2018).
- Petocz, R.G. 1994. Mamalia Darat Irian Jaya. WWF Indonesia Programmed . PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Price, T., and Bontrager, A. 2001. Evolutionary Genetics: The evolution of plumage patterns. *Current Biology. Volume 11, Issue 10, 15 May 2001, Pages R405-R408.* *Departement of Biology 0116, University of California at San Diego, La Jolla, California 92093, USA.*
- Primack, R.B., Supriatna, J., Indrawan, M., Kramadibrata, P. 1998. Biologi Konservasi. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Prusak, B., Grzybowski, T., Bednarek, J. 2005. Cytochrome b gene (*cyt b*) in analysis of anonymous biological traces and its application in veterinary diagnostics and animal conservation. *Animal Science Papers and Reports* vol. 23 (2005) 4, 229-236. (Diakses : 2 September 2018).
- Rahayu, S., Sumitro, S.B., Susilawati, T. 2006. Identifikasi Polimorfisme Gen GH Sapi Bali Dengan Metode PCR-RFLP. Berk. Penel. Hayati. Vol. 12(2006) 7-11. (Diakses : 6 Januari 2019).
- Rahayu, S., Susilo, A., Djati, M.S., Burhanudin., Suyadi. 2008. Identifikasi Polimorfisme Gen Meat Tenderness Pada Sapi Peranakan Ongolo (PO) Dengan Metode PCR-RFLP. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Vol. 1 (2008) 93-

98. (Diakses : 6 Januari 2019).
- Rane, P.P. 2011. Standardization and Optimization of mtDNA Isolation and Molecular Genetic Analysis of D-loop Region in Animal Natural Fibres. *Intr. J. of Zoo Res* : 190-200.
- Rustam. 2011. Mengenal Teknik DNA Sequencing. <http://sciencebiotech.net/mengenal-teknik-dna-sequencing>. (Diakses : 5 Januari 2019).
- Saccone C, Pesole G, Sbisa E. 1991. The main regulatory region of mammalian mitochondrial DNA: Structure–function model and evolutionary pattern. *J. Mol. Evol.* 33: 83–91.
- Sharma, A., Namdeo, A.G., Mahadik, K.R. 2010. Molecular Mome Analysis. *Pharmacognosy Review* 2 (3) : 23-31. (Diakses : 13 Januari 2019).
- Setia, T. M. 2008. Penyebaran Biji Oleh Satwa Liar Di Kawasan Pusat Konservasi Alam Bodogol, Taman Nasional Gunung Gede Pangrango. *Vis Vitalis*. 1(1).
- Shekelle, M., Leksono, S.M., 2004. The Natural History of the Tarsiers of north and central Sulawesi. *Sulawesi Prim. News.* 4(2) : 4-11. (Diakses : 2 September 2018).
- Schmitz, J., Olme, M. dan Zischler. 2012. The Complete Mitochondrial Sequence of *Tarsius bancannus* : Evidence for an extensive Nucleotide Compositional Plasticity of Primate Mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Evol.* 19 : 544-553. (Diakses : 9 Januari 2019).
- Stevens, L. 1991. Genetics and Evolution of the Domestic fowl. Departemen of Biological and Molecular Sciences University of Stirling. *Cambridge University Press. Cambridge.*
- Suhaeny,A.2010. Rekayasa Genetika – Pengantar Bioteknologi. [www. P4tkipa.org / data / rekgen.pdf](http://www.P4tkipa.org/data/rekgen.pdf)
- Sulandary, S. dan Zein, M.S. 2003. Panduan Praktis Laboratorium DNA. LIPI, Bogor.
- Suryanto, D. 2003. Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler. Universitas Sumatera Utara. USU Digital Library. Medan.
- Susanto, A.H. 2008. Sekuensing DNA. From Biologi Molekuler. [http : // biomol.wordpress.com/bahan-ajar/sekuensing-dna](http://biomol.wordpress.com/bahan-ajar/sekuensing-dna). (Diakses : 7 Januari 2019).
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, and Kumar S. 2011. MEGA5 :

- Molekuler Evolutionary Genetics Analysis using Maximum likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol.Bio. Evo.* 28 : 2731-2739.
- Widayanti, R. 2006. Kajian penanda genetic gen cytochrome B pada *Tarsius* sp. *J. Sain Vet.* 24(1) : 1-8 (Diakses : 8 Agustus 2018).
- Widayanti, R. dan Solihin, D.D. 2007. Kajian penanda genetic tarsius bancannus dan *Tarsius* spectrum dengan sekuen D-loop Parsial dari DNA Mitokondria. *Biota.* 12(3) : 172-178 (Diakses : 8 Januari 2019).
- Widayanti, R. 2008. Kajian molekuler daerah *D-loop* Parsial pada DNA mitokondria *Tarsius* bancanus. *Vet. Med. J.* 24 (2) : 174-182 (Diakses : 8 Agustus 2018).
- Widayanti, R. 2010. Kajian molekuler gen ATP8 Synthase Subunit 8 (ATP8) pada DNA Mitokondria *Tarsius* sp. *Vet. Med.J.* 26(3) ; 174-182 (Diakses : 8 Agustus 2018).
- Widayanti, R., Handayani, N.S.H dan Budiarsa, I.M. 2011. Keragaman Genetika gen penyandi Dehydrogenase Sub-unit 3(ND3) mitokondria pada *Tarsius* sp. *J. Vet.* 12 (1) : 26-33 (Diakses : 9 Januari 2015).
- Widayanti, R., Susmiati, T. 2012. Studi Keragaman Genetik *Tarsius* sp. Asal Kalimantan, Sumatera, Sulawesi berdasarkan sekuen gen NADH Dehidrogenase Sub-Unit 4L(ND4L) *J. Kedokteran Hewan.* 6 (2) :105-111 (Diakses : 9 Januari 2019).
- Widayanti, R., Susmiati, T., Artama, W.T. 2013. Keragaman Genetik Gen NADH Dehidrogenase Sub Unit 6 pada Monyet Hantu (*Tarsius* sp). *J. Veteriner.* 14 (2) : 239-249 (Diakses : 10 Januari 2019).
- Wolstenholme, D.R. 1992. Animal mitochondrial DNA: structur and evolution. *Int. Rev.Cytol.* 141:173-216 (Diakses : 8 Januari 2019).
- Wulandary, D.T. 2005. Evolusi mitokondria dan pemanfaatannya dalam Penelusuran Kekerabatan dan Evolusi Organisme. [Isjd.pdii.lipi.go.id /admin/jurnal/ed50805255.pdf](http://Isjd.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/ed50805255.pdf) (Diakses : 8 Januari 2019).
- Yuwono, T. 2006. Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction. Andi offset, Yogyakarta. (Diakses : 8 Januari 2019).