

## Keragaman Genetik pada Kukang (*Nycticebus coucang*) Berdasarkan pada gen 12S rRNA Mitokondria

Wiradateti <sup>✉1</sup>, Toshinao Okayama<sup>2</sup>, dan Hellen Kurniati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>

<sup>2</sup>

### ABSTRACT

**Genetic Diversity of Slow loris (*Nycticebus coucang*) based on Mitochondrial 12S rRNA gene.** The research on genetic diversity of slow loris *Nycticebus coucang* (kukang) was carried out. The samples are 12 individuals from three locations (Sumedang and Jember in Java, and Lampung in Sumatera). Total DNA was extracted from blood and tissue. The mitochondrial 12S rRNA nucleotide sequences were determined to investigate genetic diversity of this species. This region was amplified by using L1091 and H 1478 primers by PCR. As a result of the analysis for 386 bp nucleotide sequence, five haplotypes were found, two from Java and three from Sumatera, respectively.

**Key words :** Slow lorries, *Nycticebus coucang*, genetic diversity, 12S rRNA mtDNA

### PENDAHULUAN

Kukang (*Nycticebus coucang*) adalah spesies dari genus *Nycticebus* dengan daerah penyebaran dari Asia Selatan sampai Asia Tenggara (Lekagul & Mcneely, 1977). Di Indonesia spesies ini terdiri dari tiga subspecies dan masing-masing subspecies memiliki daerah penyebaran berbeda yaitu: *N.c. javanicus* di pulau Jawa; *N.c. coucang* di pulau Sumatera dan *N.c. menagensis* di pulau Kalimantan (Groves, 1971).

Hewan primata ini telah lama dikategorikan sebagai satwa dilindungi berdasarkan Undang-Undang dan Peraturan Perlindungan Binatang Liar Tahun 1931 (Anonymous, 1978) dan sekarang tercantum dalam Appendix II, Konvensi CITES (Anonymous, 1996).

Pada saat ini populasi kukang di alam diperkirakan tinggal satu juta ekor yang sebagian besar terdapat pada hutan lindung (Schulze, 1999). Penurunan populasi ini akibat perusakan hutan, perburuan besar-besaran dan penangkapan hidup-hidup untuk ekspor serta perdagangan lokal (Smuts *et al.*, 1987). Apabila penangkapan terus berlanjut tanpa memperhatikan umur dan jenis kelamin maka kondisi genetik kukang di habitat aslinya akan terpengaruh. Karakter morfologi masing-masing subspecies akan tumpah tindih, terutama antara Sumatera dan Kalimantan, sehingga sulit menentukan asal usul subspecies.

Usaha konservasi kukang secara genetik perlu dilakukan agar informasi plasma nutfah bagi kepentingan jangka panjang dan mendasar dapat diketahui.

✉ Gedung Widiasatwaloka, Jl. Raya Bogor-Jakarta KM 46, Cibinong, Bogor 16911  
Telp. (021) 8765056/64, Fax (021) 8765068. E-mail : [mzb@indo.net.id](mailto:mzb@indo.net.id)

sehingga usaha konservasi hewan ini perlu dilakukan lebih terarah. Untuk tujuan tersebut, dilakukan uji genetik secara molekuler berdasarkan gen 12S rRNA DNA mitokondria, untuk menentukan tingkat keragaman dan penciri genetik dari masing-masing subspecies. Gen 12 S rRNA adalah salah satu daerah coding dari 37 gen pada DNA mitokondria (mtDNA). Sekuen gen rRNA ini tidak menunjukkan daerah conserve yang sangat tinggi pada mtDNA vertebrata. Daerah ini juga mengalami perubahan cepat dalam evolusi, akan tetapi kurang cepat dari pada gen mitokondria yang mengkode protein (Eperon *et al.*, 1980 *dalam*: Hixson & Brown, 1986). Penggunaan mtDNA sebagai analisis genetik pada studi primata telah dikemukakan oleh Melnick & Hoelzer (1993); dimana mtDNA adalah pewarisan sifat keturunan ibu. Studi dari beberapa ahli menunjukkan DNA mitokondria vertebrata adalah sebuah spesies duplex lingkaran tertutup berukuran  $\pm 16$  kb, mempunyai jumlah copy yang tinggi ( $10^3$ - $10^4$  molekul mtDNA/sel somatik). Jumlah copy yang tinggi tersebut terdapat dalam Oocyt, sehingga mtDNA secara umum menunjukkan diturunkan secara maternal (Clayton, 1991). Analisis restriksi dari mtDNA mamalia yang berhubungan dekat menunjukkan bahwa genom ini mempunyai laju evolusi yang lebih tinggi dari pada DNA inti (Brown *et al.*, 1985; Kocher *et al.*, 1989). Disamping itu analisis DNA mitokondria merupakan alat yang kuat dalam mempelajari evolusi hewan dan juga banyak digunakan untuk analisis struktur populasi, aliran gen, hibridisasi, biografi dan pilogeni (Moritz *et al.*, 1974).

## BAHAN DAN METODA

### Lokasi sampel

Sampel penelitian sebanyak 12 individu yang berasal dari Jawa (*N.c. javanicus*) sebanyak delapan individu yang terdiri dari dua individu berasal dari Jember (pasar hewan Surabaya) dan enam individu berasal dari Sumedang (dari penangkap lokal, desa Wado Sumedang), sedangkan dari Sumatera (*N.c. coucang*) sebanyak empat individu yang berasal dari Lampung (hutan desa Karangsari, Lampung Selatan). Sampel kukang yang diperoleh sebagian hidup dan sebagian sudah mati.

### Bahan Analisa

Bahan analisa berasal dari darah dan jaringan (hati dan ginjal). Darah diambil dari vena femoralis dengan menggunakan syringe 1 ml dan anti koagulan pada 10% EDTA. Jaringan diperoleh pada hewan yang sudah mati dan dipreservasi dalam alkohol 95%. Sampel disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  hingga saat akan dianalisa.

### Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA total dari darah dan jaringan dilakukan mengikuti prosedur Sambrook *et al.* (1989) dengan phenol-chloroform-Iso Amil Alkohol dan dipresipitasi dengan etanol absolut. Visualisasi hasil dengan elektroforesis pada 1% agarose gel.

### Amplifikasi dan Sekuensing

Amplifikasi menggunakan PCR di dalam reaksi 50  $\mu\text{l}$  yang mengandung 5  $\mu\text{l}$  10X PCR buffer, 4  $\mu\text{l}$  10mM dNTP mix, masing-masing 5  $\mu\text{l}$  primer L1091 & H 0651 (2 pm), 1  $\mu\text{l}$  1.25 U Taq polymerase, DNA template 1-2  $\mu\text{l}$  dan sisanya air deionase (MQ). Amplifikasi dengan menggunakan mesin Thermal cycles 9600 Perkin Elmer. Siklus PCR

dengan denaturasi 95° C selama 30 detik, annealing 55°C selama 30 detik dan extension 72°C selama 30 detik, sebanyak 40 siklus. Amplifikasi menggunakan Primer H1478 dan L1091 (Kocher *et al.*, 1989). Hasil amplifikasi dielektroforesis pada 1% Seakem agarose gel di dalam buffer 1x Tris-Acetate EDTA (1xTAE) buffer dan diwarnai dengan ethidium bromide.

### Sequencing

Sekuen ditentukan dari hasil PCR dengan menggunakan sequencer automatic. Hasil PCR dipurifikasi dengan menggunakan *spin column* (Amersham-Pharmacia) mengikuti protokolnya. Sekuensing dilakukan dengan menggunakan *Thermosequenase dye primer cycle sequencing kit* (Amersham-Pharmacia) dengan *ALFexpress DNA sequencer*. Reaksi sekuen di elektroforesis pada larutan 50% stock Long Ranger™ gel Acrylamid selama 12 jam.

### Analisis data

Analisis dilakukan pada 386 base-pair nukleotide hasil sekuen. Penjajaran nukleotide menggunakan Clustal X (Jeanmougin *et al.*, 1998). Untuk menentukan sebaran haplotipe, haplotipe diversity (*h*) dan nucleotide diversity ( $\pi$ ) pada masing-masing populasi mengikuti metoda Nei (1987).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Daerah gen 12 S rRNA mtDNA dari hewan kukang didapat dari amplifikasi menggunakan dua primer yang dirancang dan digunakan oleh Kocher *et al.* (1989). Hasil amplifikasi dari 12 individu kukang dengan menggunakan primer L1091 (5'-AAAAAGCTTCAAACCTGGGATTAGAT

ACCCCACTAT-3') dan H1478 (5'-TGACTGCAGAGGGTGACGGGCCGGTGTGT-3') adalah sekitar 400 bp dan hasil sekuensing sepanjang 386 bp.

### Variasi Genetik

Jajaran nukleotida sepanjang 386 bp gen 12S rRNA mtDNA dari 12 individu kukang dapat dilihat pada Gambar 1. Dari jajaran nukleotida tersebut terdapat sembilan situs bervariasi (*polymorphic sites*), dan posisi situs yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 1. Semua variasi situs tersebut menunjukkan kejadian transisi dan masing-masing posisi ini mengalami satu atau lebih perubahan basa. Kejadian ini sesuai dengan pendapat Greenberg *et al.* (1983) yang menyatakan bahwa pada populasi yang berhubungan dekat, diharapkan variasi pada sekuen didominasi oleh kejadian transisi.

Dari sembilan situs yang berbeda ditemukan lima haplotipe (JA, JB, SA, SB, dan SC) yang ditunjukkan pada Tabel 1. Populasi kukang asal Jawa (Sumedang dan Jember) dicirikan oleh haplotipe JA (n=2) dan JB (n=6), dan populasi kukang asal Lampung dicirikan oleh haplotipe SA (n=1), SB (n=2) dan SC (n=1). Dari perhitungan frekuensi haplotipe pada penelitian ini, JB merupakan frekuensi haplotipe tertinggi sebesar 0,667 (Tabel 2.) baik dalam populasi maupun antar populasi. Sebaran haplotipe pada masing-masing populasi menunjukkan, bahwa pada populasi kukang Sumedang (2 haplotipe) kurang beragam dibanding kukang Lampung (3 haplotipe), sementara populasi kukang Jember monomorfik (n=2). Secara keseluruhan tingkat keragaman *N. coucang* cukup tinggi yaitu dengan 5 haplotipe dari 12 individu. Hasil penelitian ini ditunjang hasil penelitian sebelumnya pada *control region* mtDNA

**CLUSTAL X (1.8) multiple sequence alignment**

```

SM4      -TTGCCCTATTCAATTAAGCTCTCTATTCTTAATTTACTTCTAAATCCGCCTTAATCACT
SM1      ATTGCCCTATTCAATTAAGCTCTCTATTCTTAATTTACTTCTAAATCCGCCTTAATCACT
SM2      ---GCCCTATTCAATTAAGCTCTCTATTCTTAATTTACTTCTAAATCCGCCTTAATCACT
JM1      ---GCCCTATTCAATTAAGCTCTCTATTCTTAATTTACTTCTAAATCCGCCTTAATCACT
SM3      -----TTACTTCTAAATCCGCCTTAATCACT
LP3      -----TTCAATTAAGCTCTCTATTCTTAATTTACTTCTAAATCCGCCTTAATCACT
SM5      -----ATTCAATTAAGCTCTCTATTCTTAATTTACTTCTAAATCCGCCTTAATCACT
JM2      -----TATTCAATTAAGCTCTCTATTCTTAATTTACTTCTAAATCCGCCTTAATCACT
SM6      -----CCTATTCAATTAAGCTCTCTATTCTTAATTTACTTCTAAATCCGCCTTAATCACT
LP2      -----TTACTTCTAAATCCGCCTTAACCACT
LP1      ---GCCCTATTCAATTAAGCTCTCTATTCTTAATTTACTTCTAAATCCGCCTTAACCACT
LP4      --TGCCCTATTCAATTAAGCTCTCTATTCTTAATTTACTTCTAAATCCGCCTTAACCACT

                                                    *
SM4      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAATTGTTCTGTGAAGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
SM1      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAATTGTTCTGTGAAGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
SM2      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAATTGTTCTGTGAAGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
JM1      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAATTGTTCTGTGAAGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
SM3      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAATTGTTCTGTGAAGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
LP3      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAATTGTTCTGTGAGGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
SM5      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAATTGTTCTGTGAAGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
JM2      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAATTGTTCTGTGAAGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
SM6      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAATTGTTCTGTGAAGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
LP2      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAGTTGTTCTGTGAGGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
LP1      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAGTTGTTCTGTGAGGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC
LP4      TTTTTTCATAAGGGGTGGCGTTAGTTGTTCTGTGAGGATAGAAAATGTAGCCCATTTCTTC

                    *                *
SM4      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTGGTTCTCCTGCTTACTATG
SM1      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTGGTTCTCCTGCTTACTATG
SM2      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTGGTTCTCCTGCTTACTATG
JM1      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTGGTTCTCCTGCTTACTATG
SM3      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTGGTTCTCCTGCTTACTATG
LP3      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTAGTTCTCCTGCTTACTATG
SM5      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTGGTTCTCCTGCTTACTATG
JM2      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTGGTTCTCCTGCTTACTATG
SM6      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTGGTTCTCCTGCTTACTATG
LP2      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTAGTTCTCTTGCTTACTATG
LP1      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTAGTTCTCTTGCTTACTATG
LP4      CCACCTCATAGACTACACCTTGACCTAACGTTTTAATGTGTGGTTCTCTTGCTTACTATG

                                                    *      *
SM4      GGTTCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG
SM1      GGTTCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG
SM2      GGTTCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG
JM1      GGTTCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG
SM3      GGTTCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG
LP3      GGTTCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG
SM5      GGTTCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG

```

JM2 GGTCCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG  
 SM6 GGTCCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG  
 LP2 GGTCCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG  
 LP1 GGTCCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG  
 LP4 GGTCCCTTGACAGGGTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGGTTGAATTAGAAAAGAGGTGGTG  
 SM4 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTGTAAAGCACCCG

**Wirdateti et al.**

SM1 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTGTAAAGCACCCG  
 SM2 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTGTAAAGCACCCG  
 JM1 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTGTAAAGCACCCG  
 SM3 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTGTAAAGCACCCG  
 LP3 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTGTAAAGCACCCG  
 SM5 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTGTAAAGCACCCG  
 JM2 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTGTAAAGCACCCG  
 SM6 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTGTAAAGCACCCG  
 LP2 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTATAAAGCACCCG  
 LP1 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTATAAAGCACCCG  
 LP4 AGGTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGGGGGGTATAAAGCACCCG

\*

SM4 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTGTTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGGTAT  
 SM1 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTATTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGGTAT  
 SM2 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTATTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGGTAT  
 JM1 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTATTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGGTAT  
 SM3 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTATTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGGTAT  
 LP3 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTATTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGGTAT  
 SM5 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTGTTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGGTAT  
 JM2 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTATTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGGTAT  
 SM6 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTATTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGGTAT  
 LP2 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTATTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGATAT  
 LP1 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTATTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGATAT  
 LP4 CAAGTCCTTTGAGTTTCGAGCTATTGCTTGTAGTACTCTGGCGAGTAGCATTGTTGGTAT

\*

\*

SM4 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAG-----  
 SM1 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGG-----  
 SM2 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGG-----  
 JM1 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGGGTATCTAAT-----  
 JM3 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGGGTATCTG-----  
 LP3 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGGGTATCTNAT-----  
 SM5 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGGGTATCTTTATCCCAGTT  
 JM2 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGGGT-----  
 SM6 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGGGTATCTAAT-----  
 LP2 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGGGTATC-----  
 LP1 GCTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGG-----  
 LP4 GTTACTTTAGTTTACGGTTAAGCATAGTGGG-----

\*

**Gambar 1.** Jajaran Sekuen 386 bp dari DNA mitokondria 12S rRNA.  
 (\* menunjukkan posisi 9 variasi situs)

dengan menggunakan enzim pemotong (RFLP) (Wirdatei *et al.*, 2000), yaitu tingkat keragaman populasi kukang Lampung lebih tinggi dari pada populasi kukang Sumedang.

Tingkat keragaman individu baik dalam populasi maupun antar populasi menggambarkan status keberadaan spesies tersebut di alam. Tingkat keragaman rendah menunjukkan

penurunan dalam Ukuran Populasi Efektif di alam akibat terjadinya *in breeding*. Hal ini memungkinkan terbentuknya populasi monomorf atau homozygot yang menyebabkan kepunahan suatu spesies. Penggunaan DNA mitokondria dalam analisis ini, karena genom mitokondria mengalami

### Keragaman Genetik pada Kukang

**Tabel 1.** Posisi basa (situs) yang berbeda antara haplotipe kukang.

Haplotipe	Posisi Basa								
	22	49	61	129	135	255	289	323	328
JB	T	A	A	G	C	G	A	G	C
JA	.	.	.	.	.	.	G	.	.
SA	.	.	G	A	.	.	.	.	.
SB	C	G	G	A	T	A	.	A	.
SC	C	G	G	.	T	A	.	.	T

Tanda titik menunjukkan basa yang sama dengan sekuen pertama (urutan pertama)

**Tabel 2.** Frekuensi haplotipe, jumlah individu pada masing-masing lokasi

Lokasi	Frekuensi Haplotipe					Jumlah Individu				
	JA	JB	SA	SB	SC	JA	JB	SA	SB	SC
Sumedang	-		0,25	0,50	0,25			1	2	1
Lampung	0,33	0,667	-	-		2	4			
Jember	-	1					2			

laju evolusi yang tinggi dari pada DNA inti (Brown, 1985; Kocher *et al.*, 1989), dan gen 12S rRNA merupakan salah satu gen mtDNA. Sekuen nukleotidanya tidak menunjukkan daerah *conserve* yang tinggi pada hewan vertebrata (Hixon & Brown, 1986).

Melnick *et al* (1992) menyatakan penelaahan keragaman genetik yang lebih akurat dapat dilakukan dengan metode sekuensing yang ditunjukkan dengan

derajat substitusi secara tarnsisi dan tarnversi. Selain itu juga dapat dilakukan melalui kajian RFLP atau enzim restriksi yang ditentukan dari hasil ada tidaknya tempat-tempat restriksi yang khusus pada sekuen DNAny. Dengan teknik sekuensing keragaman atau variasi situs dapat diketahui dengan penjajaran hasil nukleotida dengan menggunakan Clustal X (Jeanmougin *et al.*, 1998). Hasil penjajaran nukleotida pada penelitian ini

menunjukkan adanya variasi situs pada urutan basa nukleotida yang sama dari 12 individu kukang (Gambar 1.). Variasi situs terjadi akibat penggantian (subststitusi), penghilangan (delesi) dan penambahan (insersi) basa pada urutan sekuen DNA yang sama. Terdapatnya perbedaan haplotipe menunjukkan adanya keragaman individu dalam populasi maupun antar populasi. Saccone *et al.*

Wirdateti *et al.*

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini ditemukan lima haplotipe yaitu JA, JB, SA, SB, dan SC. Haplotipe JA, dan JB ditemukan pada populasi kukang Jawa dan haplotipe SA,SB,SC ditemukan pada populasi kukang Sumatera. Dari sebaran haplotipe menunjukkan, bahwa tingkat keragaman genetik pada populasi kukang Sumedang lebih rendah dari pada populasi kukang Lampung. Tingkat keragaman *N.c. coucang* secara keseluruhan cukup tinggi.

## SARAN

Dengan terbatasnya sampel dari masing-masing subspecies dalam penelitian ini, maka perlu penelitian lebih lanjut dengan penambahan jumlah sampel pada masing-masing lokasi dan penambahan jumlah lokasi dari masing-masing subspecies, sehingga diperoleh informasi yang lengkap tentang keberadaan kukang di alam.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada APPERI (Assosiasi Penangkar dan Pemanfaat Hewan Percobaan Indonesia) dan Biodiversity Conservation Project – JICA (*Japan International Cooperation*

(1991) juga menyatakan bahwa kehadiran haplotipe yang jelas pada individu berbeda, akibat terdapatnya laju mutasi tinggi, karena subststitusi, insersi dan delesi dari basa nukleotida. Mutasi yang terjadi pada penelitian ini adalah penggantian basa (subststitusi) yaitu antara basa Adenin (A) ke Guanin (G) dan Cytosin (C) ke Timin (T) dan keseluruhannya didominasi kejadian transisi.

*Agency*) yang telah membantu membiayai penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous. 1978. *Mamalia Indonesia. Inventarisasi Satwa*. Direktorat Perlindungan dan Pengawetan Alam. Departemen Kehutanan, Jakarta.
- Anonimous. 1996. *List of CITES Species*. Direktorat Jenderal Perlindungan Hutan dan Pelestarian Alam, Departemen Kehutanan, Jakarta.
- Brown, W.M. 1985. *The Mitochondrial Genom of Animals in Molecular Evolutionary Genetic*. Plenum Press, New York.
- Clayton, D.A. 1991. Nuclear godgest in mitochondrial DNA replication and transcription. *Foends Biol. Sci.* 16:107-111.
- Greenberg, B.D., J.E. Newbold, & A. Sugino. 1983. Interspecific nucleotide sequence variability surrounding the origin of replication in human mitochondrial DNA. *Gene* 21:33-49.
- Groves, C.P. 1971. Systematics of the genus *Nycticebus*. *Proc. 3<sup>rd</sup> Int. Congr. Primatol. Zurich* Vol.1. Basel, Karger. h. 44-53.

- Hixon J.E. & W.M. Brown. 1986. A comparison of the small ribosomal RNA genes from the mitochondrial DNA of the Great Apes and Humans: Sequence, Structure, Evolution and Phylogenetic Implications. *Mol. Biol. Evol.* 3(1):1-18.
- Jeanmougin F., J.D. Thomson, M. Gouy, D.G. Higgins, & T.J. Gibson. 1998. Multiple Sequence alignment with Clustal X. *Trends Biochem Sci* 23:403-405.
- Kocher T.D., W.K. Thomas, A. Meyer, S.V. Edwards, S. Paabo, F.X. Villablanca, & A.C. Wilson. 1989. Dynamics of mtDNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:6196-6200.
- Lekagul, B. & J.A. McNeely. 1977. *Mammals of Thailand. The Keragaman Genetik pada Kukang*
- Association for the Conservation of Wildlife. Bangkok.
- Melnick D.J., G.A. Hoelzer, & R. Honeycut. 1992. The mitochondrial genome : Its uses in anthropological research. *Dalam* : Devor, E. (ed). *Molecular Application in Biological Anthropology*. Cambridge University Press. h. 179-233.
- Melnick D.J. & G.A. Hoelzer. 1993. What is mtDNA Good for in the Study of Primate Evolution. *vol. Antropol.* 2(1):1-38.
- Moritz C, T.E. Dowling, & W.M. Brown. 1992. Evolution of Animal Mitochondrial DN. Relevance for population Biology and Systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18:268-292.
- Nei, M. 1987. *The Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Saccone C., M. Attimonelli & E. Sbisà. 1987. Structural Elements Highly Preserved During the Evolution of the D-loop Containing Region in Vertebrate Mitochondrial DNA. *J. Mol. Evol.* 26:205-211.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, & T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning : a laboratory manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
- Schulze, H. 1999. Detection and Identification of Lorises and Pottos in The Wild; Information for surveys/ Estimated of population density. <http://www.species.net/primates/oris/lorCp.1.html>.
- Smuts. B.B., D.I. Cheney, R.M. Seyfarth, R.W. Wrangham & T.T. Struhsaker. 1987. *Primate Societies*. The Univ. Of Chicago Press., Chicago and London.
- Wirdateti, D. Duryadi, D. Sajuthi, & T. Ungerer. 2000. Kekerabatan kukang (*Nycticebus coucang*) berdasarkan control region mtDNA dengan metode PCR-RFLP. *J. Primatol. Indon.* 3(2):62-68.