

**KARAKTERISTIK GENETIK KUSKUS (FAMILI
PHALANGERIDAE) BERDASARKAN GEN
Cytochrome b MITOKONDRIAL DNA UNTUK
MENDUKUNG KONSERVASI**

SKRIPSI

**Diajukan untuk Memenuhi Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains
dalam Ilmu Biologi**



Oleh : FAZA NUZULIAH FURQONI

NIM : 2008016007

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG

2024

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Faza Nuzuliah Furqoni

Nim : 2008016007

Program studi : Biologi

Menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul :

**KARAKTERISTIK GENETIK KUSKUS (FAMILI
PALANGERIDAE) BERDASARKAN GEN *Cytochrome b*
MITOKONDRIAL DNA UNTUK MENDUKUNG KONSERVASI**

Secara keseluruhan merupakan hasil penelitian/karya sendiri,
kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 20 juni 2024

Pembuat Pernyataan



Faza Nuzuliah Furqoni

Nim : 2008016007



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang
Telp.024-7601295 Fax.7615387

LEMBAR PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : **Karakteristik Genetik Kuskus (Famili Phalangeridae) Berdasarkan Gen Cytochrome b Mitokondrial DNA untuk Mendukung Konservasi**

Penulis : Faza Nuzuliah Furqoni

NIM : 2008016007

Program Studi : S1 Biologi

Telah diujikan dalam sidang tugas akhir oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam ilmu Biologi.

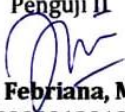
Semarang, 17 Juli 2024

DEWAN PENGUJI

Penguji I


Dr. Dian Ayuning Niyas, M. Biotech.
NIP : 198412182011012004

Penguji II


Asri Febriana, M.Si.
NIP : 198902012019032015

Penguji III


Galih Kholifatun Nisa, M.Sc.
NIP : 199006132019032018

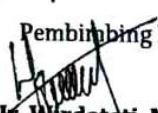
Penguji IV


Ir. Wirdateti, M.Si
NIP : 196105011986012001

Pembimbing I


Galih Kholifatun Nisa, M.Sc.
NIP : 199006132019032018

Pembimbing II


Ir. Wirdateti, M.Si
NIP : 196105011986012001



NOTA DINAS

Semarang, 20 Juni 2024

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo
di Semarang

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa Saya telah melakukan bimbingan, arahan, dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul Skripsi : **Karakteristik Genetik Kuskus
(Famili Phalangeridae)
Berdasarkan Gen *Cytochrome b*
Mitokondrial DNA untuk
Mendukung Konservasi**

Penulis : Faza Nuzuliah Furqoni
NIM : 2008016007
Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam sidang munaqosyah.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Pembimbing,

Galih Kholifatun Nisa', M.Sc.
NIP. 199006132019032018

NOTA DINAS

Semarang, 14 Juni 2024

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo
di Semarang

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa Saya telah melakukan bimbingan, arahan, dan koreksi naskah skripsi dengan:

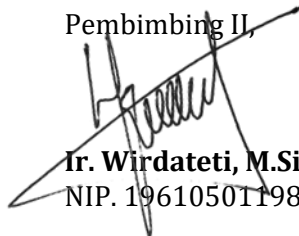
Judul Skripsi : **Karakteristik Genetik Kuskus (Famili Phalangeridae) Berdasarkan Gen *Cytochrome b* Mitokondrial DNA untuk Mendukung Konservasi**

Penulis : Faza Nuzuliah Furqoni
NIM : 2008016007
Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam sidang munaqosyah.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Pembimbing II,



Ir. Wirdateti, M.Si.

NIP. 196105011986012001

ABSTRAK

Kuskus merupakan mamalia marsupial dari famili Phalangeridae yang populasinya menurun akibat hilangnya habitat dan pemburuan liar. Untuk menjaga keberlanjutannya, penting diketahui karakter genetik dan variasi genetik antar spesies maupun antar genus di dalam famili Phalangeridae. Informasi lebih lanjut tentang keragaman genus *Phalanger* dibutuhkan untuk mendukung pembuatan kebijakan, pengelolaan, dan strategi pelestarian kuskus di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi genetik yang dapat terjadi pada *Phalanger* di Indonesia dan mengetahui hubungan kekerabatan genus *Phalanger* di Indonesia sebagai upaya konservasi. DNA diekstraksi dari 21 individu yang berasal dari koleksi *Museum Zoologicum Bogoriense* (MZB), dan diperoleh dari habitat berbeda yaitu Sulawesi (7 individu), Papua (3 individu), Maluku (10 individu), P. Timor (1 individu) sesuai dengan protokol *Dneasy Blood and Tissue Kit* (Qiagen) karakter genetik menggunakan penanda atau marker gen Cytochrome b Mitokondrial DNA (mtDNA). Tahapan dalam penelitian yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*), elektroforesis, sekuensing, kemudian analisis dengan MEGA 6.0 dengan beberapa parameter yang diamati yaitu jarak genetik (d), keragaman nukleotida (π), pohon filogeni berdasarkan *Maximum Likelihood* dengan sensifitas *Bootstrap* sebanyak 5000 kali ulangan. Hasil analisis gen *Cyt-b* diperoleh rata-rata jarak genetik antar spesies kuskus berdasarkan sampel uji Phalangeridae adalah 0,233 (23,3%), dan 272 variasi situs nukleotida. Penelitian hanya berdasarkan satu gen dengan panjang sekuen pendek yaitu 417 bp untuk 16 sampel.

Kata kunci : Cytochrome b, Genetik, Kuskus, mtDNA

ABSTRACT

Kuskus is a marsupial mammal of the Phalangeridae family whose population is declining due to habitat loss and poaching. To maintain its sustainability, it is important to know the genetic characters and genetic variation between species and between genus within the Phalangeridae family. More information about the diversity of the Phalanger genus is needed to support policy making, management, and cuscus conservation strategies in Indonesia. This study aims to determine the genetic variation that can occur in Phalanger in Indonesia and to determine the relationship between Phalanger genus in Indonesia as a conservation effort. DNA was extracted from 21 individuals from the collection of Museum Zoologicum Bogoriense (MZB), and obtained from different habitats namely Sulawesi (7 individuals), Papua (3 individuals), Maluku (10 individuals), P. Timor (1 individual) according to the Dneasy Blood and Tissue Kit protocol (Qiagen) genetic characters using Cytochrome b Mitochondrial DNA (mtDNA) gene markers. The stages in the study were DNA extraction, DNA amplification using PCR (Polymerase Chain Reaction), electrophoresis, sequencing, then analysis with MEGA 6.0 with several parameters observed, namely genetic distance (d), nucleotide diversity (π), phylogeny tree based on Maximum Likelihood with Bootstrap sensitivity of 5000 replicates. The results of the Cyt-b gene analysis obtained the average genetic distance between cuscus species based on the Phalangeridae test sample was 0.233 (23.3%), and 272 nucleotide site variations. The study was only based on one gene with a short sequence length of 417 bp for 16 samples.

Keywords: *Cytochrome b, Genetics, Kuskus, mtDNA*

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah. Dia-lah Tuhan, Maha Pengasuh sekaligus Pengasih bagi seluruh penghuni semesta alam ciptaan-Nya. Kasih sayang-Nya selalu melimpah, nikmat-Nya senantiasa tumpah ruah, hidayah-Nya pun terus merekah, sehingga penulis terbimbing untuk sanggup melewati titik demi titik perjalanan di dunia, salah satunya adalah titik penyelesaian skripsi berjudul **“Karakteristik Genetik (Famili Phalangeridae) Berdasarkan Gen *Cytochrome b* Mitokondrial DNA untuk Mendukung Konservasi”** sebagai tugas akhir perkuliahan program strata satu (S1) program studi Biologi.

Shalawat serta salam juga senantiasa terhaturkan kepada Baginda Muhammad Rasulullah SAW. Beliau-lah kekasih sekaligus orang terpilih untuk menghantarkan umat manusia meniti jalan menuju Tuhan; Beliau-lah satu satunya perantara manusia untuk bisa meraih kasih sayang, nikmat, serta hidayah Tuhan lewat syafaatnya; dan Beliau-lah satu-satunya orang yang diberikan wewenang untuk menolong manusia kelak di Hari Pembalasan.

Terselesaikannya penulisan skripsi ini tentu terlebih dahulu melewati hambatan, tantangan, dan rintangan. Memang semuanya harus dilewati untuk melanjutkan titik demi titik perjalanan dunia yang akan terjajahkan di depan nanti. Dan, Tuhan beserta Rasul-Nya berperan lebih dalam setiap jalan yang terlalui. Namun, tak lupa juga peran orang-orang yang terpilih untuk memberikan bantuan dalam berbagai bentuk hal. Oleh karena itu, sudah sepantasnya penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Nizar, M.Ag., selaku Rektor UIN Walisongo Semarang.
2. Bapak Prof. Dr. Mushadi, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.
3. Ibu Dr. Dian Ayuningtyas, M. Biotech., selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Walisongo Semarang.

4. Ibu Galih Kholifatun Nisa', M.Sc., selaku Sekretaris Prodi Biologi UIN Walisongo Semarang, sekaligus Dosen Pembimbing I yang selain mengurus banyak hal terkait akademik jurusan Biologi, beliau juga dengan penuh kasih sayang dan kesabaran membimbing penulis untuk bisa menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Ir. Wirdateti, M.Si, selaku pembimbing kedua yang selain mengurus banyak hal terkait penelitian beliau di BRIN, beliau juga dengan penuh perjuangan, kesabaran, dan ketekunan membimbing penulis untuk bisa menyelesaikan skripsi ini.
6. Pak ijul selaku perekayasa di laboratorium Pengelolaan Reproduksi Satwa Liar (PRSL), pak nanang selaku teknisi Mammals MZB, mas ahad selaku RA di PRSL, mas fahri selaku RA lab Genetika dan *Research Assistant* (RA) lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu, dan teman seperjuangan yang juga menyelesaikan tugas akhir di BRIN.
7. Umi dan Abi yang telah mendidik penulis sejak berada dalam kandungan, kemudian berusia belia, hingga kini beranjak dewasa. Setiap jengkal hidup penulis (sebagai anak) tak lepas dari doa *Panjenengan*; setiap jalan hidup yang penulis lalui juga tak lepas dari subsidi finansial sekaligus mental yang Tuhan berikan lewat *Panjenengan*. Terimakasih yang terhatur kepada *Panjenengan*, tidak hanya luas, melainkan juga teramat dalam.
8. Ketiga adik kandung penulis, yang senantiasa memberikan support dan perhatian. Termasuk juga kepada segenap keluarga, saudara dan sanak famili.
9. Sahabat yang setia mendampingi penulis dalam keadaan apapun, selalu merangkul, dan memberi semangat tanpa henti, menjadi saksi bertumbuh bersama sejak 2014 hingga saat ini, dan penulis berharap, pertemanan yang sangat kekeluargaan ini berlanjut hingga 100 tahun mendatang.

10. Seseorang yang memberikan pengertian, perhatian, dan sedikit mengubah caraku memandang hidup. terimakasih tidak pernah menghakimi dan meninggalkan penulis, sama seperti yang lainnya, peranmu dalam penulis sangat besar.
11. Seluruh teman yang tak terhitung jumlah kalian, yang mengenyam temu dengan penulis lewat berbagai macam cara pertemuan, mulai dari lewat kampung halaman tempat kita bermain dengan riang; lewat pesantren tempat kita menjalani susah-senang dan gurau-risau bersama dalam perjalanan bertajuk *ngaji-ngAllah*; lewat perkuliahan tempat kita bersua sekaligus bercanda dan berdiskusi sekaligus berbantah tentang banyak hal (meski hanya drama), baik kalian yang terkumpul dalam Alumni Walisongo Cukir yang senasib kembali di UIN Walisongo, Ma'had Ulil Albab Lil Banat, mahasiswa Biologi (Biosternum), maupun dalam bebrayan sesama manusia yang kebetulan sama-sama kuliah. Kalianlah, teman! *tenanan!* Meski terkadang ada beberapa dari kalian yang tak terjamah dengan temu, ketahuilah, bahwa saat itulah jamahan rindu berlaku!
12. Dan seluruh orang maupun pihak, pun juga seluruh makhluk, yang mungkin karena keterbatasan penulis, sehingga penulis tak menyadari semuanya terlibat dalam upaya penyelesaian skripsi sekaligus perkuliahan strata satu.

Pelaksanaan skripsi ini memang merupakan tugas wajib akhir perkuliahan. Namun, tema atau topik yang dibahas tidak hanya sekadar untuk tugas. Skripsi ini tentu tak lepas dari kekurangan yang tidak lain karena keterbatasan kemampuan penulis. Oleh karena itu, diharapkan agar siapapun yang bersentuhan dengan skripsi ini dapat memberikan kritik sekaligus saran guna memperbaiki, atau paling tidak, menjadi bekal untuk menjadi lebih baik lagi di masa atau tugas mendatang. Dan terlepas dari seluruh kekurangan dan keterbatasan

penulis, sedikit banyak, semoga skripsi ini mendulang manfaat.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
NOTA DINAS.....	iv
NOTA DINAS.....	v
ABSTRAK.....	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian.....	6
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II.....	8
LANDASAN PUSTAKA.....	8
A. Karakteristik Phalangeridae	8
1. Biogeografi Phalangeridae.....	8
2. Phalangeridae.....	11
3. Ciri Utama dan Klasifikasi Phalangeridae	12

4. Habitat, Perilaku, dan Status Phalangeridae	16
B. DNA	19
1. DNA Mitokondria (<i>mtDNA</i>)	19
2. Cytochrome b	23
3. Ekstraksi.....	24
4. Polymerase Chain Reaction (PCR).....	25
5. Sekuensing DNA	28
C. Keanekaragaman Gen Mamalia Dalam Al-Qur`an.....	29
D. Kajian Penelitian yang Relevan.....	29
BAB III	32
METODE PENELITIAN	32
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	32
B. Metode	32
1. Sampel Penelitian	32
<i>Keterangan :</i>	34
2. Alat.....	34
3. Bahan	35
4. Cara Kerja.....	36
C. Kerangka Penelitian	46
BAB IV.....	47
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	47
A. Deskripsi Hasil Penelitian.....	47
1. Isolasi DNA Genom Kuskus (Phalangeridae)	47

2. Amplifikasi DNA Gen <i>Cytochrome b</i> dengan Metode PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	49
3. Analisis Hasil Sekuen Gen <i>Cyt-b</i> Phalangeridae	52
4. Variasi Genetik DNA Kuskus dan Keragaman Nukleotida	59
B. Pembahasan Hasil Penelitian	65
1. Isolasi DNA Genom Kuskus (Phalangeridae)	65
2. Amplifikasi DNA Gen <i>Cytochrome b</i> dengan Metode PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	66
3. Analisis Hasil Sekuen Gen <i>Cyt-b</i> Phalangeridae	68
4. Variasi Genetik DNA Kuskus	76
BAB V	79
SIMPULAN DAN SARAN	79
A. Simpulan	79
B. Saran	80
DAFTAR PUSTAKA	81
LAMPIRAN.....	91
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	129

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kajian penelitian yang relevan	29
Tabel 3. 1 Sampel penelitian Phalangeridae.....	33
Tabel 3. 2 <i>Setting</i> Program PCR Primer <i>Cyt-b</i>	43
Tabel 4. 1 Data sampel hasil ekstraksi	49
Tabel 4. 2 Data primer PCR.....	50
Tabel 4. 3 <i>Query cover</i> dan <i>Ident</i> sampel.....	53
Tabel 4. 4 Sekuen dari <i>GenBank</i> NCBI	56
Tabel 4. 5 Jarak Genetik sekuen gen <i>cyt-b</i> kuskus antar spesies dalam populasi (Phalangeridae)	57
Tabel 4. 6 Persentase komposisi sekuen nukleotida	59
Tabel 4. 7 Variasi Situs Nukleotida.....	62
Tabel 4. 8 Matriks perbedaan nukleotida <i>cyt-b</i> kuskus famili Phalangeridae	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Peta Persebaran Kuskus di Indonesia.....	9
Gambar 2. 2 Genus <i>Phalanger</i>	15
Gambar 2. 3 Genus <i>Spilocuscus</i>	15
Gambar 2. 4 Genus <i>Ailurops</i> dan <i>Strigocuscus</i>	16
Gambar 2. 5 Struktur Nukleotida	19
Gambar 2. 6 Struktur Puryn dan Pyrimidin (Adenin dan Guanin; Cytosin, Tymin dan Urasil).....	21
Gambar 2. 7 Struktur untai ganda DNA	21
Gambar 2. 8 Daerah <i>Cyt-b</i> dalam DNA Mitokondria	24
Gambar 2. 9 Siklus PCR	28
Gambar 2. 10 Kerangka Berfikir	46
Gambar 4. 1 Hasil visualisasi gel agarose ekstraksi DNA	47
Gambar 4. 2 Hasil amplifikasi gen <i>Cyt-b</i> dengan primer universal.....	51
Gambar 4. 3 Hasil amplifikasi gen <i>Cytochrome b</i> dengan menggunakan primer spesifik kuskus	52
Gambar 4. 4 Rekontruksi pohon filogeni dengan metode <i>maximum likelihood</i> dan Kimura 2-parameter menggunakan nilai bootstrap 5000x pengulangan.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian.....	91
Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian.....	91
Lampiran 3. Variasi Situs Nukleotida.....	94
Lampiran 4. Penjajaran Sekuen Famili Phalangeridae	125

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan wilayah terluas di dunia, dengan sepertiga wilayahnya berupa daratan dan dua pertiga berupa lautan. Daratan Indonesia memiliki luas 1.919.440 km², menjadikannya negara terluas ke-15 di dunia. Indonesia juga dikenal sebagai Nusantara karena terdiri dari 17.508 pulau. Letak geografis Indonesia yang berada di antara benua Asia dan Australia membuatnya dikenal sebagai negara *Mega Biodiversity*, yaitu negara yang memiliki plasma nutfah yang berlimpah (Widayanti & Kunda, 2023). Salah satu aspek keberagaman spesies di Indonesia adalah keragaman jenis mamalia. Mengacu pada Indonesian Biodiversity Strategy and Action Plan (IBSAP) 2015-2020, Indonesia tercatat memiliki 720 jenis mamalia.

Mamalia adalah hewan atau binatang bertulang belakang (vertebrata) yang berdarah panas, dapat dibedakan dengan memiliki rambut, dan sistem reproduksinya dengan melahirkan anaknya. Dalam konteks dimensi tubuhnya, mamalia dapat dikelompokkan menjadi dua kategori, yaitu mamalia kecil dan mamalia besar. Menurut definisi dari *International Biological Program*, mamalia kecil adalah jenis mamalia yang memiliki berat badan dewasa kurang dari lima

kilogram, sementara yang lainnya termasuk dalam kategori mamalia besar (Suyanto & Semiadi, 2004). Kelompok ini merupakan hewan yang menyusui anaknya.

Salah satu mamalia berkantung nokturnal adalah dari Famili Phalangeridae. Famili ini terbagi menjadi enam genera, termasuk tiga spesies *Ailurops*, dua spesies *Strigocuscus*, 13 spesies *Phalanger*, enam spesies *Spilocuscus*, empat spesies *Trichosurus*, dan satu spesies *Wyulda* (Wilson & Mittermeier, 2015). Famili ini, yang mencakup 6 genera dan 22 spesies, dan dapat ditemukan di berbagai wilayah, termasuk Australia, Tasmania, New Guinea, dan pulau-pulau dari Sulawesi hingga Kepulauan Solomon (Ronald, 1999). Sebaran spesies kuskus di Indonesia berada di bagian timur meliputi Sulawesi, Papua, Maluku, dan Pulau Timor. Phalangeridae adalah keluarga marsupial yang memiliki variasi massa tubuh yang signifikan (Wilson & Mittermeier, 2015). Ukuran tubuh famili ini bervariasi, dengan panjang tubuh dan kepala berkisar antara 320 hingga 650 mm, dan panjang ekor berkisar antara 240 hingga 610 mm (Ronald, 1999).

Kuskus merupakan marsupial (hewan berkantong) yang termasuk dalam famili Phalangeridae, dan ia memiliki distribusi geografis yang meliputi wilayah dari bagian Timur Indonesia, Papua New Guinea, Cape York hingga Queensland di Australia (Salmon *et al.*, 2019) dan beberapa spesies

merupakan hewan endemik Maluku dan Papua (Usmany *et al.*, 2019). Namun secara mendalam tentang perilaku, cara penyebarannya, dan jenisnya, masih banyak yang belum diketahui dengan pasti (Menzies, 1991).

Saat ini populasi kuskus semakin menurun akibat hilangnya habitat dan banyaknya pemburuan liar. Kuskus seringkali menjadi target pengejaran manusia untuk daging dan bulunya. Jika aktivitas berburu dan penangkapan kuskus tidak dikendalikan, hal ini dapat membahayakan eksistensi kuskus di habitat asalnya (Marthinus, 2015). Hingga saat ini, Phalangeridae telah di kategorikan *Vulnerable* (rentan), dan *Critically Endangered* (menuju kepunahan) oleh International Union Conservation of Nature (IUCN, 2016), dan terdaftar dalam CITES Appendiks II. Di Indonesia sendiri kuskus sudah dimasukkan kedalam daftar satwa yang dilindungi sejak tahun 1990 dalam 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.

Salah satu langkah dalam menjaga keberlanjutan suatu spesies adalah mengumpulkan data tentang variasi genetiknya (Indrawan *et al.*, 2007). Ini disebabkan oleh kenyataan bahwa tingkat keragaman genetik yang ada pada suatu spesies mempengaruhi kemampuan adaptasinya dalam

rentang waktu yang berbeda, baik pendek maupun panjang. Efektivitas usaha pelestarian suatu spesies juga bisa bergantung pada tingkat keragaman genetik yang dimiliki oleh setiap individu dalam populasi tersebut (Frankham *et al.*, 2002). Diperlukan lebih banyak informasi mengenai keragaman famili Phalangeridae untuk mendukung pembuatan kebijakan, pengelolaan, dan strategi pelestarian kuskus di Indonesia karena data yang ada saat ini masih terbatas. Pengetahuan mengenai variasi kuskus dan analisis molekuler adalah faktor penting yang diperlukan dalam upaya konservasi kuskus untuk masa depan.

Ciri-ciri morfologi memegang peranan yang sangat signifikan dalam penentuan identitas spesies, dan banyak aspek morfologi internal, terutama karakter genitalia, yang memiliki nilai penting. Ciri-ciri ini bukan hanya digunakan untuk memverifikasi identitas spesies, tetapi juga untuk merangkai kembali hubungan filogenetik di antara mereka. Pendekatan molekuler muncul sebagai alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi hal ini (Syamsul, 2013).

Penelitian ini membandingkan spesies-spesies kuskus yang ada di Maluku, Papua, Sulawesi, dan P. Timor dengan menganalisis DNA Mitokondria yaitu menggunakan gen Cytochrome b. Hal ini dikarenakan DNA Mitokondria memiliki tingkat mutasi yang sepuluh kali lebih tinggi daripada DNA

inti, tidak mengandung intron, jarang mengalami rekombinasi, dan menunjukkan sifat monofiletik. Selain itu, DNA Mitokondria juga diwariskan secara maternal dalam bentuk haploid, mengikuti garis keturunan maternal (Saccone dkk., 1999), kemudian metode sekuensing digunakan untuk bisa menganalisis semua urutan nukleotida dalam gen tersebut. Hal ini bertujuan untuk menilai apakah ada variasi genetik di dalamnya yang nantinya dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk masing-masing spesies kuskus yang sedang diteliti (Widayanti *et al.*, 2015). Oleh karena itu, penelitian ini menjadi krusial karena minimnya eksplorasi dalam bidang molekuler terkait kuskus, khususnya spesifik pada famili Phalangeridae. Dengan tujuan untuk memahami variasi genetik dan relasi kekerabatannya, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan dalam upaya mendukung konservasi di Indonesia.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang yang telah di paparkan, rumusan masalah yang muncul pada penelitian adalah:

1. Bagaimana variasi genetik yang terdapat pada Phalangeridae di Indonesia?
2. Bagaimana hubungan kekerabatan famili Phalangeridae di Indonesia sebagai upaya konservasi?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui variasi genetik yang dapat terjadi pada Phalangeridae di Indonesia.
2. Untuk mengetahui hubungan kekerabatan famili Phalangeridae di Indonesia sebagai upaya konservasi.

D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Bagi penulis, penelitian ini memiliki potensi untuk memperluas pemahaman dan memberikan kesempatan untuk menerapkan pengetahuan yang dimiliki dalam bidang biologi molekuler.
2. Bagi pembaca, diharapkan penelitian ini dapat menyajikan informasi tentang hubungan filogenetik atau kekerabatan antara kuskus (famili Phalangeridae) di Indonesia. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat berguna dalam pengelompokan Phalangeridae, baik yang sudah teridentifikasi maupun yang masih belum teridentifikasi, dan data yang diperoleh dapat menjadi sumber informasi untuk penelitian masa depan, tentang spesies mamalia lainnya.
3. Bagi institusi UIN Walisongo Semarang, penelitian ini dapat berkontribusi dalam mewujudkan Visi dan Misi UIN Walisongo Semarang untuk menjadi Universitas

Islam riset terdepan berbasis kesatuan ilmu pengetahuan pada tahun 2038.

4. Bagi pemerintah, penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam melestarikan keanekaragaman hayati khususnya di wilayah-wilayah dimana kuskus ditemukan, yang dapat mendukung konservasi ekosistem yang lebih luas. Informasi tentang variasi genetik dalam famili Phalangeridae dapat memberikan panduan penting bagi upaya konservasi. Dengan memahami keragaman genetik diantara populasi Phalangeridae yang berbeda, dapat mengidentifikasi dan membantu memberikan langkah-langkah untuk melindungi mereka dan habitatnya yang rentan dan terancam punah.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

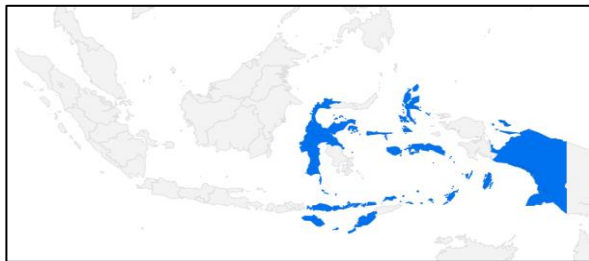
A. Karakteristik Phalangeridae

1. Biogeografi Phalangeridae

Kehadiran flora dan fauna adalah hal yang tak bisa dipisahkan dalam kehidupan manusia. Tumbuhan dan hewan memiliki peran penting masing-masing dalam menjaga kelangsungan hidup manusia. Ada hubungan saling ketergantungan antara tumbuhan, hewan, dan manusia yang berkontribusi pada penciptaan keseimbangan ekosistem. Beberapa hewan berkontribusi pada pertumbuhan dan penyebaran tumbuhan, sementara hewan juga bergantung pada tumbuhan sebagai sumber makanan mereka. Saling ketergantungan antara manusia, hewan, dan tumbuhan adalah bagian integral dari ekologi untuk menjaga kelangsungan hidup di dalam ekosistem (Widayanti & Kunda, 2023).

Dalam perspektif biogeografi, fauna di Indonesia terdiri dari empat wilayah terpisah yang dibatasi oleh dua garis, yaitu garis Wallacea dan garis Weber. Wilayah-wilayah tersebut mencakup fauna Asiatik, fauna Australis, dan fauna peralihan (Asiatik-Australia). Kondisi ini menjadikan Indonesia sebagai sebuah negara yang memiliki tingkat keanekaragaman fauna yang tinggi (Agus, 2022). Menurut

Biodiversity Conservation Indonesia (2014), Indonesia memiliki kekayaan fauna yang menduduki peringkat kedua setelah Brazil. Di Indonesia sendiri ada sekitar 12% dari jumlah mamalia dunia atau sekitar 515 spesies, terdapat di Indonesia. Di samping itu, sekitar 16% dari total reptil dunia, yaitu 781 spesies, juga dapat ditemui di Indonesia. Indonesia juga memiliki 35 spesies primata, yang menempatkannya pada peringkat keempat di dunia dalam hal keanekaragaman primata. Selain itu, sekitar 17% dari total spesies burung dunia, yang mencapai 1.592 spesies, serta 270 spesies amfibi, menjadikan Indonesia masing-masing berada di peringkat kelima dan keenam di tingkat global. Diperkirakan bahwa jika eksplorasi diperluas ke wilayah di luar Jawa, kemungkinan besar akan ditemukan spesies-spesies baru yang akan meningkatkan jumlah ini.



Gambar 2. 1 Peta Persebaran Kuskus di Indonesia (Sumber : dokumentasi pribadi. 2023)

Persebaran kuskus di Indonesia diantaranya di wilayah Indonesia bagian timur yaitu Papua, Maluku, Sulawesi, dan Pulau Timor (WR. Farida *et al*). Dikemukakan oleh Suyanto dkk. 2002 bahwa di Sulawesi ditemukan 4 spesies kuskus, terdiri dari *Phalanger pelengensis* (Kuskus Peleng), *Ailurops ursinus* (Kuskus Beruang), *Spilocuscus maculatus* (Kuskus Pontal/Bertotol), dan *Strigocuscus celebensis* (Kuskus Kerdil) mereka dapat ditemukan di Sulawesi Utara, Pulau Sangihe, dan kepulauan Talaud, dan kuskus tersebut merupakan spesies endemik kawasan Sulawesi. Kemudian di New Guinea (Papua, Papua New Guinea, dan Australia) terdapat sekitar 11 jenis kuskus, dan dari genus *Phalanger* diwakili oleh 8 jenis kuskus, diantaranya *P.orientalis* (kuskus biasa), *P. sericeus* (kuskus yaben), *P.carmelilae* (kuskus gunung), *P. lullulae* (kuskus woodlark), *P. gymnotis* (kuskus tanah), *P.vestitus* (kuskus siku putih atau kelabu), *P. matanim* (kuskus telefomin), dan *P. permextio*, hanya genus *Phalanger* dan *Spilocuscus* saja yang ada di bagian timur Indonesia seperti pulau Timor, Wetar, Ambon, Seram, Ternate, Tidore, dan Halmahera, Kep. Aru, Obi, Bacan, Lakor, Leti dan Buru (Sinery,. 2006). Dan di wilayah Maluku diperkirakan terdapat lima jenis kuskus yang berbeda, yakni *P. orientalis* (Kuskus Biasa/Coklat), *P. ornatus* (Kuskus Kuso), *P. rothschildi* (Kuskus Obi), *Spilocuscus maculatus* (Kuskus Pontal/Totol

putih), dan *P. vestitus* (Kuskus Tanah) mereka dapat ditemukan di Maluku Utara, termasuk Pulau Halmahera, Pulau Bacan, Pulau Morotai, dan Pulau Obi, serta di Pulau Ambon dan Pulau Seram, pada ketinggian sekitar 100 meter di atas permukaan laut (Usmany, 2015).

2. Phalangeridae

Berdasarkan *Handbook of The Mammals Of The World* Lynx Editions in association with Conservation International and IUCN, Famili Phalangeridae mencakup 29 spesies yang telah teridentifikasi dan menunjukkan keragaman tertinggi di antara keluarga posum hidup. Famili ini dibagi menjadi 6 genera, dan termasuk di dalamnya tiga spesies *Ailurops* yang terdiri dari *Ailurops ursinus*, *Ailurops melatonis*, dan *Ailurops fuscus*. Dua spesies *Strigocuscus* diantaranya *Striocuscus celebensis*, dan *Strigocuscus pelengensi*. Enam spesies *Spilocuscus* diantaranya *Spilocuscus maculatus*, *Spilocuscus rufoniger*, *Spilocuscus papuensis*, *Spilocuscus wilsoni*, *Spilocuscus kraemeri* dan *Spilocuscus inornatus*. Empat spesies *Trichosurus* yang terdiri dari *Trichosurus vulpecula*, *Trichosurus caninus*, *Trichosurus cunninghami*, *Trichosurus johnstonii*. Satu spesies *Wyulda* yaitu *Wyulda squamicaudat*. Dan yang paling banyak adalah dari genus *Phalanger* yaitu terdiri dari 13 spesies yaitu *P. gymnotis*, *P. orientalis*, *P. ornatus*, *P. mimicus*, *P. carmelitae*, *P. matabiru*, *P. vestitus*, *P.*

intercastellanus, *P. lullulae*, *P. rothchildi*, *P. alexandae*, *P. sariceus*, *P. matanim*. Namun di Indonesia sendiri ada empat genus Phalangeridae endemik, yaitu *Phalanger*, *Ailurops*, *Spilocuscus*, dan *Strigocuscus*. Kuskus merupakan sejenis *marsupial* (berkantung) yang aktif pada malam hari (*nokturnal*), memiliki ekor panjang yang kuat (*prehensile*), dan termasuk dalam famili Phalangeridae (Gobai *et al.*, 2020).

3. Ciri Utama dan Klasifikasi Phalangeridae

Klasifikasi ilmiah Phalangeridae adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
 Phylum : Chordata
 Class : Mammalia
 Order : Diprotodontia
 Family : Phalangeridae
 Genus : *Phalanger*, *Ailurops*, *Spilocuscus*, *Strigocuscus*, *Trichosurus*, dan *Wyulda*

Famili Phalangeridae memiliki ciri utama kantung yang terletak di perut (Salmon. 2019). Phalangeridae memiliki variasi massa ubuh yang signifikan, berkisar 1 kg hingga 10 kg pada kuskus beruang, terutama kuskus *Ailurops furvus* dimana merupakan spesies terbesar dalam famili ini. Meskipun ukuran ekstrem ini terlihat pada kedua genus ini, sebagian besar famili *Phalangeridae* berasal dari Sulawesi, seperti *Phalanger*, *Trichosurus*, dan *Wyulda*. Rambut pada

Phalangeridae biasanya lembut dan pada bagian bawah tubuhnya sangat lebat. Warna rambut mereka sangat bervariasi antara spesies dan bahkan dalam genus (Ronald, 1999). Misalnya pada *Spilocuscus maculatus* Menunjukkan tampilan unik dengan pola berselang-seling antara rambut berwarna hitam dan putih, serta sedikit rambut berwarna kelabu dan coklat muda, kemudian pada *P. vestitus* dimana memiliki ciri tampilan rambut sedikit putih dan sedikit rambut hitam dan kuning, pada kuskus putih (*P. urinus*) memiliki bulu berwarna putih dengan sentuhan warna kecoklatan kuning, dan pada *Spilocuscus maculatus* yang mempunyai ciri khusus yakni tampilan warna rambut totol hitam dan letaknya berselang-seling dengan warna putih dan ada sedikit kecoklatan (Usmany dkk., 2015). *Spilocuscus* menunjukkan perbedaan warna yang mencolok antara individu jantan dan betina, pada betina, ia memiliki warna yang sangat berbeda dari bagian tubuh lainnya, sementara jantan memiliki banyak bercak-bercak di punggungnya. Sejumlah spesies Phalanger juga menunjukkan perbedaan dalam warna bulu antara jantan dan betina. Jantannya berwarna coklat keabu-abuan sementara betinanya berwarna coklat kemerahan. Banyak spesies, khususnya yang memiliki warna bulu yang lebih terang, memiliki garis punggung mencolok yang membentang dari dahi hingga bagian tengah

punggung atau pantat (Ronald, 1999). Kuskus betina memiliki kantung yang terletak di bagian perutnya dan membuka ke depan, yang di dalamnya terdapat empat puting susu (Semiadi, 2001).

Phalangeridae memiliki kepala bulat dengan rostra pendek dan mata yang menghadap ke depan dengan pupil vertikal. Namun, Kuskus Beruang (*Ailurops*) memiliki pupil melingkar. Pupil mereka secara keseluruhan berbentuk bulat telur pada sebagian besar spesies Phalangeridae, kecuali pada spesies *Spilocuscus*, di mana pupilnya berbentuk seperti kucing yang lebih sempit. Ukuran telinga mereka bervariasi, pada sebagian kuskus, telinganya kecil dan tersembunyi di tengah bulu mereka, dan sebagian lagi memiliki telinga besar dan menonjol. Pada bagian *rhinarium* (bagian hidung) dan bagian dalam telinga biasanya tidak memiliki rambut (Ronald, 1999). Kuskus memiliki ekor yang panjang dan kuat, yang berguna untuk menggantung dari satu dahan ke dahan lainnya. Ekor kuskus juga berfungsi sebagai alat pertahanan dengan cara mengaitkannya dengan kuat pada batang atau cabang pohon (Salmon, 2019). Bentuk ekornya bervariasi antar spesies, ada ekor yang sepenuhnya tertutupi oleh rambut, ada juga yang tertutupi rambut pada bagian pangkal ekor saja (Ronald, 1999).



Gambar 2. 2 Genus *Phalanger* (Sumber: Wilson & Mittermeier, 2015)



Gambar 2. 3 Genus *Spilocuscus* (Sumber: Wilson & Mittermeier, 2015)



Gambar 2. 4 Genus *Ailurops* dan *Strigocuscus* (Sumber: Wilson & Mittermeier, 2015)

4. Habitat, Perilaku, dan Status Phalangeridae

Kuskus adalah hewan yang aktif pada malam hari, sehingga sulit untuk mengamati aktivitasnya secara langsung pada siang hari (nokturnal). Mereka bergantung pada tumbuhan hutan sebagai sumber makanan. Mayoritas makanan kuskus terdiri dari buah-buahan, daun, bunga, dan pucuk daun. Sebagai contoh, ada yang buah dengan daunnya, dan ada buah dengan bunganya yang dikonsumsi oleh kuskus. Dengan kata lain, Kuskus dapat memanfaatkan berbagai bagian dari satu jenis tumbuhan pakan yang sama. (Dahrudin dkk., 2005).

Kuskus umumnya menggunakan tumbuhan yang besar dan tinggi sebagai tempat untuk bersarang, yaitu tumbuhan dengan tinggi lebih dari 10 m dan diameter lebih dari 20 cm. Sarang kuskus biasanya berada setidaknya 5 m di atas permukaan tanah. Pohon-pohon yang digunakan sebagai tempat bersarang oleh kuskus sering kali memiliki tumbuhan

merambat tumbuh di sekitarnya atau merupakan gabungan antara pohon utama dan jenis tumbuhan lain seperti beringin. Kuskus tidak membuat sarang dengan membuat lubang sendiri, tetapi mereka memanfaatkan lubang-lubang yang sudah ada di pohon sebagai tempat untuk bersarang. Contohnya adalah pohon Are (*Pometia pinnata*) yang lubangnya tertutup oleh dedaunan (Dahrudin dkk., 2005).

Populasi dan lingkungan hidup kuskus saat ini menghadapi ancaman yang serius akibat pertumbuhan pembangunan yang cepat dan peningkatan jumlah penduduk. Salah satu permasalahan yang dihadapi adalah penurunan ketersediaan makanan karena kerusakan habitat yang disebabkan oleh aktivitas penebangan liar, kebakaran hutan, dan pecahnya habitat untuk pengembangan lahan perkebunan. Selain itu, ancaman utama datang dari perburuan ilegal yang dilakukan oleh masyarakat untuk memperoleh daging kuskus sebagai sumber protein hewani (Flannery & Maynes, 1987). Selain itu, menurut MN. Tamalene (2019) faktor lain yang menyebabkan penurunan populasi Kuskus ialah mencakup jarak yang sangat dekat antara permukiman penduduk dan habitat Kuskus, serta aktivitas penduduk yang berdampak negatif pada habitat Kuskus. Aktivitas ini mencakup pengambilan kayu bakar dan bahan bangunan, bahkan Kuskus sering dianggap sebagai hama

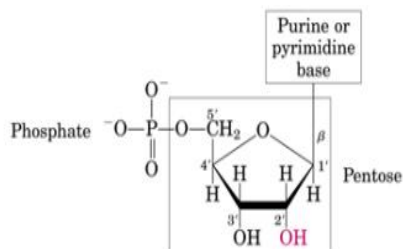
perkebunan oleh petani. Selain itu, lahan yang dibuka untuk perladangan, dan perburuan liar oleh penduduk lokal terus berlanjut, karena diyakini dapat menyembuhkan berbagai penyakit.

Kuskus di Indonesia sudah dilindung sejak tahun 1990 melalui Peraturan Perburuan Binatang Liar (PPBL) No. 226/1931, UU No. 5/1990 tentang konservasi sumber daya alam hayati dan ekosistemnya, kemudian Pasal 4 ayat (3) Peraturan Pemerintah No. 7/1999 tentang Pengawetan Jenis Tumbuhan dan Satwa, dan berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor P.106/MENLHK/SETJEN/KUM.1/12/2018 tentang Jenis Tumbuhan dan Satwa yang Dilindungi, telah ditetapkan jenis tumbuhan dan satwa yang dilindungi. Sejumlah jenis kuskus bahkan telah masuk dalam *redlist* (buku merah) yang dikategorikan oleh *Internasional Union Conservation of Nature* (IUCN) dan tergolong hewan terancam punah (*endangered*) atau rentan terhadap kepunahan (*vulnerable*). Saat ini, sebagian besar anggota keluarga Phalangeridae mendapatkan perlindungan hukum dan terdaftar dalam Appendix II Konvensi CITES.

B. DNA

1. DNA Mitokondria (*mtDNA*)

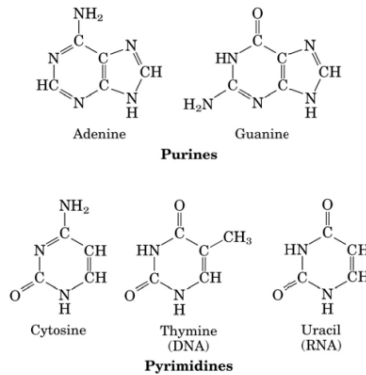
Menurut Dadan Rosana (2019), DNA adalah molekul besar yang terdiri dari benang panjang yang terbentuk dari sejumlah besar *deoksiribonukleotida*. Setiap *deoksiribonukleotida* terdiri dari satu basa, satu gula, dan satu gugus fosfat. Fungsi utamanya adalah mengalirkan materi genetik dari satu generasi ke generasi berikutnya. Selain itu, DNA juga merupakan polinukleotida yang membawa sifat-sifat khas yang diwariskan melalui kromosom. DNA adalah sebuah molekul besar yang terdiri dari rangkaian berulang polinukleotida. Ini membentuk struktur ganda yang berpilin ke kanan yang membentuk DNA heliks ganda.



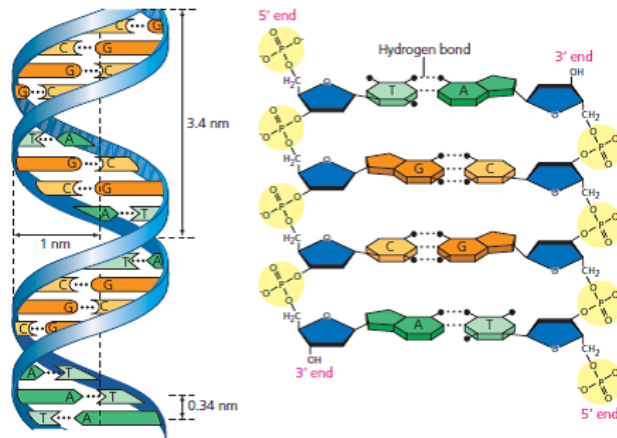
Gambar 2. 5 Struktur Nukleotida (Sumber : Shabarni. 2007)

Nukleotida menghubungkan satu sama lain melalui ikatan fosfodiesterase 5'-3'. Adenin (A) selalu berikatan dengan Thymin (T) dari nukleotida lainnya, sementara

Guanin (G) berikatan dengan Cytosin (C) dari nukleotida lainnya. Adenin dan Thymin membentuk dua ikatan hidrogen, sementara Guanin dan Cytosin membentuk tiga ikatan hidrogen, menjadikannya lebih stabil. Akibatnya, ikatan G-C lebih kuat sekitar 50% karena tambahan kekuatan ini, dan juga karena interaksi yang bersifat saling menyokong. Oleh karena itu, daerah DNA yang mengandung banyak ikatan G-C jauh lebih tahan terhadap proses denaturasi (proses pemisahan) daripada daerah yang kaya akan A dan T (Yudianto. 2020). DNA mitokondria sering dimanfaatkan untuk melacak hubungan kekerabatan, dan memahami evolusi suatu spesies (Solihin. 1994). Hal ini disebabkan oleh tingkat mutasi DNA mitokondria yang sepuluh kali lebih tinggi dibandingkan dengan DNA inti, jarang terjadi rekombinasi, serta pewarisannya secara maternal dalam bentuk haploid berdasarkan garis keturunan maternal (Saccone dkk., 1999). Selain itu, dalam analisis filogenetik, DNA mitokondria sering digunakan karena sangat efektif untuk memahami hubungan antara spesies dan takson yang baru saja mengalami divergensi (Rahayu, 2019).



Gambar 2. 6 Struktur Puryn dan Pyrimidin (Adenin dan Guanin; Cytosin, Tymin dan Urasil) (Sumber : Shabarni, 2007)



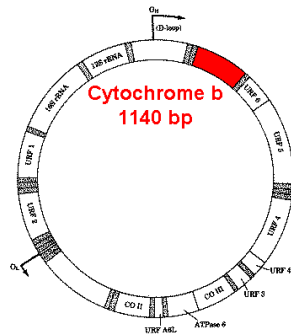
Gambar 2. 7 Struktur untai ganda DNA (Sumber : Campbell, 2008)

Setiap sel dapat mengandung sejumlah mitokondria, berkisar dari satu hingga ratusan. DNA mitokondria

merupakan molekul DNA berbentuk sirkuler yang terdiri dari utas ganda. DNA mitokondria berukuran sekitar 16.000 pasang basa (pb) yang membentuk 37 gen (Widayanti & Kunda, 2023). Yang digunakan dalam penelitian ini adalah penanda molekuler *Cytochrome b*. *Cytochrome b* adalah salah satu gen di mitokondria yang bertanggung jawab untuk mengkode protein, dan dikenal sebagai marker DNA yang membantu dalam mengungkap sejarah evolusi hewan (Kocher *et al.* 1989). Ada beberapa alasan yang mendukung penggunaan mtDNA sebagai penanda dalam penelitian tentang keragaman genetik dan biologi populasi pada hewan yaitu (1) Jumlah kopi DNA mitokondria dalam sel tinggi, memudahkan isolasi dan amplifikasi untuk berbagai analisis genom. (2) Ukuran DNA mitokondria relatif kecil, berkisar antara 14 hingga 39 kilobasa (kb), sehingga dapat dipelajari sebagai sebuah entitas genetik yang utuh. (3) Berbagai bagian dari genom mitokondria mengalami evolusi dengan tingkat kecepatan yang berbeda. Oleh karena itu, mtDNA memiliki beberapa karakteristik yang menjadikannya pilihan yang baik untuk penelitian dalam keragaman genetik dan populasi hewan.

2. Cytochrome b

Menurut Widayanti (2006), *Cytochrome b* merupakan salah satu bagian dalam mitokondria yang sering digunakan dalam penelitian yang membahas tentang hubungan antar spesies dari genus ataupun famili yang sama, karena daerah penyandi protein ini tidak terlalu bervariasi, sehingga cocok dijadikan marka genetik untuk identifikasi spesies. Gen *Cyt-b* berukuran sekitar 1140 bp (Hsieh *et al.*, 2001). Gen *Cyt-b* adalah bagian yang terlibat dalam transportasi elektron di mitokondria. Gen *Cyt-b* dikode oleh DNA mitokondria dan memiliki delapan heliks transmembran yang dihubungkan oleh dominan ekstramembran atau intramembran. Gen ini memiliki variasi urutan yang bisa digunakan untuk membandingkan spesies dalam genus atau famili yang sama. Selain itu, gen ini juga memiliki bagian yang tetap pada tingkat spesies sehingga bisa digunakan untuk pengelompokkan dalam menentukan hubungan kekerabatan antar jenis hewan (Widowati, 2013).



Gambar 2. 8 Daerah *Cyt-b* dalam DNA Mitokondria (Sumber: Steven, 2005)

3. Ekstraksi

Ekstraksi DNA adalah rangkaian tindakan yang digunakan untuk memisahkan DNA dari komponen-komponen sel lainnya. Ini merupakan langkah awal yang sangat krusial (Sambrook *et al.*, 2001). Secara umum, proses ekstraksi melibatkan langkah-langkah seperti menghancurkan membran sel dengan menggunakan *Sodium Dodesil Sulphate* (SDS) atau detergen serupa, menghilangkan protein dan RNA dengan bantuan Proteinase K dan RNase, mengendapkan DNA, dan pemanenan DNA (Ariyanti & Sianturi, 2019). Prinsip dalam ekstraksi DNA mitokondria adalah menghilangkan sitoplasma dari intinya melalui proses sentrifugasi rendah, sehingga hanya mitokondria yang diperoleh (Solihin, 1994). Proses utama dalam ekstraksi DNA ini melibatkan penggunaan sebuah kit yang terdiri dari tahap

lisis sel, pengikatan DNA (binding), pencucian DNA (wash), dan elusi. Selama proses ini, reagen dan buffer yang digunakan telah disediakan oleh produsen *Extraction Kit* (Ariyanti & Sianturi, 2019).

4. Polymerase Chain Reaction (PCR)

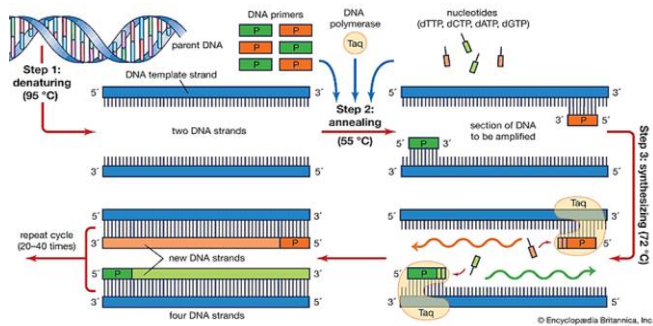
PCR adalah sebuah teknik sintesis DNA in vitro yang mengandalkan perbanyakan fragmen DNA dengan bantuan enzim polymerase pada suhu tinggi secara berulang-ulang. Dalam proses PCR, diperlukan oligonukleotida pendek (primer DNA) sebagai proses awal. Primer ini akan berikatan atau berhibridisasi dengan untai tunggal DNA ketika suhu turun setelah untai ganda DNA terpisah. Hasil dari PCR dapat diamati dengan menggunakan teknik elektroforesis agarose. Prinsip ini menjadi dasar dalam proses PCR, di mana ketika suhu dalam proses PCR menurun, terjadi pengikatan oligonukleotida pada untai DNA. Hingga saat ini, metode PCR telah mengalami perkembangan dari metode PCR konvensional menjadi metode PCR yang dapat langsung digunakan untuk mendeteksi mutasi dalam sampel, tergantung pada tujuan aplikasinya, baik untuk tujuan identifikasi molekuler, sekuensing, atau rekayasa genetika (Rini, 2018).

Primer DNA merupakan urutan oligonukleotida pendek yang berfungsi sebagai awal dalam sintesis rantai DNA.

Teknik PCR memungkinkan penggandaan fragmen DNA tertentu. Umumnya, primer yang digunakan dalam PCR terdiri dari 20-30 nukleotida. DNA template adalah fragmen DNA yang akan digandakan dan berasal dari patogen yang terdapat dalam sampel klinis. Enzim DNA polimerase yang digunakan adalah Taq polymerase, enzim termostabil yang berasal dari bakteri termofilik *Thermus aquaticus*. Selama proses pemanjangan, deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) bergabung dengan ujung 3' primer, dan ion magnesium memicu aktivitas polimerase (Yusuf, 2010).

Dalam proses PCR, ada tiga tahapan penting yang berulang sekitar 30-40 kali dan berjalan dengan cepat. Tahap awal dimulai dengan denaturasi, yang terjadi sebelum enzim Taq polymerase ditambahkan ke dalam tube reaksi. Denaturasi DNA adalah proses dimana DNA untai ganda dibuka dan diubah menjadi DNA untai tunggal. Tahap ini biasanya berlangsung selama sekitar 3 menit untuk memastikan bahwa molekul DNA telah sepenuhnya terdenaturasi menjadi DNA untai tunggal. Denaturasi yang tidak sempurna dapat menyebabkan DNA cepat berubah kembali menjadi DNA untai ganda, yang dapat mengganggu proses PCR. Setelah denaturasi, langkah berikutnya adalah penempelan primer (*annealing*), yang berlangsung selama sekitar 30-45 detik. Suhu annealing berkisar antara 36°C

hingga 72°C, dengan suhu umumnya berada di sekitar 50-60°C. Suhu annealing dapat bervariasi tergantung pada panjang primer yang digunakan. Terakhir, tahap extension (pemanjangan primer) dimulai, di mana Taq polymerase memulai aktivitasnya untuk memperpanjang primer DNA dari ujung 3'. Kecepatan penambahan nukleotida oleh enzim ini biasanya mencapai 35-100 nukleotida per detik pada suhu 72°C, tergantung pada faktor seperti buffer, pH, konsentrasi garam, dan molekul DNA target. Oleh karena itu, untuk produk PCR dengan panjang 2000 pasang basa, tahap perpanjangan primer ini biasanya hanya memerlukan waktu sekitar 1 menit. Pada akhir siklus PCR, waktu untuk tahap ini diperpanjang hingga 5 menit agar semua produk PCR menjadi DNA untai ganda. Hasil PCR dapat diidentifikasi berdasarkan ukurannya dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Proses ini melibatkan injeksi DNA ke dalam gel agarosa dan pemisahan DNA dengan bantuan listrik. Hasilnya adalah bahwa fragmen DNA lebih kecil bergerak lebih cepat, sementara fragmen yang lebih besar terperangkap di gel, yang dapat digunakan untuk mengonfirmasi keberhasilan reaksi PCR. (Yusuf, 2010).



Gambar 2. 9 Siklus PCR (Sumber : Yusuf, 2010)

5. Sekuensing DNA

Sekuensing DNA adalah teknik atau metode untuk mengurutkan semua nukleotida dalam DNA atau gen dengan akurasi dan kecepatan tinggi. Secara prinsip, proses sekuensing DNA melibatkan beberapa tahap, seperti preparasi DNA template, annealing, reaksi sekuensing, dan terminasi. Hasil sekuensing ini dapat digunakan untuk menilai tingkat kesamaan urutan nukleotida DNA dengan berbagai organisme. Dengan analisis yang teliti, kita dapat mengidentifikasi asal DNA dari sampel yang digunakan (Mitra, 2018). Proses sekuensing ini digunakan untuk mengidentifikasi serta memahami peran gen atau fragmen DNA. Identifikasi DNA dilakukan dengan membandingkan sekuens DNA sampel dengan sekuens DNA yang tersimpan di *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) melalui metode *basic local alignment* (BLAST). Hasil analisis dengan

BLAST menyajikan berbagai informasi, termasuk grafik perbandingan, deskripsi sekuens, serta penyelarasan (alignment) sekuens (Muir *et al.*, 2016).

Tujuan utama dari sekuensing DNA adalah untuk mengidentifikasi urutan basa nitrogen (adenin, guanin, sitosin, dan timin) dalam sampel DNA (Olsvik *et al.*, 1993).

C. Keanekaragaman Gen Mamalia Dalam Al-Qur`an

Keragaman makhluk hidup terlihat dari variasi dalam bentuk, ukuran, struktur, warna, fungsi tubuh, organ, dan habitat. Meskipun ada persamaan dan perbedaan antara satu dengan yang lainnya, tidak ada dua individu yang identik, bahkan jika mereka dari induk yang sama (Idami, 2023). Sesuai dengan Firman Allah SWT. dalam Q.S. Al Fathir Ayat 28 sebagai berikut :

وَمِنَ النَّاسِ وَالْذَّوَابِ وَالْأَنْعَامِ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ كَذَلِكَ إِنَّمَا يَخْشَى اللَّهَ
مِنْ عِبَادِهِ الْعُلَمَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَزِيزٌ غَفُورٌ

Artinya : *"Dan demikian (pula) di antara manusia, binatang-binatang melata dan binatang-binatang ternak ada yang bermacam-macam warnanya (dan jenisnya). Sesungguhnya yang takut kepada Allah di antara hamba-hamba-Nya, hanyalah ulama. Sesungguhnya Allah Maha Perkasa lagi Maha Pengampun "*.

Ungkapan ayat Al-Qur'an diatas menggambarkan adanya keragaman dan variasi pada makhluk hidup. Keragaman ini muncul karena adanya zat yang sangat kecil yang disebut dengan gen.

D. Kajian Penelitian yang Relevan

Beberapa penelitian terdahulu yang relevan dengan penelitian ini yaitu disajikan pada tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Kajian penelitian yang relevan

Penulis, Tahun	Judul	Metode	Hasil/Kesimpulan	Perbedaan Penelitian
R. Widayanti, <i>et al.</i> , (2015)	Identifikasi keragaman genetik gen 12S ribosom RNA sebagai penanda genetik untuk penentuan spesies kuskus.	Identifikasi keragaman genetik menggunakan metode sekuensing gen 12SrRNA.	Keragaman sekuen nukleotida gen 12SrRNA pada kuskus dapat berfungsi penanda genetik yang membedakan kuskus asal Sulawesi, papua, dan Maluku.	Penelitian ini fokus pada gen <i>Cytochrome b</i> , berbeda dengan Widayanti <i>et al.</i> (2015) menggunakan Gen 12SrRNA
Wirdateti., <i>et al.</i> , (2016)	Analisis Sekuen DNA Mitokondria Cytochrome	Analisis sekuen mtDNA menggunakan	Gen CO1 dapat digunakan sebagai penanda pembeda antar spesies kukang di	Penelitian ini berfokus pada hubungan kekerabatan sedangkan penelitian Wirdateti

	Oxidase I (CO1) mtDNA Pada Kukang Indonesia (<i>Nycticebus spp</i>) sebagai Penanda Guna Pengembangan Identifikasi Spesies	Cytochrome Oxidase I (CO1).	Indonesia dengan mempertimbangkan variasi nukleotida, presentase jarak genetik tapi tidak dari asam amino. Parameter ini juga dapat memberikan indikasi tentang tingkat keragaman dan status kukang.	<i>et al.</i> , (2016) berfokus pada identifikasi spesies, selain itu penelitian ini menggunakan CO1 pada hewan kukang..
R. Nugraha & A.H., Mustari, (2017)	Karakteristik Habitat dan Jenis Pakan Kuskus Beruang (<i>Ailurops ursinus</i>) di Suaka Margasatwa Tanjung Peropa, Sulawesi Tenggara	Identifikasi habitat menggunakan analisis vegetasi, jenis pakan menggunakan pengamatan langsung dan tidak langsung,	Habitat kuskus di Suakan Margasatwa Tanjung Peropa pada 38-310 m dpl, dan terdapat 80 jenis tumbuhan sebagai sumber pakan.	Penelitian ini berfokus pada karakter genetik pada kuskus, sedangkan penelitian Nugraha & Mustari (2017) berfokus pada karakter habitat dan jenis pakan.

		aktivitas harian menggunakan <i>ad-libitum sampling</i> .		
Wirdateti <i>et al.</i> , (2013)	Identifikasi Trenggiling (<i>Manis javanica</i>) Menggunakan Penanda <i>Cytochrome B</i> Mitokondria DNA	Identifikasi spesies menggunakan gen <i>Cytochrome B</i> pada mtDNA	Hasil menunjukkan haplotipe trenggiling cukup tinggi, namun jarak genetik antar individu rendah. Secara keseluruhan mutasi genetik yang terjadi didominasi oleh perubahan dari basa guanin ke adenin. Meskipun demikian, hasil masih belum dapat dipastikan karena ketidakpastian asal sampel.	Penelitian ini fokus pada hubungan kekerabatan sebagai upaya konservasi sedangkan pada penelitian Wirdateti <i>et al.</i> , (2013) berfokus pada profil genetik dalam penentuan asal usul satwa, selain itu hewan yang digunakan pada penelitian ini adalah trenggiling (<i>Manis javanica</i>).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2023 sampai dengan Januari 2024, di Laboratorium Genetik, Pusat Riset Biosistemika dan Evolusi, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Bogor.

B. Metode

1. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian berasal dari koleksi mamalia di Laboratorium Pengelolaan Satwa Liar dan *Museum Zoologicum Bogoriense* (MZB) sebanyak 21 individu. Dari jumlah keseluruhan sampel tersebut, diketahui 7 sampel berasal dari Sulawesi, 3 sampel berasal dari Papua, 10 sampel berasal dari Maluku, dan 1 sampel berasal dari NTT. Material genetik yang digunakan untuk penelitian terdiri dari darah, kuku, feses, dan rambut serta jaringan (tissue) seperti daging dan hati. Informasi terkait sampel penelitian dan asalnya dapat dilihat pada tabel 3.1 dibawah:

Tabel 3. 1 Sampel penelitian Phalangeridae

No.	Kode Sampel	Nama Latin (berdasarkan morfologi)	Asal	Sampel
1.	MZBR 1209	Un 1	Sulawesi Tengah	Kuku
2.	MZBR 1210	Un 2	Sulawesi Tengah	Feses
3.	MZBR 1211	Un 3	Sulawesi Tengah	Feses
4.	NS 132 (38910)	<i>Phalanger orientalis</i>	Papua	Tissue
5.	NS 133 (38911)	<i>Pseudochirops corinnae</i>	Papua	Tissue
6.	NS 134 (38912)	<i>Phalanger carmelitae</i>	Papua	Tissue
7.	Weda 208 (33267)	<i>Phalanger ornatus</i>	P. Weda, Maluku	Tissue
8.	Weda 297 (33460)	<i>Phalanger ornatus</i>	P. Weda, Maluku	Tissue
9.	Weda 298 (33461)	<i>Phalanger ornatus</i>	P. Weda, Maluku	Tissue
10.	Weda 544 (33462)	<i>Phalanger ornatus</i>	P. Weda, Maluku	Tissue
11.	Kuskus 1 (Evelyn)	Un 4	Sulawesi, Evelin	Rambut
12.	Kuskus 2 (Evelyn)	Un 5	Sulawesi, Evelin	Rambut
13.	Kuskus 3 (Evelyn)	Un 6	Sulawesi, Evelin	Rambut
14.	Kuskus AP 2019	Un 7	Banggai, Sulawesi Tengah	Darah
15.	29552	<i>Phalanger orientalis</i>	Kai Besar Island, Kep. Maluku	Tissue

16.	29553	<i>Phalanger maculatus</i>	Elat, Kai Besar Island, Kep. Maluku	Tissue
17.	33598	Un 8	Moti, Ternate, Maluku Utara	Tissue
18.	29555	<i>Phalanger gymnotis</i>	Karangguli, P. Wokam, Maluku	Tissue
19.	786	<i>Phalanger orientalis</i>	Boero, Leksula, Maluku	Tissue
20.	29573	<i>Phalanger orientalis</i>	Nenas, Nutis Timor, Nusa Tenggara Timor	Tissue
21.	33711	Un 9	Moti, Ternate, Maluku Utara	Tissue

Keterangan :

Un : Unidentified (tidak teridentifikasi)

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari :

a. Alat ekstraksi DNA

Peralatan yang digunakan dalam tahapan ekstraksi DNA meliputi mikropipet *Dragonlab*, mikrotube *Axygen*, label, parafilm, gelas ukur, erlenmeyer, pinset, aluminium foil, plastik wrap, *autoclave vertical floor standing systec V-40* , *laminar air flow (LAF)*, *Eppendorf 5415 D centrifuge*, *shaker rotator Oregon MDR 2800v*, *vortex mixer*, *water bath (Thermo Minder SM 05 R)*, timer, pinset dan gunting, rak mikrotube, sarung tangan, spidol marker, dan timbangan digital *Matrix*.

b. Alat PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Peralatan yang digunakan pada tahapan PCR adalah mikropipet *Dragonlab*, mikrotube *Axygen*, *Eppendorf 5415 D centrifuge*, sarung tangan, *vortex mixer*, spidol marker, thermal cycler atau mesin PCR (ESCO), mesin PCR *Bio-Rad* dan freezer.

c. Alat elektroforesis

Peralatan yang digunakan dalam tahapan elektroforesis diantaranya *Mupid-exu* (bejana elektroforesis), *well forming comb, tray*, mikropipet *Dragonlab* dan mikrotips *Axygen*, parafilm, hotplate *Eyela*, sarung tangan, magnetic stirrer, spatula, UV transmlitor, dan kamera.

3. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi dua yaitu bahan aus (bahan habis pakai) dan bahan kimia.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya:

a. Bahan ekstraksi DNA

Bahan yang digunakan dalam tahapan ekstraksi DNA adalah *Dneasy Blood and Tissue Kit* produk Qiagen. Kit ini mencakup berbagai bahan, seperti Buffer (ATL, AL, AW1,

AW2, AE), *Nuclease Free Water* (NFW), MQ, phenol chloroform, *Extraction buffer*, proteinase-K 10 mg/ml, sodium asetat 3M, etanol absolut, etanol 70%, larutan SDS 10%, mikrotube (1.5 ml, 0.5 ml, 0.2 ml), pipet tip (1000 μ l, 200 μ l, 10 μ l), parafilm, dan gloves.

b. Bahan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Bahan yang digunakan dalam tahap PCR diantaranya Toyobo KOD FX Neo yang terdiri dari dNTPs, Taq polymerase dan Buffer, DNA template dan NFW; Boline MyTaq Red Mix yang terdiri dari *ready mix*, primer, DNA template, dan NFW, primer Forward dan Reverse 2,5M, mikrotube 0,2 ml, pipet tip (1000 μ l, 200 μ l, 10 μ l), gloves, dan parafilm.

c. Bahan Elektroforesis

Bahan yang digunakan pada proses Elektroforesis mencakup gel agarose, 1X TAE, florosafe DNA stain, loading dye dan marker 100bp.

4. Cara Kerja

a. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan untuk memperoleh total DNA dari hewan kuskus. Metode ekstraksi DNA total bervariasi tergantung pada jenis sampel yang digunakan, dapat dilakukan dengan menggunakan metode Phenol Chloroform atau menggunakan kit seperti produk Qiagen.

1) Ekstraksi Menggunakan Phenol Chloroform

Penggunaan phenol chloroform (Wirdateti *et al.*, 2004; Sambruk *et al.*, 1989) diterapkan pada sampel yang menunjukkan kesulitan dalam proses ekstraksi seperti rambut, *dry specimen*, kuku, dll. Sampel yang akan di ekstrasi perlu dilakukan pencucian terlebih dahulu, hal ini dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan bahan pengawet seperti formalin, arsenik, dan alkohol yang digunakan di dalam pengawetan sampel material genetik.

Tahapan proses ekstraksi menggunakan Phenol Chloroform melibatkan beberapa langkah yang perlu dilakukan. Sampel sebanyak 25-50 mg disiapkan terlebih dahulu dan kemudian dipotong sebelum dipindahkan kedalam tube. Selanjutnya, sampel tersebut dicuci dengan etanol kemudian dibilas dengan air (MQ), lalu dikeringkan pada suhu kamar.

Setelah sampel dikeringkan, langkah berikutnya adalah memotong sampel menjadi kecil-kecil sampai halus seperti tepung. Selanjutnya, larutan *Extraction Buffer* sebanyak 500 μ l ditambahkan, bersama dengan SDS 10% sebanyak 20 μ l, Proteinase K 10 mg/ μ l sebanyak 20-25 μ l dan homogenkan sampel dengan vortex. Proses selanjutnya adalah inkubasi

dalam suhu 56-58°C semalaman atau sampai hancur (cairan terlihat jernih).

Kemudian, phenol chloroform sebanyak 600 µl ditambahkan ke dalam tube berisi sampel, proses homogenisasi dilakukan dengan meletakkan di *shaker rotator MDR 2800v* selama 20 menit. Setelah itu, sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 14.000 rpm selama 15 menit. Supernatant diambil dan dipindahkan ke dalam tube baru.

Langkah berikutnya melibatkan penambahan kembali phenol chloroform sebanyak 600 µl ke dalam tube baru yang berisi supernatant. Proses homogenisasi dilakukan dengan menggunakan *shaker rotator MDR 2800v* selama 20 menit. Setelah itu, sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 14.000 rpm selama 15 menit. Supernatant diambil dan dipindahkan ke dalam tube baru.

Ethanol absolut sebanyak 2,5 dikali volume larutan ditambahkan kedalam tube baru, bersama dengan 3M Na Asetat sebanyak 10% dari volume larutan. Homogenisasi dilakukan secara perlahan. Jika konsentrasi DNA tinggi, akan muncul bentuk seperti kapas putih (pellet). Selanjutnya, sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Jika diperoleh DNA, maka bisa langsung dibuang supernatantnya. Apabila tidak diperoleh pellet (DNA), larutan didinginkan di freezer selama 2 jam atau semalaman untuk

mengendapkan DNA. Supernatant dibuang, kemudian ditambahkan 300 μ l ethanol 70%, dan dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Ethanol dibuang, dan pellet dikeringkan pada suhu kamar atau dengan *clean bench* selama dua jam, setelah itu ditambahkan NFW sebanyak :

- Jika jumlah pellet sekitar 20 μ l, tambahkan 200 μ l
- Jika jumlah pellet sekitar 10 μ l, tambahkan 100 μ l
- Jika tidak terlihat pellet, tambahkan 30 μ l

Setelah itu vortex sebentar kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit.

Untuk visualisasi hasil ekstraksi DNA, langkah yang diambil selanjutnya adalah elektroforesis. Keberadaan DNA dalam sampel dapat dipastikan jika terlihat pola *Band* pada elektroforesis

2) Ekstraksi Menggunakan Kit (Qiagen)

Dalam penelitian ini, DNA total dari sampel diekstraksi menggunakan *Dneasy Blood and Tissue Kit* produk Qiagen sesuai dengan prosedur manufaktur.

Tahapan ekstraksi menggunakan Qiagen kit dilakukan sebagai berikut: Langkah pertama, sampel berupa jaringan sebanyak 25 mg dipotong menjadi potongan kecil, dan dimasukkan ke tube 1,5 ml. sebelum ditambahkan protein juga ditambahkan lysis buffer ATL kemudian vortex,

proteinase K sebanyak 20 µl ditambahkan, lalu dilakukan pengadukan (vortex) dan inkubasi pada suhu 56°C hingga lisis sempurna. Vortex dilakukan sesekali selama inkubasi kemudian divortex lagi selama 15 detik.

Pada sampel darah, proteinase K sebanyak 20 µl dipipet ke dalam tube 1,5 ml, dan ditambahkan 5-10 µl darah yang diberi antikoagulan. Volume diatur hingga mencapai 220 µl. Selanjutnya, ditambahkan 200 µl Buffer AL, divortex, dan inkubasi pada suhu 56°C selama 10 menit. Setelah itu, ditambahkan 200 µl ethanol (96-100%) dan divortex. Campuran sebanyak 500 µl kemudian dipipet ke dalam kolom spin *Dneasy* mini, ditempatkan dalam penampung 2 ml, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit, dan tube penampung dibuang.

Kemudian, campuran ditempatkan ke kolom spin 2 ml baru, ditambahkan 500 µl Buffer AW1, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit, dan tube penampung dibuang. Selanjutnya, campuran dipindahkan ke dalam kolom spin 2 ml baru, ditambahkan 500 µl Buffer AW2, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 14000 rpm selama 3 menit, dan tube penampung dibuang.

Langkah berikutnya adalah memindahkan campuran ke kolom spin tube mikrosentrifugasi 1,5 ml yang baru, ditambahkan 200 µl Buffer AE ke tengah membran kolom

spin, dilakukan inkubasi selama 1 menit pada suhu ruang (15-25°C). Dan selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit.

Untuk mengetahui hasil ekstraksi DNA, langkah yang diambil selanjutnya adalah elektroforesis. Keberadaan DNA dalam sampel dapat dipastikan jika terlihat pola *Band* pada elektroforesis

b. Amplifikasi DNA Menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Amplifikasi DNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* bertujuan untuk memperbanyak jumlah DNA dengan melakukan replikasi (penggandaan) DNA target. Sampel *Phalanger* diamplifikasi dengan PCR menggunakan gen *Cyt-b* mtDNA. Proses amplifikasi PCR ini menggunakan sepasang primer universal *Cytochrome b* L 14724 dan H 15149 yang memiliki urutan nukleotida sebagai berikut: *forward*, 5'-GCCCTCAGAATGATATTTGTCCTC-A-3 dan *reverse*, 5'-CGAA GCTTGATATGAAAAACCATCGTTG-3, panjang produk PCR yang diharapkan adalah 500 bp (Wiradateti et al. 2013; Kotcher et al. 1989). Dan sepasang primer spesifik kuskus yang dirancang berdasarkan sekuen yang terdapat di *National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) dengan kode akses MT123565.1 yang memiliki urutan *forward* 5'-CCATAACCTATGGCATGAAAA-3 dan *reverse* 5'-

GGACCCTTAGTTTGGGTTTGA-3 dengan target produk yang diinginkan adalah sekitar 800 bp. Pada penelitian ini menggunakan Toyobo KOD FX Neo dan Bioline MyTaq Red Mix.

Tahapan PCR melibatkan serangkaian langkah. Pertama-tama, sampel yang telah diurutkan disiapkan terlebih dahulu. Kemudian, tube PCR 0,2 ml disiapkan dan diberi label, atau dapat dituliskan menggunakan pulpen permanent pada tutup tubenya. Volume PCR dibentuk sebanyak 30 μ l menggunakan PCR kit Toyobo KOD FX Neo, dan Bioline My Taq. Untuk Toyobo KOD FX Neo, larutan PCR sebanyak 30 μ l disiapkan, terdiri dari Buffer PCR 15 μ l, 2.5M primer Forward and reverse sebanyak 3 μ l, 2.5 dNTP 3 μ l, DNA template 2 μ l, Taq Polymerase 0.6 μ l, dan ditambahkan water atau MQ sampai 30 μ l. Sementara itu, untuk Bioline MyTaq Red Mix, sebanyak 30 μ l terdiri dari 15 μ l *ready mix*, 2.5M primer *forward* dan *reverse* masing-masing 3 μ l dan terakhir NFW ditambahkan sampai volume 30 μ l.

Selanjutnya, larutan PCR mix divortex sebentar dengan memastikan tidak ada gelembung udara pada larutan didalam tube. Running larutan PCR mengikuti kondisi PCR sesuai protokol untuk gen Cytochrome b seperti pada Tabel 3.2

Tabel 3. 2 *Setting* Program PCR Primer *Cyt-b*

	Proses	Suhu (°C)	Waktu (Menit)	Siklus
1.	Pra denaturasi	95	5	1
2.	denaturasi	95	30 s	40
3.	<i>Annealing</i>	53	30 s	40
4.	<i>Extension</i>	72	1	40
5.	<i>Final extension</i>	72	5	1
6.	Hold	4	10	∞

Amplifikasi *Cytochrome b* dilakukan dengan kondisi PCR sebagai berikut: denaturasi awal selama 5 menit pada suhu 95°C selanjutnya, diikuti dengan denaturasi 95°C selama 30 detik, 53°C selama 30 detik untuk fase penempelan primer (annealing), 72°C selama satu menit untuk pemanjangan (elongation). Amplifikasi dilakukan sebanyak 40 siklus kemudian diakhiri *post elongation* selama 5 menit pada suhu 72°C. Kemudian diimigrasikan melalui gel elektroforesis dengan konsentrasi 1,2%.

Setelah itu masukkan sampel tube penelitian ke *Thermal cycler machine* dan jalankan mesin tersebut dengan menekan *start*.

c. Elektroforesis

Elektroforesis yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan Mupid-exu sebagai wadah elektroforesis.

Tujuannya adalah untuk memvisualisasikan fragmen DNA dengan menggunakan gel, loading dye, dan template DNA.

Tahapan pembuatan gel dimulai dengan persiapan pencetak sumur pada cetakan gel. Untuk visualisasi DNA digunakan konsentrasi agarose gel 1.2% sebanyak 1,2 gram + TAE 100 ml, kemudian dituangkan pada erlenmeyer 250 ml, setelah itu, dimasukkan magnetic stirrer dan ditempatkan diatas hotplate. Tunggu sampai cairan menjadi bening, dan setelah bening, tambahkan florosafe DNA stain sebanyak 10 μ l. larutan gel dituangkan pada cetakan gel, dan tunggu hingga memadat.

Proses elektroforesis melibatkan beberapa langkah. Pertama, tray yang berisi gel agarose diletakkan di dalam tank elektroforesis (mupid), dan larutan 1 x buffer TAE dituangkan ke dalam tank hingga mencapai sekitar 1 mm di atas permukaan gel. Sampel diambil dengan pipet sebanyak kapasitas sumur (well) $\pm$ 4 μ l, lalu diletakkan di atas parafilm atau plastik steril dan ditambahkan loading dye buffer sebanyak 1 μ l, kemudian diaduk hingga merata menggunakan pipet, lalu larutan tersebut di masukkan dalam sumur (well) pada gel agarose, selanjutnya, tank elektroforesis ditutup dan arus listrik dihubungkan (hati-hati tegangan listrik cukup tinggi), sumber arus dinyalakan pada 100 volt selama 20 menit. Setelah proses elektroforesis selesai, arus listrik

dimatikan dan tray diambil dengan menggunakan sarung tangan (glove), kemudian gel direndam dalam larutan flourosave DNA selama 15 menit.

Untuk visualisasi DNA menggunakan kamera di UV transmlator. DNA akan muncul berupa band atau pita.

d. Sekuensing

Proses sekuensing dilakukan di Firstbase Singapore. Primer yang digunakan dalam sekuensing ini adalah primer yang sama dengan yang digunakan dalam PCR, namun pada sampel yang menggunakan primer universal hanya digunakan primer *forward* saja.

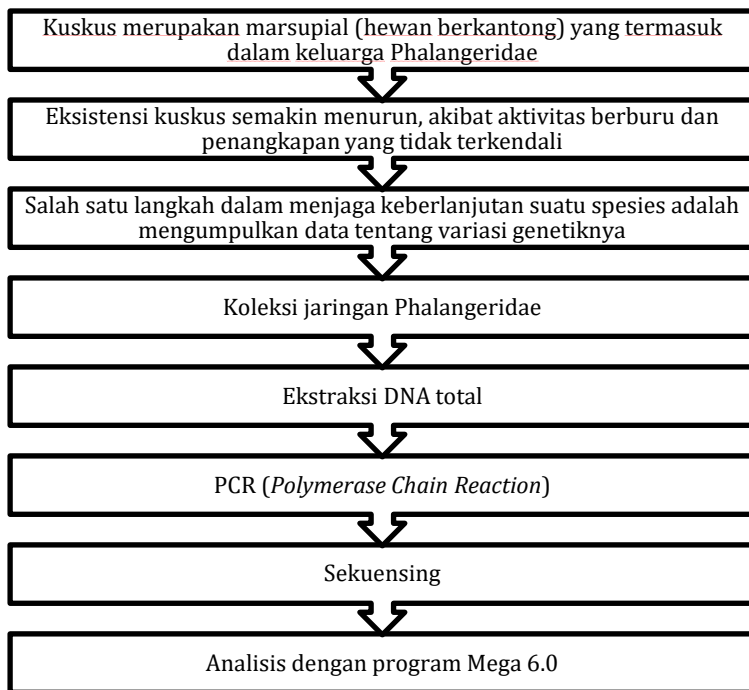
Metode sekuensing yang diterapkan adalah metode *Sanger*, yang melibatkan penggunaan DNA template dan membutuhkan primer spesifik untuk reaksi sekuensing. Panjang sekuens yang dihasilkan berkisar antara 420 sampai 1.200 bp tergantung primer yang digunakan (Tasma, 2015).

e. Analisis dengan Program MEGA 11.0

Hasil dari sekuensing selanjutnya diedit dan diurutkan dengan menggunakan aplikasi Bioedit v. 5.0.6 (Hall, 2001) Penjajaran sekuen dilakukan dengan Clustal X version 1.82 software (Thompson *et al.* 1997), kemudian sekuen Phalangeridae dilakukan Blast dengan data pembanding yang diambil dari NCBI (*National Centre for Biotechnology*

Information). Kemudian data dianalisa dengan menggunakan MEGA version 11.0 (Tamura *et al.* 2013) berdasarkan Kimura-2 parameter. Beberapa parameter yang diamati yaitu : jarak genetik (d), keragaman nukleotida (π), pohon filogeni berdasarkan *Maximum Likelihood* diuji dengan metode *Bootstrap* sebanyak 5000 kali ulangan (Saitou & Nei. 1987).

C. Kerangka Penelitian



Gambar 2. 10 Kerangka Berfikir

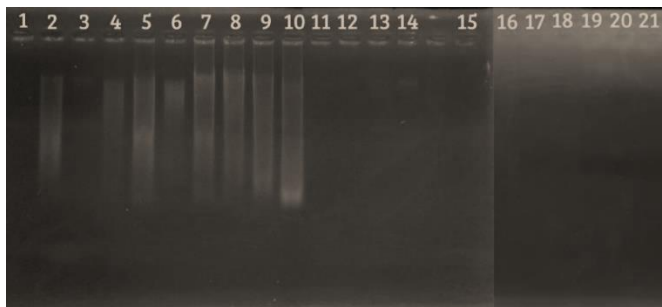
BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Hasil Penelitian

1. Isolasi DNA Genom Kuskus (*Phalangeridae*)

Ekstraksi DNA merupakan serangkaian langkah untuk mengisolasi DNA dari unsur-unsur sel lainnya (Sambrook & Russell, 2001 dalam Ariyanti & Sianturi, 2019). Berhasilnya ekstraksi DNA dapat diketahui melalui visualisasi pada gel agarose saat proses elektroforesis. Elektroforesis dilakukan selain untuk memunculkan fragment DNA berupa band (pita) putih dari hasil ekstraksi ataupun PCR juga menentukan ukuran dari DNA yang dihasilkan. Fragment DNA muncul setelah perendaman dalam larutan flourosave, apabila flourosave tidak langsung pada gel. Visualisasi hasil ekstraksi DNA total sampel penelitian pada gel agarose elektroforesis dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Hasil visualisasi gel agarose ekstraksi DNA

Keterangan :

1 = MZBR 1209; 2 = MZBR 1210; 3 = MZBR 1211; 4 = NS 132; 5 = NS 133; 6 = NS 134; 7 = Weda 208; 8 = Weda 297; 9 = Weda 298; 10 = Weda 544; 11 = Kuskus 1; 12 = Kuskus 2; 13 = Kuskus 3; 14 = Kuskus AP 2019; 15 = 29573; 16 = 29552; 17 = 29553; 18 = 33598; 19 = 29555; 20 = 786; 21 = 33711

Penelitian dilakukan menggunakan 21 sampel dari spesies famili Phalangeridae. Pada 21 sampel tersebut memperlihatkan 10 sampel yaitu pada nomor 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, dan 14, mempunyai konsentrasi DNA cukup tinggi yang ditunjukkan dengan adanya pita putih pada gel dengan sedikit *smear*, sedangkan 11 sampel dengan nomor 1, 3, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 memperlihatkan konsentrasi DNA rendah yang ditunjukkan dengan pita tipis pada gel.

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan Phenol Chloroform dan *Dneasy Blood and Tissue Kit* produk Qiagen seperti yang ditampilkan pada Tabel 4.1

Tabel 4. 1 Data sampel hasil ekstraksi

No.	Kode Sampel	Sampel	Ekstraksi		Hasil Band (Pita)
			Phenol Chloro-form	Qiagen Kit	
1.	MZBR 1209	Kuku	√		Tipis
2.	MZBR 1210	Feses	√		Smear
3.	MZBR 1211	Feses	√		Jelas
4.	NS 132 (38910)	Tissue		√	Smear
5.	NS 133 (38911)	Tissue		√	Smear
6.	NS 134 (38912)	Tissue		√	Smear
7.	Weda 208 (33267)	Tissue		√	Smear
8.	Weda 297 (33460)	Tissue		√	Smear
9.	Weda 298 (33461)	Tissue		√	Smear
10.	Weda 544 (33462)	Tissue		√	Smear
11.	Kuskus 1 (Evelyn)	Rambut		√	Tipis
12.	Kuskus 2 (Evelyn)	Rambut		√	Tipis
13.	Kuskus 3 (Evelyn)	Rambut		√	Tipis
14.	Kuskus AP 2019	Darah		√	Jelas
15.	29552	Tissue		√	Tipis
16.	29553	Tissue		√	Tipis
17.	33598	Tissue		√	Tipis
18.	29555	Tissue		√	Tipis
19.	786	Tissue		√	Tipis
20.	29573	Tissue		√	Tipis
21.	33711	Tissue		√	Tipis

2. Amplifikasi DNA Gen *Cytochrome b* dengan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Langkah berikutnya adalah amplifikasi DNA dengan marker yang digunakan yaitu gen *Cytochrome b* mitokondria (Cyt-b mtDNA) teknik PCR, dengan menggunakan primer universal dan primer spesifik untuk hewan kuskus.

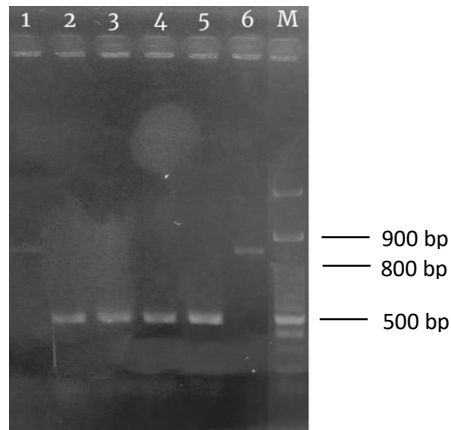
Tabel 4. 2 Data primer PCR

No.	Sampel	Hasil PCR		Primer yang digunakan untuk analisis
		Primer Universal	Primer Spesifik Kuskus	
1.	MZBR 1209	√		Universal
2.	MZBR 1210	√	√	Kuskus
3.	MZBR 1211	√	√	Kuskus
4.	NS 132 (38910)	√	√	Kuskus
5.	NS 133 (38911)	√	√	Kuskus
6.	NS 134 (38912)	√		Universal
7.	Weda 208 (33267)	√		Universal
8.	Weda 297 (33460)	√		Universal
9.	Weda 298 (33461)	√		Universal
10.	Weda 544 (33462)	√	√	Kuskus
11.	Kuskus 1 (Evelyn)		√	Kuskus
12.	Kuskus 2 (Evelyn)		√	Kuskus
13.	Kuskus 3 (Evelyn)		√	Kuskus
14.	Kuskus AP 2019	√		Universal
15.	29552		√	Kuskus
16.	29553	√	√	Kuskus
17.	33598	√	√	Kuskus
18.	29555		√	Kuskus
19.	786	√	√	Kuskus
20.	29573		√	Kuskus
21.	33711		√	Kuskus

Dari tabel 4.2 diketahui bahwa beberapa sampel telah diproses menggunakan PCR dengan dua primer yang berbeda, yakni primer universal dan primer spesifik kuskus. Namun, hasil terbaik dari kedua proses tersebut dipilih untuk analisis lebih lanjut.

Hasil PCR diimigrasikan melalui gel elektroforesis 1,2% yang ditampilkan pada gambar 4.2 dan 4.3. migrasi pada gel

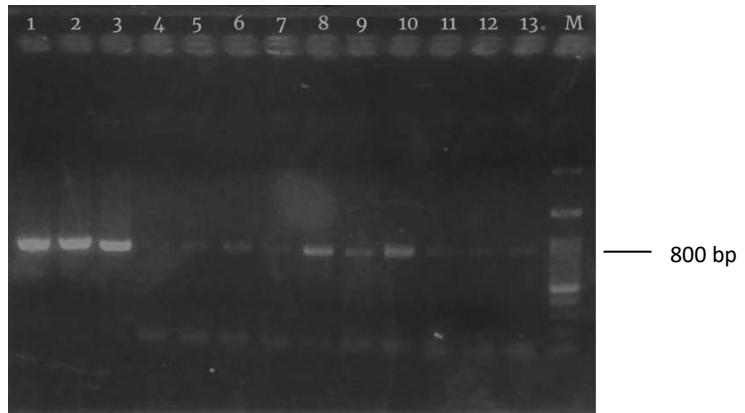
elektroforesis menunjukkan hasil amplifikasi berupa pita yang terlihat pada gambar 4.2 dan 4.3. dengan menggunakan marker 100 bp, dapat diketahui panjang amplifikasi PCR dengan menggunakan primer universal adalah sekitar 500 bp, dan primer spesifik kuskus sekitar 800 bp.



Gambar 4. 2 Hasil amplifikasi gen *Cyt-b* dengan primer universal

Keterangan :

1= MZBR 1209; 2= NS 134; 3= Weda 208; 4= Weda 297; 5= Weda 298;
6= Kuskus AP 2019; M= Marker 100bp.



Gambar 4. 3 Hasil amplifikasi gen *Cytochrome b* dengan menggunakan primer spesifik kuskus

Keterangan :

1= MZBR 1210; 2= NS 132; 3= NS 133; 4= Kuskus 1; 5= Kuskus 2; 6= Kuskus 3; 7= 29552; 8= 29553; 9= 33598; 10= 29555; 11= 786; 12= 29573; 13= 33711; M= Marker 100bp.

3. Analisis Hasil Sekuen Gen *Cyt-b* Phalangeridae

Sekuensing merupakan langkah terakhir dalam menentukan urutan fragmen nukleotida hasil dari amplifikasi dengan menggunakan PCR. Sekuensing DNA kuskus dilakukan pada gen *Cytochrome b* mtDNA dengan menggunakan primer yang sama pada saat proses PCR. Sekuensing dilakukan di Firstbase Singapore.

Tabel 4. 3 *Query cover* dan *Ident* sampel

No	Kode Sampel (Sekuensing)	Nama Latin	Primer	Query cover	Per. Ident	Panjang nukleotida (bp)
1.	001 (MZBR 1209)	<i>Homo sapiens</i> (MK967512.1)	14724 (F)	96%	99.66%	850 bp
2.	002 (NS 134)	<i>Phalanger vestitus</i> (NC_008137.1)	14724 (F)	93%	95.35%	500 bp
3.	003 (Weda 208)	<i>Phalanger orientalis</i> (MN380215.1)	14724 (F)	93%	87.02%	500 bp
4.	004 (Weda 297)	<i>Phalanger orientalis</i> (MN380215.1)	14724 (F)	91%	87.12%	500 bp
5.	005 (Weda 298)	<i>Phalanger orientalis</i> (MN380215.1)	14724 (F)	92%	87.12%	500 bp
6.	006 (Kuskus AP 2019)	<i>Homo sapiens</i> (MK128874.1)	14724 (F)	95%	99.48%	850 bp
7.	007 (MZBR 1210)	<i>Phalanger gymnotis</i> (KJ868142.1)	Kuskus (F)	94%	94.63%	800 bp
8.	008 (MZBR 1211)	<i>Phalanger gymnotis</i> (KJ868142.1)	Kuskus (F)	94%	94.63%	800 bp
9.	009 (NS 132)	<i>Phalanger gymnotis</i> (KJ868142.1)	Kuskus (F)	96%	94.95%	800 bp
10.	010 (NS 133)	<i>Pseudochirops albertisii</i> (KJ868151.1)	Kuskus (F)	98%	82.99%	800 bp
11.	011 (Weda 544)	<i>Pseudochirops albertisii</i> (KJ868151.1)	Kuskus (F)	86%	81.22%	800 bp
12.	012 (Kuskus 1)	<i>Phalanger gymnotis</i> (KJ868142.1)	Kuskus (F)	81%	92.92%	800 bp

13.	013 (Kuskus 2)	<i>Phalanger gymnotis</i> (KJ868142.1)	Kuskus (F)	75%	92.85%	800 bp
14.	014 (Kuskus 3)	<i>Phalanger gymnotis</i> (KJ868142.1)	Kuskus (F)	81%	91.81%	800 bp
15.	015 (29552)	<i>Phalanger gymnotis</i> (KJ868142.1)	Kuskus (F)	68%	91.49%	800 bp
16.	016 (29553)	<i>Pseudochirops albertisii</i> (KJ868151.1)	Kuskus (F)	86%	81.96%	800 bp
17.	017 (33598)	<i>Pseudochirops albertisii</i> (KJ868151.1)	Kuskus (F)	56%	80.44%	800 bp
18.	018 (786)	<i>Hipposideros bicolor</i> (DQ054808.1)	Kuskus (F)	59%	74.51%	800 bp
19.	019 (29555)	<i>Phalanger gymnotis</i> (KJ868142.1)	Kuskus (F)	85%	91.94%	800 bp
20.	020 (29573)	<i>Phalanger gymnotis</i> (KJ868142.1)	Kuskus (F)	75%	91.33%	800 bp
21.	021 (33711)	<i>Phalanger gymnotis</i> (KJ868142.1)	Kuskus (F)	81%	92.22%	800 bp

Sampel 003 memiliki *query cover* 93% dan ident 87.02% dengan *Phalanger orientalis* (MN380215.1). Sampel 004 memiliki *query cover* 91% dan ident 87.12% dengan *Phalanger orientalis* (MN380215.1). Sampel 005 memiliki *query cover* 92% dan ident 87.12% dengan *Phalanger orientalis* (MN380215.1). Sampel 007 dan 008 memiliki *query*

cover 86% dan ident 94,17% dengan *Phalanger gymnotis* (KJ868142.1). Sampel 009 memiliki *query cover* 96% dan ident 94.95% dengan *Phalanger gymnotis* (KJ868142.1). Sampel 010 memiliki *query cover* 98% dan ident 82.99% dengan *Pseudochirops albertisii* (KJ868151.1). Sampel 011 memiliki *query cover* 86% dan ident 81.22% dengan *Pseudochirops albertisii* (KJ868151.1). Sampel 012 memiliki *query cover* 81% dan ident 92.92% dengan *Phalanger gymnotis* (KJ868142.1). Sampel 013 memiliki *query cover* 75% dan ident 92.85% dengan *Phalanger gymnotis* (KJ868142.1). Sampel 014 memiliki *query cover* 81% dan ident 91.81% dengan *Phalanger gymnotis* (KJ868142.1). Sampel 015 memiliki *query cover* 68% dan ident 91.49% dengan *Phalanger gymnotis* (KJ868142.1). Sampel 016 memiliki *query cover* 86% dan ident 81.96% dengan *Pseudochirops albertisii* (KJ868151.1). Sampel 017 memiliki *query cover* 56% dan ident 80.44% dengan *Pseudochirops albertisii* (KJ868151.1). Sampel 019 memiliki *query cover* 85% dan ident 91.94% dengan *Phalanger gymnotis* (KJ868142.1). Sampel 020 memiliki *query cover* 75% dan ident 91.33% dengan *Phalanger gymnotis* (KJ868142.1). Sampel 021 memiliki *query cover* 81% dan ident 92.22% dengan *Phalanger gymnotis* (KJ868142.1).

Dari hasil analisa similarity sekuen pada tabel 4.3 diatas, dua sampel yaitu 001 dan 006 adalah kontaminasi DNA manusia, sehingga kedua sampel tersebut tidak dianalisis dan diabaikan.

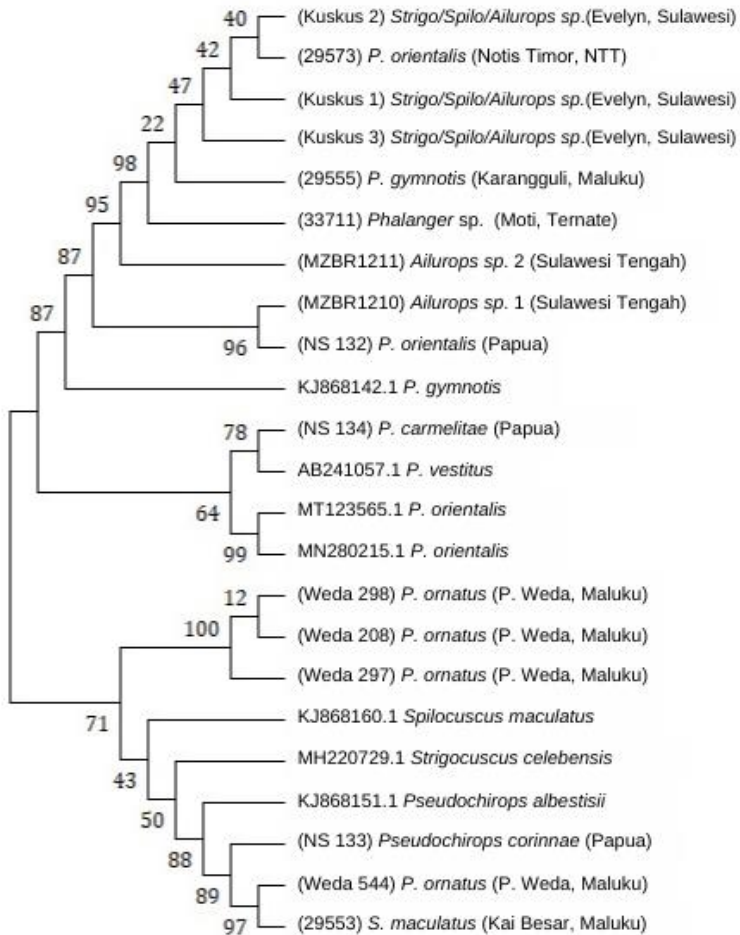
Analisis hasil menggunakan MEGA versi 6.0 (Tamura et al. 2013). Jarak genetik dianalisis dengan metode kimura 2 parameter tersaji pada tabel 4.5. Pohon filogenetik dianalisis berdasarkan sekuen nukleotida dengan metode *Maximum Likelihood* dan kimura 2 parameter dengan nilai *bootstrap* 5000 kali pengulangan tersaji pada gambar 4.4. Spesies yang digunakan sebagai pembanding diambil dari data *GenBank*. Berikut merupakan data sekuen dari *GenBank*.

Tabel 4. 4 Sekuen dari *GenBank* NCBI

No.	Nama Spesies	Kode Akses	Keterangan
1.	<i>P. orientalis</i>	MT123565.1	Kuskus coklat
2.	<i>P. orientalis</i>	MN380215.1	Kuskus coklat
3.	<i>P. vestitus</i>	AB241057.1	Kuskus stein
4.	<i>P. gymnotis</i>	KJ868142.1	Kuskus kelabu
5.	<i>S. maculatus</i>	KJ868160.1	Kuskus tutul
6.	<i>S. celebensis</i>	MH220729.1	Kuskus kerdil
7.	<i>Pseudochirops albertissi</i> (outgroup)	KJ868151.1	Mandorman yapen

Tabel 4. 5 Jarak Genetik sekuen gen *cyt-b* kuskus antar spesies dalam populasi (Phalangeridae)

No.	Sampel	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	<i>Strigocuscus sp 3</i> (Kuskus 3)															
2	<i>Phalanger orientalis</i> (29573)	0,173														
3	<i>Strigocuscus sp 1</i> (Kuskus 1)	0,077	0,146													
4	<i>Strigocuscus sp 2</i> (Kuskus 2)	0,129	0,173	0,088												
5	<i>Phalanger sp</i> (33711)	0,130	0,186	0,116	0,118											
6	<i>Phalanger gymnotis</i> (29555)	0,101	0,151	0,079	0,114	0,100										
7	<i>Ailurops sp 2</i> (MZBR1211)	0,093	0,172	0,094	0,125	0,100	0,067									
8	<i>Phalanger ornatus</i> (Weda 544)	0,323	0,402	0,331	0,345	0,305	0,295	0,254								
9	<i>Spilocuscus maculatus</i> (29553)	0,355	0,440	0,359	0,382	0,348	0,323	0,266	0,074							
10	<i>Ailurops sp 1</i> (MZBR 1210)	0,291	0,407	0,283	0,335	0,286	0,237	0,162	0,423	0,412						
11	<i>Phalanger orientalis</i> (NS 132)	0,267	0,377	0,260	0,307	0,263	0,218	0,149	0,423	0,404	0,003					
12	<i>Phalanger ornatus</i> (Weda 208)	0,386	0,510	0,396	0,447	0,386	0,340	0,297	0,417	0,396	0,157	0,157				
13	<i>Phalanger ornatus</i> (Weda 297)	0,390	0,515	0,400	0,447	0,390	0,340	0,297	0,417	0,396	0,160	0,160	0,002			
14	<i>Phalanger ornatus</i> (Weda 298)	0,390	0,515	0,400	0,451	0,390	0,343	0,293	0,413	0,392	0,160	0,160	0,002	0,005		
15	<i>Phalanger carmelitae</i> (NS 134)	0,335	0,448	0,331	0,374	0,331	0,301	0,241	0,391	0,391	0,098	0,095	0,141	0,143	0,143	



Gambar 4. 4 Rekontruksi pohon filogeni dengan metode *maximum likelihood* dan Kimura 2-parameter menggunakan nilai bootstrap 5000x pengulangan

4. Variasi Genetik DNA Kuskus dan Keragaman Nukleotida

Karakterisasi dilakukan pada sampel kuskus dan sekuen data pembandingan dari NCBI untuk mengetahui komposisi nukleotida masing-masing sekuen. Sekuen sampel kuskus hasil analisis BLAST menunjukkan variasi persentase komposisi nukleotida. Komposisi nukleotida sekuen kuskus tersaji pada tabel 4.6.

Tabel 4. 6 Persentase komposisi sekuen nukleotida

No.	Sampel	Komposisi Nukleotida				Total
		T	C	A	G	
1.	MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	26,4	28,9	32,2	12,4	363,0
2.	KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	24,8	30,1	32,1	13,0	439,0
3.	Kuskus 3 <i>Strigocuscus/Spilocuscus/Ailurops</i>	28,2	23,4	28,2	20,1	432,0
4.	33711 <i>Phalanger sp.</i>	26,5	24,9	28,1	20,5	434,0
5.	Kuskus 2 <i>Strigocuscus/Spilocuscus/Ailurops</i>	27,0	25,2	27,5	20,3	429,0
6.	Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	29,4	27,3	28,7	14,6	439,0
7.	NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	24,4	30,1	31,1	14,4	438,0
8.	29573 <i>Phalanger orientalis</i>	27,6	24,6	25,7	22,1	435,0
9.	Kuskus 1 <i>Strigocuscus/Spilocuscus/Ailurops</i>	28,3	24,8	28,5	18,4	435,0
10.	MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	27,6	27,0	28,6	16,8	434,0
11.	Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	27,9	27,0	27,0	18,0	433,0
12.	29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	29,0	26,7	27,9	16,4	434,0

Tabel 4.6 Lanjutan persentase komposisi sekuen nukleotida

13.	29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	27,2	26,5	28,1	18,2	434,0
14.	KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertsii</i>	24,6	33,5	28,9	13,0	439,0
15.	MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	24,6	31,0	30,1	14,4	439,0
16.	Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	29,4	27,1	28,9	14,6	439,0
17.	MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	24,4	30,8	30,8	14,1	439,0
18.	Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	29,4	27,3	28,7	14,6	439,0
19.	KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	26,9	28,0	31,2	13,9	439,0
20.	NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	26,7	28,8	31,9	12,7	386,0
21.	MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	24,9	30,4	30,6	14,2	438,0
22.	AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	24,8	30,8	30,8	13,7	439,0
Rata-rata		26,8	27,9	29,3	15,9	430,7

Dari 16 sampel kuskus *Cyt-b* menghasilkan sebanyak 417 nukleotida. Pada *variable site* ditemukan sebanyak 272 pada jajaran nukleotida. Diantaranya terdapat 208 *parsimony informative site* dan 64 jajaran nukleotida pada *singleton site*. Pada hasil analisis *conserved site*, terdapat 167 dari 417 daerah yang tidak mengalami perubahan.

Berdasarkan urutan nukleotida pembeda dari total 16 sampel kuskus dengan pembandingan dari *GenBank* maka didapatkan perbedaan jarak genetik seperti pada tabel 4.8.

Tabel 4. 7 Variasi Situs Nukleotida

Sampel	Posisi Nukleotida															
	1	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
	A	T	T	C	A	A	A	C	T	A	C	G	C	A	A	
MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	.	A	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	A	.	.	
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	A	C	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	
Kuskus 3 <i>Strigocuscus/Spilocuscus/Ailurops</i>	G	G	A	T	G	.	C	G	.	C	A	A	T	.	T	
33711 <i>Phalanger sp.</i>	G	G	A	T	G	.	C	G	.	C	A	A	T	.	T	
Kuskus 2 <i>Strigocuscus/Spilocuscus/Ailurops</i>	G	G	A	T	G	.	C	G	.	C	A	-	T	.	T	
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	.	A	.	T	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	-	.	T	C	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	G	G	A	T	G	.	C	G	.	C	A	A	T	G	T	
Kuskus 1 <i>Strigocuscus/Spilocuscus/Ailurops</i>	G	G	A	T	G	.	C	G	.	C	A	A	T	.	T	
MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	T	A	C	T	G	.	C	G	.	C	A	-	T	.	T	
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	G	G	C	T	G	.	C	G	A	.	A	-	T	.	T	
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	A	C	.	G	.	C	G	A	C	A	-	T	.	T	
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	G	G	A	T	G	.	C	G	.	C	A	-	T	.	T	

Tabel 4.7 Lanjutan variasi situs nukleotida

Sampel	Posisi Nukleotida														
	1	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	A	T	T	C	A	A	A	C	T	A	C	G	C	A	A
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	A	C	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	A	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	.	A	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	A	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	.	A	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	C
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	A	C	.	.	.	C	T	.	.	.	.	T	.	.
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.

Tabel 4. 8 Matriks perbedaan nukleotida *cyt-b* kuskus famili Phalangeridae

No.	Sampel	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1	MZBR 1210 <i>Ailurops</i> sp. 1																							
2	NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	71																						
3	KJ868160.1 <i>Spilocus maculatus</i>	51	75																					
4	Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	87	139	124																				
5	33711 <i>Phalanger</i> sp.	87	137	122	55																			
6	Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	94	146	132	53	47																		
7	Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	51	76	63	125	127	137																	
8	NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	32	77	63	117	116	125	56																
9	29573 <i>Phalanger orientalis</i>	112	164	146	70	73	66	152	144															
10	Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	84	144	124	34	46	36	126	115	59														
11	MZBR 1211 <i>Ailurops</i> sp. 2	53	133	93	40	40	49	99	87	66	38													
12	Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	117	70	125	109	106	114	133	130	129	111	89												
13	29553 <i>Spilocus maculatus</i>	113	63	123	119	117	125	134	130	139	120	94	30											
14	29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	73	129	114	43	41	46	113	108	62	33	27	101	110										
15	KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	51	65	73	134	132	142	79	75	155	135	101	109	106	119									
16	MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	33	77	57	118	110	121	63	41	138	113	84	129	128	103	74								
17	Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	50	75	62	124	126	136	1	55	151	125	98	132	133	112	78	62							
18	MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	33	77	56	113	108	119	62	38	135	107	79	123	124	99	69	12	61						
19	Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	51	76	63	124	126	136	2	56	151	125	98	132	133	112	79	63	1	62					
20	KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	18	80	57	103	101	107	64	47	126	99	69	134	130	89	68	40	63	40	64				
21	NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	1	77	53	86	86	93	54	33	112	83	52	124	119	72	56	34	53	34	54	18			
22	MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	46	75	54	124	117	127	66	62	144	123	88	126	126	110	64	64	65	62	66	56	47		
23	AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	27	73	60	117	114	123	64	27	139	114	84	126	123	104	66	32	63	31	64	42	27	55	

B. Pembahasan Hasil Penelitian

1. Isolasi DNA Genom Kuskus (*Phalangeridae*)

keberhasilan proses isolasi DNA diketahui dengan melihat keberadaan pita DNA menggunakan metode elektroforesis (Phillips *et al.*, 2012 dalam). Hasil ekstraksi DNA total pada gambar 4.1 menunjukkan hasil DNA kurang bersih karena adanya smear pada pita gel, sementara hasil pita tipis pada gel karena konsentrasi DNA total rendah. Hasil ekstraksi yang kurang bagus dimungkinkan disebabkan sampel uji berasal dari spesimen yang sudah diawetkan dengan bahan kimia. Pada hasil akhir dari proses ekstraksi DNA, seharusnya memperlihatkan garis tunggal yang jelas dan tebal, yang menunjukkan bahwa proses tersebut berjalan dengan baik, namun pada sampel *Phalangeridae* tidak menunjukkan hasil tersebut, karena sampel uji yang digunakan hampir keseluruhan adalah spesimen awetan.

Hasil uji DNA yang baik pada elektroforesis dapat terlihat dari pita DNA yang tebal dan minim atau tidak ada smear saat diamati di bawah sinar UV (Hikmatyar *et al.*, 2015). Smear yang muncul dibagian bawah setiap lajur menandakan adanya kontaminasi RNA. Sauer *et al.* (1998) dalam Hikmatyar *et al.*, (2015) menyatakan bahwa adanya smear atau bayangan pada setiap lajur yang terletak di bagian

paling bawah menunjukkan bahwa DNA telah terkontaminasi oleh RNA.

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan Phenol Chloroform dan *Dneasy Blood and Tissue Kit* produk Qiagen seperti yang ditampilkan pada Tabel 4.1.

Keberhasilan dalam isolasi DNA bisa dilihat berdasarkan pita DNA yang diisolasi, apakah pita tersebut utuh atau terdegradasi (Ismaun *et al.*, 2021). Terdapat beberapa faktor yang menyebabkan sulitnya mendapatkan DNA yaitu umur sampel spesimen yang sudah terlalu lama, sehingga memungkinkan terjadinya kerusakan jaringan DNA.

2. Amplifikasi DNA Gen *Cytochrome b* dengan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Tabel data primer yang digunakan pada saat PCR tercantum dalam tabel 4.2. Pada hasil optimasi PCR kuskus, dilakukan pada beberapa suhu yaitu 50°C, 52°C, 53°C, dan 54°C. Suhu 51°C tidak digunakan karena telah diuji sebelumnya, dan tidak terdapat band saat di elektroforesis. Kemudian hasil menunjukkan bahwa suhu annealing 53°C adalah yang terbaik karena menghasilkan pita yang jelas dan spesifik. Suhu annealing yang optimal untuk PCR didapatkan melalui proses optimasi primer menggunakan PCR gradien pada rentan suhu 50-57°C. Menurut Aulia *et al* (2021) suhu

annealing sangat mempengaruhi keberhasilan amplifikasi, karena proses pemanjangan DNA dimulai dari primer.

Berdasarkan hasil elektroforegram pada gambar 4.2 dan 4.3 dapat diketahui bahwa sampel kuskus menghasilkan elektroforegram yang kurang baik, hal ini dikarenakan hasil pita band tipis dan ada sedikit smear. Penelitian pada sampel kuskus dilakukan sebanyak 19 kali proses PCR. Faktor yang menyebabkan sulitnya mendapatkan DNA target karena beberapa sampel merupakan spesimen basah dan telah berumur puluhan tahun dengan pengawet alkohol dan sebagian kecil formalin, sehingga kemungkinan terjadi degradasi fragmen DNA, hal ini yang menyebabkan DNA tidak tervisualisasi dengan jelas pada saat elektroforesis, dan konsentrasi rendah. Kemudian pada gambar 4.2 terdapat pita tipis pada sekitar 850 bp pada sampel nomor 1 dan 6, dimana nomor 1 dan 6 menggunakan primer universal L 14724 dan H 15915, sedangkan pada nomor 2, 3, 4, dan 5 terdapat pita pada sekitar 500 bp yang menggunakan primer universal L 14724 dan H 15149. Sampel pada sumur 1 dan 6 menunjukkan panjang 850 bp, ini karena sampel terkontaminasi manusia sehingga hasil PCR tidak seperti yang diharapkan.

3. Analisis Hasil Sekuen Gen *Cyt-b* Phalangeridae

Amplifikasi gen *Cyt b* sebanyak 4 sampel sepanjang 500 bp menggunakan primer universal L 14724 dan H 15149, 12 sampel sepanjang 800 bp menggunakan primer spesifik (Gambar 4.2 dan 4.3). Untuk analisa digunakan panjang sekuen nukleotida sepanjang 417 bp untuk 16 sampel. Dan untuk sampel kontaminan tidak dianalisa. Untuk sampel yang menggunakan primer universal, sekuensing dilakukan menggunakan primer *forward*, kemudian untuk sampel yang menggunakan primer spesifik kuskus, sekuensing dilakukan dengan menggunakan primer *forward* dan *reverse*, namun, hanya data *forward* yang digunakan dalam analisa, hal ini dikarenakan data *reverse* tidak memadai.

Data yang diperoleh berupa elektroforegram yang tersimpan dalam format file AB1, dimana setiap nukleotida dianalisis berdasarkan pola puncak dan lembah, yang setiap pola tersebut dipresentasikan oleh warna yang berbeda (Sjafaraenan et al., 2018). Kemudian hasil sekuensing diedit dan diurutkan dengan menggunakan aplikasi Bioedit v. 5.0.6 (Hall. 2001) dan penjajaran sekuen dilakukan dengan menggunakan Clustal X version 1.82 software. Elektroforegram menampilkan urutan sekuen dari setiap sampel. Hasil penjajaran terhadap sekuen memperlihatkan adanya daerah gap. Daerah gap adalah area yang muncul

karena terjadi delesi (pengurangan) atau insersi (penambahan), sehingga tidak ada pasangan basa yang cocok pada hasil penjajaran.

Untuk identifikasi sampel uji dan melihat similarity atau kesamaan sekuen nukleotida dengan spesies atau genus yang serupa, maka dilakukan metode BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada sekuen NCBI GenBank(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Hasil sekuensing DNA berupa grafik elektroforegram, yang menunjukkan basa-basa yang terekam dalam sekuensing, serta data dalam format fasta, yaitu urutan basa-basa hasil sekuensing. Untuk mengetahui spesies uji, maka dilakukan identifikasi kemiripan hasil sequence nukleotide masing-masing sampel uji melalui program Blast yang tersedia pada NCBI GeneBank. Hasil sekuensing sampel dianalisis menggunakan program BLAST dari NCBI untuk menentukan kesamaan basa nukleotida dengan database NCBI yang tersaji pada tabel 4.3.

Pada tabel 4.3 sampel 001 memiliki *query cover* 96% dan ident 99.66% dengan *Homo sapiens* (MK967512.1), ini menunjukkan bahwa sampel uji bukan kuskus (Phalangeridae) melainkan terkontaminasi DNA manusia. Sampel 002 memiliki *query cover* 93% dan ident 95.35% dengan *Phalanger vestitus* (NC008137.1). Sampel 006

memiliki *query cover* 95% dan ident 99.48% dengan *Homo sapiens* (MK128874.1) ini menunjukkan bahwa sampel uji bukan kuskus (Phalangeridae) melainkan terkontaminasi DNA manusia. Sampel 018 memiliki *query cover* 59% dan ident 74.51% dengan *Hipposideros bicolor* (DQ054808.1), ini menunjukkan bahwa sampel uji bukan kuskus (Phalangeridae) melainkan terkontaminasi DNA kelelawar.

Dari 21 sampel diatas, dua diantaranya terdeteksi adanya kontaminasi dari *Homo sapiens* yaitu pada sampel MZBR 1209 dan Kuskus AP 2019, kemungkinan kontaminasi terjadi pada saat mengisolasi jaringan di lapangan atau kemungkinan juga ketika melakukan proses PCR, satu sampel terkontaminasi oleh *Hipposideros bicolor* pada sampel dengan kode 786, kemudian ada dua sampel dengan kode 29552 dan 33598 dimungkinkan adanya kontaminasi dikarenakan jika dilihat pada tabel 4.3 merupakan nilai terendah dan setelah di analisis, hasilnya memiliki jarak genetik yang sangat jauh jika dibandingkan dengan sampel lainnya, kontaminasi terjadi mungkin karena adanya pengotor di sekitar area kerja atau pada peralatan laboratorium, hal ini disebabkan oleh perpindahan laboratorium dari gedung lama ke gedung baru selama penelitian berlangsung.

Berdasarkan tabel 4.3, menunjukkan bahwa nilai *Query Cover* terendah 56% pada sampel 017 (33598) dan tertinggi

98% pada sampel 010 (NS 133). Dan *Percent Identity* terendah 80.44% pada sampel 017 (33598) dan tertinggi 95.35% pada sampel 002 (NS 134). *Query Cover* merupakan presentase dari panjang sekuens yang memiliki kesamaan dengan basis data pada NCBI, semakin tinggi nilai *Query Cover* semakin tinggi pula tingkat homologinya (Nugraha et al., 2014). Sedangkan *Percent Identity* merupakan persentase tertinggi dari kesesuaian antar sekuens dengan sekuens yang tersedia di NCBI (Sihotang et al., 2021), semakin tinggi angka homologinya menunjukkan kesamaan yang tinggi antara sekuen sampel uji dengan sekuen *GenBank* NCBI. Data sekuen yang diambil dari *GenBank* NCBI tersaji pada tabel 4.4.

Jarak genetik merupakan tingkat keragaman genetik dalam bentuk angka yang digunakan untuk mengukur suatu populasi atau spesies tertentu dan dapat diukur dengan berbagai parameter. (Pinem *et al.*, 2015 dalam Wilastra et al., 2021). Jarak genetik digunakan untuk melihat seberapa dekatnya hubungan genetik antara individu (Handayani et al., 2021) menggunakan *Pairwise Distance* dengan model Kimura 2 Parameter. Tabel 4.5 memberikan jarak genetik berkisar antara 0,002 sampai 0,515. Hasil analisis diperoleh rata-rata jarak genetik antar spesies kuskus berdasarkan sampel uji Famili Phalangeridae adalah 0,233 (23,3 %). Dalam hal ini, jarak genetik tersebut menunjukkan struktur genetik di

antara populasi kuskus dari persebaran berbeda sangat bervariasi jika dibandingkan pada penelitian Widayanti et al (2015) pada Phalangeridae dengan menggunakan gen NADH dehydrogenase sub-unit 1 (14,2%). Perbedaan tersebut juga disebabkan oleh variasi dari spesies yang digunakan.

Keragaman genetik di antara populasi dapat diidentifikasi dengan menggunakan konsep jarak genetik. Semakin rendah nilai jarak genetik, semakin sedikit keragaman yang ada di antara populasi tersebut, begitu pula sebaliknya (Tarwinangsih et al., 2011). Hasil pengukuran dari jarak genetik dapat digunakan untuk menggambarkan pohon filogenetik sebagai penentu suatu populasi atau kelompok tertentu (Wilastra et al., 2021).

Fokus rekonstruksi pohon filogeni adalah untuk memetakan posisi masing-masing spesies kuskus dalam hubungannya dengan spesies kuskus lainnya (Gambar 4.4). Rekonstruksi pohon filogeni dibuat berdasarkan sekuen nukleotida dengan metode *Maximum Likelihood* dan sebagai pembanding menggunakan sekuen Genbank (NCBI) (Tabel 4.4). Dalam rekonstruksi pohon filogeni menggunakan bootstrap 5000 kali ulangan. Pada pohon filogeni yang dihasilkan menunjukkan spesies yang sama berada pada klad yang berjauhan, kesalahan dalam mengelompokkan berdasarkan karakter morfologi dapat menyebabkan hal ini

terjadi, demikian pula dengan potensi kesalahan dalam pemberian kode sampel, seperti kesalahan penulisan atau penyalinan kode, atau kesalahpahaman dalam komunikasi saat melakukan isolasi sampel.

Pohon filogenetik menunjukkan *P. ornatus* dengan kode sampel Weda 298, 208, dan 297 berada pada satu klad yang sama namun *P. ornatus* dengan kode Weda 544 berada pada klad yang berbeda dari tiga *P. ornatus* yang lain, hal tersebut kemungkinan disebabkan karena kuskus di habitat alaminya berdasarkan pola sebaran biogeografi (Maluku dan Papua) memiliki kesamaan karakter yang diturunkan dari nenek moyang bersama, sehingga diasumsikan anggota populasi tersebut memiliki hubungan filogenetik yang cukup dekat (Widayanti & Kunda, 2023), sehingga *P. ornatus* dengan kode sampel Weda 544 berada pada satu klad yang sama dengan *S. maculatus* asal Maluku dan *Pseudochirops corinnae* asal Papua.

Selanjutnya keberadaan *Pseudochirops corinnae* asal Papua dengan kode sampel NS 133 yang termasuk kedalam spesies kangguru diduga disebabkan oleh kondisi geografis Papua yang berdasarkan garis Wallace, dimana satwa yang berada pada bagian timur Indonesia, merupakan jenis satwa yang mirip dengan satwa yang ada di benua Australia. Menurut Widayanti & Kunda (2023) anggota populasi Maluku

dan Papua memiliki kesamaan karakter yang diturunkan dari nenek moyang bersama (*shared character*), oleh karena itu populasi tersebut memiliki hubungan filogenetik yang cukup dekat.

Berdasarkan pohon filogenetik, sampel dengan kode 29573 *P. orientalis* dari NTT berdekatan dengan klad tiga genus *Strigocuscus*/*Spilocuscus*/*Ailurops sp* yang berasal dari Evelyn, Sulawesi. Kemungkinan sampel dari Evelyn yang berasal dari Sulawesi tersebut adalah dari Genus *Strigocuscus*, atau *Spilocuscus*, atau *Ailurops sp*. karena di Sulawesi hanya ditemukan tiga genus tersebut. Hal tersebut bertentangan dengan fakta bahwa antara ketiga genus tersebut dan *phalanger* tidak memiliki kedekatan filogenetik dibandingkan antar spesies *Phalanger*. Susunan taksonomi yang mencerminkan hubungan evolusi adalah sebagai berikut: Subfamili Phalangerinae terdiri dari *Phalanger* dan *Spilocuscus* (Thomas 1888), kemudian pada Subfamili Ailuropinae terdiri dari *Ailurops* dan *Strigocuscus* (Flannery et al., 1987). Dapat dilihat dari jarak genetik sebesar 0,173 dan memiliki perbedaan nukleotida sebanyak 66. Menurut (Ruedas & Morales, 2005) dari garis keturunan ini kemungkinan merupakan taksa saudara yang diperkirakan menyebar dalam satu peristiwa.

Berdasarkan pohon filogenetik, diketahui bahwa sampel *Ailurops* dari Sulawesi Tengah, berdekatan dengan sampel *Phalanger gymnotis* dari Papua dan *Phalanger sp.* Asal Ternate, Maluku. *Ailurops* merupakan satwa endemik Sulawesi. Menurut (Ruedas & Morales, 2005), *Ailurops ursinus* merupakan satu-satunya perwakilan sari Subfamili Ailuropinae yang dianggap paling primitif diantara Phalangeridae. Berdasarkan Subfamili, *Ailurops* berasal dari Subfamili yang sama dengan *Strigocuscus*, oleh karenanya, data yang didapat tidak selaras dengan penelitian yang sudah ada. Jika dilihat dari pohon filogenetik, sampel MZBR 1210 *Ailurops sp* dari Sulawesi Tengah berada pada satu klad yang sama dengan sampel NS 132 *P. orientalis* asal Papua dengan nilai bootstrap sebesar 96%. Hal ini didukung dengan jarak genetik sebesar 0,003 dan perbedaan nukleotida sebanyak 1. Ada kemungkinan terjadi kesalahan dalam penamaan spesies, seperti kesalahan penulisan dan penyalinan kode sampel, atau kesalahpahaman dalam komunikasi saat mengisolasi sampel, kurangnya data pembandingan juga menjadikan sulitnya analisis lebih lanjut terkait jenis spesies tersebut, atau bisa juga terjadi dimorfisme seksual seperti yang ditemukan dalam penelitian (Kunda et al., 2016), dimana terjadi dimorfisme seksual yang sangat terlihat jelas pada dua anggota genus kuskus yaitu *Phalanger* dan *Spilocuscus*.

4. Variasi Genetik DNA Kuskus

Hasil analisis komposisi nukleotida dari seluruh sampel dalam penelitian menunjukkan rata-rata basa T (tymine) 26,9%, C (cytosine) 27,9%, A (adenine) 29,3%, G (guanine) 15,8%. Data ini didukung oleh penelitian Widayanti & Wijayanto (2014) bahwa komposisi basa mtDNA hewan menunjukkan basa G paling sedikit jumlahnya diantara semua basa nukleotida, yaitu T(U) = 30%, C = 27%, A = 33,3%, dan G = 9,7%.

Keragaman genetik ditemukan sangat tinggi dengan jumlah nukleotida yang bervariasi (Tabel 4.8). Tabel 4.8 menunjukkan bahwa hasil penjajaran berganda dari sekuen nukleotida memperlihatkan perbedaan nukleotida berkisar dari 1 sampai dengan 164 pada sampel kuskus yang diteliti. Perbedaan nukleotide tertinggi terdapat pada sampel 010 Asal Papua dengan sampel 020 asal NTT sebanyak 164 nukleotida. Kemudian berdasarkan panjang nukleotida yang didapatkan pada penelitian ini, didapati sampel 010 dan 009 asal Papua, sampel 003 dan 005 asal Maluku, serta sampel 004 dan 003 asal Maluku, tidak didapati adanya nukleotida yang berbeda. Tingginya variasi nukleotida pada penelitian ini menunjukkan tingginya keragaman genetik pada populasi kuskus yang artinya ada banyak situs nukleotida yang mengalami mutasi.

Perbedaan antara individu, baik dalam spesies yang sama maupun antar spesies, disebabkan oleh variasi nukleotida pada situs yang berbeda, baik melalui substitusi maupun delesi basa (Wirdateti et al., 2015). Analisis keragaman genetik juga dilakukan dengan melihat variasi pada *variable site* dan *Informative site*. *Variable site* merupakan area pada nukleotida yang mengalami perubahan. *Variable site* dapat berupa *parsimony informative site* dan *singleton site*. Posisi yang tidak termasuk *variable site* termasuk kedalam *conserved site*. Sebanyak 16 sampel kuskus *Cyt-b* menghasilkan sebanyak 417 nukleotida. Pada *variable site* ditemukan sebanyak 272 pada jajaran nukleotida. Diantaranya terdapat 208 *parsimony informative site* dan 64 jajaran nukleotida pada *singleton site*. Pada hasil analisis *conserved site*, terdapat 167 dari 417 daerah yang tidak mengalami perubahan. Menurut Napitupulu (2023), hal ini disebabkan oleh sekuens yang terlalu pendek namun memiliki variasi yang tinggi, sehingga menghasilkan sedikit *conserved site* yang digunakan sebagai algoritma dalam pemisahan klad pada rekontruksi pohon filogenetik.

Cytochrome b merupakan salah satu DNA Mitokondria yang sering digunakan dalam analisis genetik satwa liar (Qiptiyah et al., 2019). *Cytochrome b* adalah gen yang mengodekan protein dan merupakan daerah *conserved* atau

jarang mengalami perubahan (Widowati *et al.*, 2013). *Cytochrome b* juga digunakan dalam penelitian mengenai hubungan antar spesies dari genus dan famili yang sama (Widayanti, 2006). Namun dalam penelitian ini, ditemukan banyak kendala saat menggunakan *Cyt-b*, gen ini belum bisa mengidentifikasi dan membedakan spesies, berdasarkan pola persebarannya. Hal ini bertentangan dengan Esposti *et al.*, (1993) dalam Farias *et al.*, (2001) yang menyatakan bahwa, gen *Cyt-b* dianggap sebagai salah satu gen yang paling berguna dalam analisis filogenetik. Namun penelitian lain menunjukkan bahwa, terdapat banyak masalah saat menggunakan *Cyt-b*, termasuk bias komposisi basa, variasi laju antar garis keturunan, variasi terbatas pada posisi kodon pertama dan kedua, yang menghasilkan sedikit informasi filogenetik untuk mempertanyakan evolusi mendalam pada tingkat populasi (Meyer 1994; Farias *et al.*, 2001). Oleh karena itu, gagasan bahwa gen ini akan berguna sebagai penanda filogenetik di semua tingkat filogenetik telah dipertanyakan (Hillis dan Huelsenbeck, 1992; Meyer, 1994; Honeycutt *et al.*, 1995; Farias *et al.*, 2001).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Berdasarkan hasil analisis gen *Cyt-b* diperoleh rata-rata jarak genetik antar spesies kuskus berdasarkan sampel uji Famili Phalangeridae adalah 0,233 (23,3%), dan 272 variasi situs nukleotida. Penelitian ini hanya berdasarkan satu gen dengan panjang sekuen pendek yaitu 417 bp untuk 16 sampel, sehingga hasil belum bisa sepenuhnya menjawab perbedaan genetik dan posisi individu sampel uji.
2. Dalam penelitian ini penanda genetik *Cyt-b* belum bisa mengidentifikasi dan membedakan spesies kuskus dari Papua, Sulawesi, Maluku, dan P. Timor. Informasi mengenai karakteristik genetik, terutama penanda genetik, sangat penting untuk konservasi dan pemuliaan setiap spesies.

B. Saran

Beberapa saran guna mengembangkan penelitian ini meliputi:

1. Perlu dilakukan konfirmasi ulang sampel kuskus berdasarkan identifikasi morfologi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan hasil yang lebih sensitif, karena kondisi sampel yang lama dalam awetan basah bahan kimia, dan proses penyimpanannya yang bisa menimbulkan kontaminasi pada sampel uji, dan menambah jumlah sampel penelitian dari tiap spesies atau dari setiap persebaran.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus, S. (2022). Keanekaragaman Hayati Indonesia: Masalah dan Upaya Konservasinya. *Indonesian Journal of Conservation*, 11(1), 13-21
- Arief S. (2022). Rencana Strategis Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Tahun 2020-2024. Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia
- Ariyanti, Y., & Sianturi, S. (2019). Ekstraksi DNA total dari sumber jaringan hewan (Ikan Kerapu) menggunakan metode kit for animal tissue. *Journal of Science and Applicative Technology*, 3(1), 40.
<https://doi.org/10.35472/jsat.v3i1.111>
- Aulia, S. L., Suwignyo, R. A., & Hasmeda, M. (2021). Optimasi Suhu Annealing untuk Amplifikasi Dna Padi Hasil Persilangan Varietas Tahan Terendam dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 18(1), 44.
<https://doi.org/10.31851/sainmatika.v17i3.5805>
- Bhattacharjee, M. J., Laskar, B. A., Dhar, B., & Ghosh, S. K. (2012). Identification and Re-Evaluation of Freshwater Catfishes through DNA Barcoding. *PLoS ONE*, 7(11), e49950.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049950>
- D. Rosana. Struktur dan Fungsi DNA dan RNA. Biofisika. Diakses pada
<https://staffnew.uny.ac.id/upload/132058092/pendidikan/modul-3-struktur-dan-fungsi-dna-dan-rna1.pdf> pada tanggal 24 September 2023.
- DD. Solihin., (1994). Peran DNA Mitokondria (mtDNA) dalam Studi Keragaman Genetik dan Biologi Populasi. Hayati. Vol. 1(1): 1-4

- Dwi A. R & Miftahul J. (2019). DNA Barcode Hewan dan Tumbuhan Indonesia. Yayasan Inspirasi Ide Berdaya Farias, I. P., Ortí, G., Sampaio, I., Schneider, H., & Meyer, A. (2001). The Cytochrome b Gene as a Phylogenetic Marker: The Limits of Resolution for Analyzing Relationships Among Cichlid Fishes. *Journal of Molecular Evolution*, 53(2), 89–103. <https://doi.org/10.1007/s002390010197>
- Farias, I. P., Ortí, G., Sampaio, I., Schneider, H., & Meyer, A. (2001). The Cytochrome b Gene as a Phylogenetic Marker: The Limits of Resolution for Analyzing Relationships Among Cichlid Fishes. *Journal of Molecular Evolution*, 53(2), 89–103. <https://doi.org/10.1007/s002390010197>
- Flannery, T., Archer, M., & Maynes, G. (1987). The phylogenetic relationships of living Phalangerids (Phalangerioidea: Marsupialia) with a suggested new taxonomy. In Arther, M. (ed.). Possum and Opossum, Studies in Evolutions. Sydney: Surrey Beatty & Sons and the Royal Zoological Society of New South Wales.
- Franca, L.T.C., E. Carrilho, and T.B.L. Kist. (2002). A review of DNA sequencing techniques. *Quarterly Reviews of Biophysics* 35: 169–200.
- Frankham, R., Ballou J.D., and Briscoe D.A. (2004). A Primer Of Conservation Genetics. Cambridge University Press. ISBN 0521538270.
- H. Dahrudin., WR. Farida., AS. Rohman. (2005). Jenis-Jenis Tumbuhan Sumber Pakan dan Tempat BersarangKuskus (Famili Phalangeridae) di Cagar Alam Biak Utara, Papua. *Biodiversitas*. Vol. 6 (4): 153-258.
- Handayani, Dedi Duryadi, & Hadi Alikodra3. (2021). JARAK GENETIK DAN KEKERABATAN TIGA JENIS BADAK DI DUNIA BERDASARKAN ANALISIS MtDNA. *EduMatSains : Jurnal Pendidikan, Matematika dan Sains*, 5(2), 239–248. <https://doi.org/10.33541/edumatsains.v5i2.2248>

- Hikmatyar, M. F., Royani, J. I., & . D. (2015). ISOLASI DAN AMPLIFIKASI DNA KELADI TIKUS (*Thyponium flagelliform*) UNTUK IDENTIFIKASI KERAGAMAN GENETIK. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 2(2), 42. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v2i2.507>
- Hsieh, H.-M., Chiang, H.-L., Tsai, L.-C., Lai, S.-Y., Huang, N.-E., Linacre, A., & Lee, J. C.-I. (2001). Cytochrome b gene for species identification of the conservation animals. *Forensic Science International*, 122(1), 7–18. [https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(01\)00403-0](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(01)00403-0)
- I Made Tasma. (2015). Pemanfaatan Teknologi Sekuensing Genom Untuk Mempercepat Program Pemuliaan Tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*. Vol. 34(4) : 159-168
- Indrawan Mochamad. Richard B. Premack. Jatna Supriatna. (2007). *Biologi Konservasi*. Edisi Revisi. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta
- Irwin, D. M., Kocher, T. D., & Wilson, A. C. (1991). Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 32(2), 128–144. <https://doi.org/10.1007/BF02515385>
- KLHK & LIPI. (2019). *Panduan Identifikasi Jenis Satwa Liar Dilindungi*
- Kocher TD, WK. Thomas, A. Meyer, SV. Edwards, S. Paabo, FX. Villablanca, & AC. Wilson. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primes. *Proc. Nat. Acad. Sci USA*.86: 6196–200.
- Kunda, R. M., Handayani, N. S. N., Wijayanto, H., & Widayanti, R. (2016). Study of Genetic Marker of Cuscuses (Marsupialia: Phalangeridae) from Maluku and Papua Based on Cytochrome b Gene Sequences. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 19(3), 122–135. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2016.122.135>

- M. Gobai., MC. Simanjuntak., A. Degei. 2020. Pola Perburuan Kuskus (Phalangeridae) Oleh Masyarakat Desa Ayombai di Pulau Moor Distrik Kepulauan Moora Kabupaten Nabire. *Jurnal Ilmu Peternakan*. Vol. 2 (2): 45-54
- M. Sara., Bachtiar., D. Puspaningrum. 2020. Perilaku Harian Kuskus Beruang (*Ailurops ursinus*) di Kawasan Konservasi Cagar Alam Tengale. *Jurnal Penelitian Kehutanan Bonita*. Vol. 2 (1): 20-26.
- M. Syamsul & D. Malia. 2013. *DNA Barcode Fauna Indonesia*. Jakarta. Penerbit Kencana
- M. Usmany. P. Kakisina. 2019. Kajian Molekuler Kuskus (Famili Phalangeridae) di Penangkaran Desa Lumoli, Seram, Maluku Berdasarkan Urutan Gen ATPS. *Jurnal Kajian Vetriner*. Vol. 7(1): 12-46
- M. Usmany., H. Tuaputty., & P. Kakisina., (2015). Kajian fenotip kuskus (Famili Phalangeridae) di Penangkaran Desa Lumoli, Kecamatan Piru, Maluku. *Jurnal Sain Veteriner*. Vol. 33 (2): 180-189.
- Maharadatan., & M, S, Arifin, Z. (2006). (Variasi Genetika Kelelawar *Aethalops* (Chiroptera: Pteropodidae) di Indonesia: Tinjauan dari Gen 12SrRNA pada DNA Mitokondria).
- Maharadatunkamsi dkk. (2020). *Status Konservasi dan Peran Mamalia di Pulau Jawa*. Jakarta. Lipi Press.
- Marthinus U., Hasan T., Pieter K. (2015). Kajian Fenotip Kuskus (Famili Phalangeridae) di Penangkaran Desa Lumoli, Kecamatan Piru, Maluku. *Jurnal Sain Veteriner*. Vol. 33(2): 180-189
- Menzies JI. (1991). *A Handbook of New Guinea Marsupials and Monotremes*. Madang-PNG: Kristen Pres Inc.
- Mitra M. (2018). *DNA Sequencing Basics and Its Applications*. SCIOI Genet Sci.

- Muir P, Li S, Lou S, Wang D, Spakowicz DJ, Salichos L, Zhang J, Weinstock GM, Isaacs F, Rozowsky J, Gerstein M. (2016). The Real Cost of Sequencing: Scaling Computation to Keep Pace With Data Generation. *Genome Biology*. Vol. 17(1): 53.
- Nada N.A. (2017). *Ensiklopedia Fauna Indonesia*. Yogyakarta. Khazanah Pedia
- Napitupulu, T. S. (2023). Evaluasi Aplikasi DNA Barcode Lokus psbA-trnH pada Genus *Momordica*. 11.
- Narayanan, K.K., C.P. Andre, J. Yang, and V. Walbot. (1993). Organization of 117 kb Circular Mitochondrial Chromosome in IR 36 Rice. *Curr.Getiet*. 23:248-254
- Newell, P. D., Fricker, A. D., Roco, C. A., Chandransu, P., & Merkel, S. M. (2013). A Small-Group Activity Introducing the Use and Interpretation of BLAST. *Journal of Microbiology & Biology Education*, 14(2), 238–243.
- Nugraha, F., Roslim, D. I., & Ardilla, Y. P. (2014). Analisis sebagian sekuen gen ferritin2 pada padi (*Oryza sativa* L.) Indragiri hilir, Riau. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 6(2), 70–79.
- Nugraha. R (2017). *Karakteristik Habitat Dan Jenis Pakan Kuskus Beruang (Ailurops Ursinus) Di Suaka Margasatwa Tanjung Peropa, Sulawesi Tenggara*
- Olsvik, O., J. Whalberg, B. Petterson, M. Uhlen, T. Popovic, I.K. Wachmuth, and P.I. Fields. (1993). Use of automated sequencing of polymerase chain reaction-generated amplicons to identify three types of cholera toxin subunit B in *Vibrio cholerae* O1 strains. *Journal of Clinical Microbiology* 31: 22–25
- Qiptiyah, M., Pudyatmoko, S., Widyatmoko, A., Ali Imron, M., & Nurtjahjaningsih, I. (2019). Cytochrome b mitochondrial DNA characteristic from non-invasive samples of wild population Javan Banteng (*Bos javanicus* d'Alton, 1823).

Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 20(2), 350–355.
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d200207>

- R. Widayanti & RM. Kunda. (2023). *Biologi Kuskus*. Penerbit Deepublish Digital
- R. Widayanti., H. Wijayanto., W.D. Wendo., R.M. Kunda. (2015). Identifikasi Keragaman Genetik Gen 12S Ribomsom RNA Sebagai Penanda Genetik untuk Penentuan Spesies Kuskus. *Jurnal Veteriner*. Vol. 16(2): 227-235
- Rini P., Chris A., Solihin. (2018). *Genetika Molekuler dan Aplikasinya*. Diakses melalui <https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/49517/1/1.2.2%20Genetika%20Molekuler%20dan%20Aplikasinya%20%28buku%29.pdf> pada tanggal 24 September 2023.
- Rodríguez, A., Rodríguez, M., Córdoba, J. J., & Andrade, M. J. (2015). Design of Primers and Probes for Quantitative Real-Time PCR Methods. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 1275, vii.
- Ronald. M., Nowak. (1999). *Mammals Of The World Sixth Edition*. Baltimore and London. The Johns Hopkins University Press
- Ruedas, L. A., & Morales, J. C. (2005). EVOLUTIONARY RELATIONSHIPS AMONG GENERA OF PHALANGERIDAE (METATHERIA: DIPROTODONTIA) INFERRED FROM MITOCHONDRIAL DNA. *Journal of Mammalogy*, 86(2), 353–365. <https://doi.org/10.1644/BER-117.1>
- S.K. Handayani., R.M. Kunda. (2019). Identifikasi Jenis-Jenis Tumbuhan Sebagai Pakan Kuskus (Phalangeridae) Asal Maluku di Taman Nasional Manusela Bagian Utara Kabupaten Maluku Tengah. *Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi*. Vol. 20 (1): 9-19.
- Saccone C., C. de Giorgi, C. Gissi, G. Pesole., & A. Rayes. (1999). Evolutionary Genomics in Metazoa: The Mitochondrial DNA as a Model System. *Gene* 238. 195-209

- Salmon K., Meliza S.W., Hermanus W. (2019). Identifikasi Jenis-Jenis Kuskus di Wilayah Kabupaten Tambrau. *Jurnal Kehutanan Papua*. Vol. 5(2) : 175-185.
- Sambrook J, Russell DW. (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory, Third Edition*. New York (US): Cold Spring Harbour Laboratory Press.
- Sanger, F., S. Nicklen, and A.R. Coulson. (1997). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 74: 5463–5467. doi:10.1073/pnas.74.12.5463
- Shabrani G. (2007). *Buku Ajar Bioteknologi Molekul*. Bandung. Universitas Padjajaran
- Sihotang, M. A. E. D., Erwinda, Y. E., Suwarni, E., & Lusianti, E. (2021). Desain Primer dan Analisis in Silico untuk Amplifikasi Gen mt-Co1 pada Tikus got (*Rattus norvegicus*). *Eruditio : Indonesia Journal of Food and Drug Safety*, 1(2), 20–29. <https://doi.org/10.54384/eruditio.v1i2.82>
- Sinery AS. (2006). Species of cuscus in Taman Wisata Gunung Meja Manokwari Regency, West Irian Jaya. *Biodiversitas*, 7 (2): 175-180.
- Sjafaraenan, S., Lolodatu, H., Johannes, E., Agus, R., & Sabran, A. (2018). PROFIL DNA GEN FOLLICLE STIMULATING HORMONE RESEPTOR (FSHR) PADA WANITA AKNE DENGAN TEKNIK PCR DAN SEKUENSING DNA. *BIOMA : JURNAL BIOLOGI MAKASSAR*, 3(1). <https://doi.org/10.20956/bioma.v3i1.3909>
- Solihin D.D (1994). Peran DNA Mitokondria (mtDNA) dalam Studi Keragaman Genetik dan Biologi Populasi Pada Hewan. *Hayati*. Vol. 1 (1) : 1-4
- Subari, A., Razak, A., & Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic Analysis of *Rasbora* spp. Based on the Mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 89–94. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2351>

- Suyanto A., Yoneda M., Maryanto I., Maharadatunkamasi, & Sugardjito J. (2002). Checklist of the mammals of Indonesia. Scientific name and distribution area table in Indonesia including CITES, IUCN and Indonesian category for conservation. 2nd edition. Bogor: LIPI-JICAPKA.
- Suyanto, A. & G. Semiadi. (2004). Keragaman Mamalia di Sekitar Daerah Penyangga Taman Nasional Gunung Halimun, Kecamatan Cipanas, Kabupaten Lebak. *Berita Biologi* 7(1): 87-94.
- Tarwinangsih, W., Farajallah, A., & Sumantri, C. (2011). (Analysis of Genetic Diversity of Local Buffaloes (*Bubalus bubalis*) Based on Mitochondrial DNA Haplotypes).
- Tasma, I. M. (2016). PEMANFAATAN TEKNOLOGI SEKUENSING GENOM UNTUK MEMPERCEPAT PROGRAM PEMULIAAN TANAMAN. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 34(4), 159. <https://doi.org/10.21082/jp3.v34n4.2015.p159-168>
- Venter, J.C., S. Levy, T. Stockwell, K. Remington, and A. Halpern. (2003). Massive parallelism, randomness and genomic advances. *Nat. Genet.* 33: 219–227.
- W.R. Farida., R. Widyastuti., N. Sigit., dan L. Khotijah. (2001). Konsumsi dan Kemampuan Cerna Pakan pada Kuskus (*Spilocuscus maculatus* dan *Phalanger* spp.). *Jurnal Biologi Indonesia*. Vol. 3(2): 139-149
- Widayanti, R., & Kunda, R. M. BIOLOGI KUSKUS (Januari 2023).
- Widayanti, R. (2006). Kajian Penanda Genetik Gen Cytochrome B dan Daerah D-loop pada *Tarsius* sp. *IPB University Scientific Repository*. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/10051>
- Widayanti, R., & Wijayanto, H. (2014). KAJIAN DIVERSITI GENETIKA *Tarsius* sp. ASAL INDONESIA MENURUT URUTAN GEN NADH DEHIDROGENASE SUBUNIT 4 (ND4). 8(1).

- Widayanti, R., . A., Suprayogi, T., Kunda, R. M., & Pakpahan, S. (2015). Phylogenetic Relationship of Cuscuses (Marsupialia: Phalangeridae) from Papua and Maluku Based on Mitochondrial Sequences of NADH Dehydrogenase Sub-unit 1 Gene. *Biotechnology(Faisalabad)*, 15(1-2), 17-25. <https://doi.org/10.3923/biotech.2016.17.25>
- Widayanti, R., Kunda, RM., (2023). *Biologi Kuskus*. Penerbit Deepublish Kunda, R. M., Handayani, N. S. N., Wijayanto, H., & Widayanti, R. (2016). Study of Genetic Marker of Cuscuses (Marsupialia: Phalangeridae) from Maluku and Papua Based on Cytochrome b Gene Sequences. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 19(3), 122-135. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2016.122.135>
- Widayanti, R., Wijayanto, H., Wendo, W. D., & Kunda, R. M. (2015). Identifikasi Keragaman Genetik Gen 12S Ribosom RNA Sebagai Penanda Genetik untuk Penentuan Spesies Kuskus. 16(2).
- Widowati, Esti. 2013. *Desain Primer Sitokrom b Sebagai Salah Satu Komponen PCR untuk Deteksi DNA Babi*. Yogyakarta: LP Universitas Kalijaga.
- Wilastra, A. S., Gushairiyanto, G., Erina, S., & Depison, D. (2021). Analisis Jarak Genetik Sapi Bali pada Tiga Kecamatan di Kabupaten Merangin Provinsi Jambi. *Jurnal Peternakan*, 18(1), 1. <https://doi.org/10.24014/jupet.v18i1.10331>
- Wilson, D.E & Mittermeier, R.A. eds. (2015). *Handbook of the Mammals of the World. Vol. 5. Monotremes and Marsupials*. Lynxs Edicions, Barcelona
- Wirdateti et al. (2015). Penanda Genetik Tarsius (Tarsius spp.) dengan Menggunakan Gen Cytochrome Oxidase I (COI) DNA Mitokondria (mtDNA) Melalui Metode Sekuensing (Genetic Marker on Tarsier (Tarsius spp.) using Cytochrome Oxidase I Gene (COI) of Mitochondrial DNA (mtDNA) through Sequencing Method). *Jurnal Biologi Indonesia*. Vol. 11(2): 275-284

- Wirdateti., G. Semiadei., T. Okayama. (2004). Karakteristik Genetik Pada Famili Cervidae (*Cervus unicolor*, *Cervus timorensis*, dan *Axis kuhlii*) Berdasarkan 12SrRna mtDNA. Berk. Penel. Hayati: 9 (61-68)
- Wirdateti., G. Semiadi., Yulianto., (2013). Identifikasi Trenggiling (*Manis javanica*) Menggunakan Penanda Cytochrome B Mitokondria DNA. Jurnal Veteriner. Vol. 14(4) : 467-474
- WR. Farida., G. Semiadi., H. Dahruddin. (2001). Aktivitas Harian Kuskus Beruang (*Ailurops ursinus*) Dalam Penangkaran. Jurnal Biologi Indonesia. Vol. 3 (1): 43-49
- Yudianto, A. (2020). DNA Touch Dalam Identifikasi Forensik. Surabaya. Penerbit Scopindo
- ZK. Yusuf. (2010). Polymerase Chain Reaction (PCR). Saintek. Vol. 5 (6)

LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian



(a)



(b)



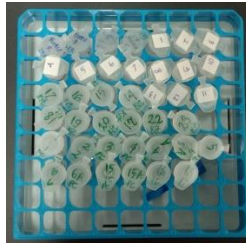
(c)

Keterangan : (a) Pengambilan sampel; (b) Proses PCR;
(c) Proses elektroforesis

Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)



(h)



(i)



(j)



(k)



(l)



(m)

Keterangan : (a) Tube berisi sampel penelitian dan hasil ekstraksi; (b) hasil PCR; (c) sampel yang akan dikirim untuk sekuensing; (d) Pipet tip 1000 μ l, 200 μ l, 10 μ l; (e) Mikropipet; (f) *Water bath (Thermo Minder SM 05 R)*; (g) Pinset dan gunting; (h) *Vortex mixer*; (i) *Shaker rotator Oregon MDR 2800v*; (j) Hotplate stirrer; (k) timbangan digital *Matrix*; (l) Mupid-exu (bejana elektroforesis); (m) Mesin PCR *Bio-Rad*

Lampiran 3. Variasi Situs Nukleotida

Sampel	Posisi Nukleotida														
	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
	A	A	C	C	C	A	C	C	C	A	C	T	A	A	T
MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	.	.	A	A	.	.	.	.	.	.	T	.	.	-	.
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	.	.	.	.	T	T	.	.	.	.	C	.	.
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	C	T	T	.	.	.	T	G	T	C	T	-	G	G	C
33711 <i>Phalanger sp.</i>	C	T	T	.	.	.	T	G	T	C	T	-	G	G	C
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	C	T	T	.	.	.	T	G	T	C	T	-	G	G	C
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	C	T	T	.	.	.	T	G	T	C	T	-	G	G	C
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	C	T	T	.	.	.	T	G	T	C	T	-	G	G	C
MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	C	T	T	.	.	.	T	G	T	C	T	-	G	G	C
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	C	T	T	.	A	-	T	G	T	C	T	A	G	G	C
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	C	T	T	.	.	C	T	G	T	.	T	A	G	G	C
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	C	T	T	.	.	.	T	G	T	C	T	-	G	G	C
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	C	C	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	T	.	C	.	.

[illegible]

Sampel	Posisi Nukleotida														
	33	34	36	37	38	39	40	41	42	43	45	46	47	48	49
	A	A	A	A	T	C	A	T	C	A	C	A	A	A	G
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	T
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	C	.	.	.	.	A	.	.	T	.	.	C	.	C	A
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	50	51	52	53	54	55	56	57	59	60	61	63	65	66	67
	C	C	T	T	C	A	T	C	A	C	C	A	C	A	A
MZBR 1210 <i>Ailurops sp.</i> 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 133 <i>Pseudochirops scorinnae</i>	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T	.	.	C	.
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	.	.	T	.	.	T	.	T	.	C	.	.	.
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	T	G	C	C	T	C	A	T	G	T	A	-	A	.	.
33711 <i>Phalanger sp.</i>	T	G	C	C	T	C	A	G	G	T	A	-	A	.	.
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	T	G	C	C	T	C	A	G	G	T	A	-	A	.	.
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	T	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	T	G	C	C	T	C	A	T	G	T	A	-	A	.	.
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	T	G	C	C	T	C	A	T	G	T	A	-	A	.	.
MZBR 1211 <i>Ailurops sp.</i> 2	T	G	C	C	T	C	A	T	G	T	A	-	G	.	.
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	T	G	C	C	T	C	A	T	G	T	A	-	A	.	.
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	T	G	C	C	.	C	A	T	G	T	A	-	A	C	T
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	T	G	C	C	T	C	A	G	G	T	A	-	A	.	.
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	T	.	.	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	T	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	T	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	50	51	52	53	54	55	56	57	59	60	61	63	65	66	67
	C	C	T	T	C	A	T	C	A	C	C	A	C	A	A
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	T	.	.	T	.	T	.	.	.	.	.
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	69	70	71	72	73	74	75	78	79	80	81	82	84	86	87
	A	C	C	A	T	C	C	T	A	T	T	T	T	C	C
MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 133 <i>Pseudochirops scorinnae</i>	T	.	.	.	.	.	T	C	.	.	C	.	.	.	.
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	.	.	.	.	A	C	.	.	C	.	.	.	.
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	C	A	A	.	A	.	T	G	G	G	.	C	.	.	G
33711 <i>Phalanger sp.</i>	C	.	A	.	A	.	T	G	G	G	.	C	.	.	.
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	C	.	A	.	A	.	T	G	G	G	.	C	A	.	.
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	C	.	.	.	T
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	C	.	.	.	A	.	T	G	G	G	.	C	A	G	G
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	C	.	A	.	A	.	T	G	G	G	.	C	-	.	.
MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	C	A	A	.	A	.	T	G	G	G	.	C	-	.	.
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	C	.	T	.	A	.	T	G	G	G	.	C	A	.	.
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	C	A	T	C	.	A	T	.	G	G	.	C	A	.	-
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	C	.	A	.	A	.	T	G	G	G	.	C	-	.	T
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	C	.	.	.	T
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	69	70	71	72	73	74	75	78	79	80	81	82	84	86	87
	A	C	C	A	T	C	C	T	A	T	T	T	T	C	C
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	T	C	.	.	C	.	.	.	T
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	88	90	91	93	94	95	96	98	99	101	102	103	104	105	106
	T	A	T	A	A	A	C	T	C	G	A	T	C	A	C
MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	C	.
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	.	G	T
33711 <i>Phalanger sp.</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	C	T	G	.	C	T	-	.	.	.	.	.	.	G	.
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	.	G	G	G	T	T	T	.	.	T	G	.	.	G	.
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	T	G	.	T	T	T	.	.	.	.	.	T	G	.
MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	G	C	.	.	T	.	.	.	.	C	.
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	.	.	G	.	.	A	T	.	.	.	.	C	.
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	G	T	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	C	.	.	.	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	88	90	91	93	94	95	96	98	99	101	102	103	104	105	106
	T	A	T	A	A	A	C	T	C	G	A	T	C	A	C
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	T
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	120	121	122
	T	A	C	T	A	G	G	T	T	T	T	T	C	C	T
MZBR 1210 <i>Ailurops sp.</i> 1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	.	.	.	.	G	.	.	A	A	.	A	.	.	.	.
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	C	.	.	.	.	.	C	A	.	C	.	.	.	.
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.
33711 <i>Phalanger sp.</i>	.	G	G	A	G	.	T	G	A	G	C	C	.	.	.
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	G	G	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	G	G	T	.	.	.	.	.	.	.	C	C	G	.	G
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	T	.
MZBR 1211 <i>Ailurops sp.</i> 2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	G	.	.	A	A	.	C	.	.	.	.
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	.	.	G	.	.	A	A	.	A	.	.	.	.
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	C	.	.	.	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	G	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	120	121	122
	T	A	C	T	A	G	G	T	T	T	T	T	C	C	T
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	A	C	C	.	.	.	.
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	.

[illegible]

Sampel	Posisi Nukleotida														
	139	140	141	144	145	147	149	150	151	154	156	157	158	159	160
	A	C	A	C	C	A	T	C	C	G	A	A	T	A	C
MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	.	.	.	.	T	.	.	T	.	.	C	.	.	.	.
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	C	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.
33711 <i>Phalanger sp.</i>	G	G	.	.	.	T	A	.	.	.	.	G	G	.	.
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	T	T	T	.	A	.	.	.	.	G	G	.	.
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	C	.	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	G	.	T	T	T	.	.	.	.	.	.	.	G	C	T
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	T	G	.	.	.	.	.	.	.	G	G	.	T
MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	.	A	.	.	T	.	.	T	.	.	C	.	.	.	.
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	A	.	.	T	.	.	T	.	.	C	.	.	.	T
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	G	.	.	.
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	C	.	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	139	140	141	144	145	147	149	150	151	154	156	157	158	159	160
	A	C	A	C	C	A	T	C	C	G	A	A	T	A	C
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	C	.	.	.	.	.	T	.	T	.	.	.	.
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	G	.
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.

[illegible]

Sampel	Posisi Nukleotida														
	161	162	164	165	166	168	169	170	171	172	174	175	176	177	178
	A	T	A	C	A	C	T	C	C	G	C	A	C	A	C
004 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	T
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	T	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.
009 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	C	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.

[illegible]

[illegible]

Sampel	Posisi Nukleotida														
	197	198	199	204	205	207	208	210	211	212	215	216	217	218	219
	T	C	G	C	A	T	T	T	C	G	A	C	T	A	A
004 <i>Phalanger ornatus</i>	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
009 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	A	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	C	.
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	222	223	225	226	227	228	229	232	234	235	237	240	242	243	244
	C	T	C	G	G	C	T	C	A	A	T	C	A	C	C
MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	.	.	T	.	.	A	.	T	G	.	C	.	.	.	.
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	A	.	.	T
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	G	G	T	.	.	.	.	G	.	.
33711 <i>Phalanger sp.</i>	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	C	A	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	.	C	.	A	A	A	.	.	.	G	.	G	.	.	T
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	T	.	.	A	.	T	G	G	C	.	G	.	.
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	T	.	.	A	.	T	G	G	C	.	.	.	.
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	C	.	.	T	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	222	223	225	226	227	228	229	232	234	235	237	240	242	243	244
	C	T	C	G	G	C	T	C	A	A	T	C	A	C	C
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	T	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	245	246	249	250	252	253	255	258	261	264	265	266	267	270	273
	T	A	T	G	T	A	C	A	T	C	A	T	A	C	C
MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	.	C	C	T	C	.	.	.	C	A	G	.	.	T	T
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	.	.	C	.	.	.	C	A	.	.	.	.	.
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.
33711 <i>Phalanger sp.</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	C	.	C	.	.	.	C	.	T	.	.	T	.
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	.	.
MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	.	C	C	T	C	G	.	.	C	.	C	.	.	T	T
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	C	C	T	C	.	.	.	C	.	C	.	.	T	T
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	C	C	.	C	.	.	.	C	.		.	C	.	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	C	.	C	.	T	.	C	.	T	.	.	.	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	C	.	C	.	.	.	C	.	T	.	.	T	.
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	C	.	C	.	.	G	C	.	C	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	279	280	282	284	286	288	291	294	297	300	303	307	309	312	315
	C	T	G	T	T	A	C	T	A	A	A	T	C	C	C
MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	.	C	A	.	C	T	T	.	.	.	.	.	.	.	.
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	C	A	.	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
33711 <i>Phalanger sp.</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	T	.	A	.	C	T	.	.	.	G	T	.	.	T	.
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	C	A	A	C	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	.	C	A	.	C	T	T	.	.	.	.	A	.	.	.
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	C	A	.	C	T	T	.	.	.	.	.	.	.	.
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	C	C	.	C	T	.		C	.	.	.	.	.	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	C	A	A	C	.	.	C	.	.	.	.	T	T	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	T	.	A	.	C	T	.	.	.	G	T	.	.	T	.
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	C	A	A	C	.	.	C	.	.	.	.	T	.	A

Sampel	Posisi Nukleotida														
	279	280	282	284	286	288	291	294	297	300	303	307	309	312	315
	C	T	G	T	T	A	C	T	A	A	A	T	C	C	C
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	T	.	A	.	C	T	.	.	.	G	T	.	.	T	.
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	A	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	.	A	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	A	A	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	318	321	324	327	336	342	344	345	348	349	350	351	354	355	357
	T	C	T	C	A	C	T	T	A	G	T	A	C	C	A
MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	A	.	.	.	C	T	C	C	.	A	.	C	T	A	C
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	C	.	.	.	C	.	.	.	.	A	.	C	.	.	.
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
33711 <i>Phalanger sp.</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	C	T	C	T	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	C	.	.	.	.	.	C	A	.	.	.	.	.	.	.
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	A	.	.	.	C	T	C	C	.	A	A	-	T	A	C
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	A	.	.	.	C	T	C	C	.	A	.	C	T	A	C
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	.	A	.	.	T	.	.	C	.	.	.	T	.	C
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	C	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	C	T	C	T	.	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	C	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida														
	318	321	324	327	336	342	344	345	348	349	350	351	354	355	357
	T	C	T	C	A	C	T	T	A	G	T	A	C	C	A
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	C	T	C	T	.	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	C	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	C	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	T
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	C	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.

Sampel	Posisi Nukleotida		
	360	361	363
	A	C	A
MZBR 1210 <i>Ailurops sp. 1</i>	.	.	-
NS 133 <i>Pseudochiropscorinnae</i>	.	T	G
KJ868160.1 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	.	A
Kuskus 3 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	A
33711 <i>Phalanger sp.</i>	.	.	A
Kuskus 2 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	A
Weda 298 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	A
NS 134 <i>Phalanger carmelitae</i>	.	.	A
29573 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	G
Kuskus 1 <i>Strigo/ Spilo/Ailurops</i>	.	.	A
MZBR 1211 <i>Ailurops sp. 2</i>	.	.	A
Weda 544 <i>Phalanger ornatus</i>	.	T	G
29553 <i>Spilocuscus maculatus</i>	.	T	G
29555 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.
KJ868151.1 <i>Pseudochirops albertisi</i>	.	.	.
MT123565.1 <i>Phalanger orientalis</i>	G	T	.
Weda 208 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.
MN380215.1 <i>Phalanger orientalis</i>	.	T	.
Weda 297 <i>Phalanger ornatus</i>	.	.	.
KJ868142.1 <i>Phalanger gymnotis</i>	.	.	.
NS 132 <i>Phalanger orientalis</i>	.	.	.
MH220729.1 <i>Strigocuscus celebensis</i>	.	G	.
AB241057.1 <i>Phalanger vestitus</i>	.	.	.

Lampiran 4. Penjajaran Sekuen Famili Phalangeridae

		10	20	30	40	50	60	70
007MZBR121	TGTTCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
010Pseudoc	TGATCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
KJ868160.1	TGATCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
014P.sp5	TGGATGACGT	CAATATCTTC	CATGCTCG	CTGAGCTCAG	ACATACAGTG	CCTCATGGTA	T-CAAAACCA	
021P.sp7MZ	TGGATGACGT	CAATATCTTC	CATGCTCG	CTGAGCTCAG	ACATACAGTG	CCTCATGGTA	T-CAAAACCA	
013P.sp4	TGGATGACGT	CA-TATCTTC	CATGCTCG	CTGAGCTCAG	ACATACAGTG	CCTCATGGTA	T-CAAAACCA	
00514724P.	TGATTACCTT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
00214724P.	TG-TTCACTT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
020P.orien	TGGATGACGT	CAATATCTTC	CATGCTCG	CTGAGCTCAG	ACATACAGTG	CCTCATGGTA	T-CAAAACCA	
012P.sp3	TGGATGACGT	CAATATCTTC	CATGCTCG	CTGAGCTCAG	ACATACAGTG	CCTCATGGTA	T-CAAAACCA	
008MZBR121	TGATCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
011P.ornat	TGGCTGACGA	AA-TATCTTC	A-TGCTTAGG	CTGAGCTCAT	ACATACAGTG	CCTCATGGTA	T-CAAAACCA	
016P.macul	TGACCGACGA	CA-TATCTTC	CCTGTATAGG	CAGAGTTTAT	AT-TACCTGG	CCCATGGTA	T-CACTTCCAT	
19P.gymnot	TGGATGACGT	CA-TATCTTC	CATGCTCG	CTGAGCTCAG	ACATACAGTG	CCTCATGGTA	T-CAAAACCA	
KJ868151.1	TGATCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
MT123565.1	TGATCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
00314724P.	TGATCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
MN380215.1	TGATCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
00414724P.	TGATCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
KJ868142.1	TGTTCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
009P.orien	TGTTCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
MH220729.1	TGACCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
AB241057.1	TGTTCAAACT	ACGCAAAACC	CACCCACTAA	TAAAAATCAT	CAACAAAGCC	TTTATCGACT	TACCAACACC	
Clustal Co	**	*	*	*	*	*	*	*

		80	90	100	110	120	130	140
007MZBR121	ATCCAAATAT	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGTTTTTGCC	TAACCATCCA	AATCCTAACA	
010Pseudoc	ATCTAACATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCCCTACTG	GGAAATAGCC	TAATATCCCA	AATCCTAACA	
KJ868160.1	ATCAAAATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTCTTA	GGCACTTGCC	TAACATCCCA	AATCCTAACC	
014P.sp5	AACTAAGGGT	CC--CGTGT	GAAACTTCGG	AGCGTTACCT	GGTTTTTGAT	TAGG--GTAA	AATCACAACA	
021P.sp7MZ	AACTAAGGGT	CC--CGTGT	GAAACTTCGG	ATCACTGGAG	GTGAGCGCGC	TAGT-ATATG	GTTCATTGGA	
013P.sp4	AACTAAGGGT	CCAGCCCTGG	GACT--TCGG	ATCGCTGG-A	CGTTTTTGCC	TAGAC-TGCA	GATCAATAC	
00514724P.	ATCTAACATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGCTTCTGCC	TAGTAATCCA	AATCCTAACC	
00214724P.	ATCCAAATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGCTTCTGCC	TAACCATACA	AATCCTAACA	
020P.orien	AACTAAGGGT	CCA-GGTGG	GGTTTTTCGT	GTGCGGGTTA	GGTTTTTCGG	GGGGCATCCG	AAGCATAGCT	
012P.sp3	AACTAAGGGT	CC--CCTGT	GATTTTTTCG	ATTCATATTA	GGTTTTTGAT	TAGACACAAA	GACCAACAT	
008MZBR121	AACTAAGGGT	CC--CCTGT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGTTTTTGCC	TAACCATCCA	AATCCTAACA	
011P.ornat	AACTAAGGGT	CCA-CCTGT	GAGCCTTCGG	ATCCCTACTG	GGAAATAGCC	TAATATCCCA	AATCCTAACA	
016P.macul	CTATAATGGT	CCA-C-TGAT	GAGACTATGG	ATCCCTACTG	GGAAATAGCC	TAATATCCCA	AATCCTAACA	
19P.gymnot	AACTAAGGGT	CC--CTTGAG	GTGACTTCGG	ATCACTATTA	GGTTTTTGCC	TAGTAATCAC	AATCGGAACA	
KJ868151.1	CTCCAAATAT	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGATTTCTGCC	TAATATCCCA	AATCCTAACA	
MT123565.1	ATCCAAATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGCTTCTGCC	TAACCATCCA	AATCCTAACA	
00314724P.	ATCTAACATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGCTTCTGCC	TAGTAATCCA	AATCCTAACC	
MN380215.1	ATCCAAATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGCTTCTGCC	TAACCATCCA	AATCCTAACA	
00414724P.	ATCTAACATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGCTTCTGCC	TAGTAATCCA	AATCCTAACC	
KJ868142.1	ATCCAAATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGCTTCTGCC	TAACCATCCA	AATCCTAACA	
009P.orien	ATCCAAATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGTTTTTGCC	TAACCATCCA	AATCCTAACA	
MH220729.1	ATCCAAATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGCACTTGCC	TAGTAATCCA	AATCCTAACA	
AB241057.1	ATCCAAATC	TCTGCTGAT	GAAACTTCGG	ATCACTACTA	GGCTTCTGCC	TAACCATCCA	AATCCTAACA	
Clustal Co	**	*	*	*	*	*	*	*


```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      290      300      310      320      330      340      350
007MZBR121 GTTCTTAC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATTGGAGTA
010Pseudoc ATTCTTTCAT ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACCTGAAA TACCGGAATC
KU868160.1 ATCTCTACAC ATCGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACCTGAAA CATTGGAATC
014P.sp5 GTTCTTA-AC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATTGGAGTA
021P.sp7MZ GTTCTTACAC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATTGGAGTA
013P.sp4 GTTCTTACAC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATTGGAGTA
00514724P. ATTCTTTCAT ATTGGACGAG GTATCTACTA TGGCTCTTAT CTCTATAAAG AAACATGAAA CATCGGAGTA
00214724P. ATACCTTACAC ATCGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CACAGGAGTA
020P.orien GTTCTTACAC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATTGGAGTA
012P.sp3 GTTCTTACAC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATTGGAGTA
008MZBR121 GTTCTTACAC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATTGGAGTA
011P.ornat ATTCTTTCAT ATTGGACGAG GAATCACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACCTGAAA TACCGGAAA-
016P.macul ATTCTTTCAT ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACCTGAAA TACCGGAATC
19P.gymnot GTTCTTACAC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATTGGAGTA
KU868151.1 GTTCTTTCAT ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACCTGAAA TACCGGAAA-
MT123565.1 ATACCTTACAC ATCGGACGAG GAATCTACTA TGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATCGGAGTA
00314724P. ATTCTTTCAT ATTGGACGAG GTATCTACTA TGGCTCTTAT CTCTATAAAG AAACATGAAA CATCGGAGTA
MN380215.1 ATACCTTACAC ATCGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATCGGAGTA
00414724P. ATTCTTTCAT ATTGGACGAG GTATCTACTA TGGCTCTTAT CTCTATAAAG AAACATGAAA CATCGGAGTA
KU868142.1 ATCTCTACAC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA TATTGGAGTA
009P.orien GTTCTTACAC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATTGGAGTA
MH220729.1 ATTCTTTCAT ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CATTGGAGTA
AB241057.1 ATACTTACAC ATTGGACGAG GAATCTACTA CGGCTCTTAC CTTTACAAAG AAACATGAAA CACCGGAGTA
Clustal Co * * * * *

```

```

.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
      360      370      380      390      400      410      420
007MZBR121 ATCTTACTAC TA----- TTTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
010Pseudoc ATTATCCTAT TAGCTGCTAT AGCCACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
KU868160.1 ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
014P.sp5 ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACTGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
021P.sp7MZ ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACTGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
013P.sp4 ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACTGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
00514724P. ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
00214724P. ATCTTACTAC TAATAGTAAT AGCAACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
020P.orien ATCTTACTAC TAGCGTAAT AGCAACTGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
012P.sp3 ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACTGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
008MZBR121 ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACTGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
011P.ornat ATTATCCTAT TAGTGCTAT AGCCACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
016P.macul ATTATCCTAT TAGTGCTAT AGCCACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
19P.gymnot ATCTTACTAC TAGCGTAAT AGCAACTGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
KU868151.1 ATCTTCTTAC TAACCACTAT AGCCACTGCA TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
MT123565.1 ATCTTACTGT TAACCGTAAT AGCAACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAG ATATCCTTCT
00314724P. ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
MN380215.1 ATCTTACTAT TAACCGTAAT AGCAACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAG ATATCCTTCT
00414724P. ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
KU868142.1 ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACTGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
009P.orien ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACTGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
MH220729.1 ATCTTCTTAC TAGCGTAAT AGCAACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAA ATATCCTTCT
AB241057.1 ATCTTACTAC TAACCGTAAT AGCAACCGCT TTGTAGGCT ACGTCTCC ATGAGGACAG ATGATCCTCT
Clustal Co * * * * *

```

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|.
            430         440         450
007MZBR121 -----
010Pseudoc -----
KU868160.1 GAGGAGCAAC AGTAATCA..
014P.sp5 AAGGAGCTAC AGTGATTA..
021P.sp7MZ GAGGAGCTAC AGTGATTA..
013P.sp4 GAGGAGCTAC AGTGATTA..
00514724P. GAGGGGCAAC GATGGTIT..
00214724P. GAGGGGCAAC GATGGTIT..
020P.orien GAGGAGCTAC AGTGATTA..
012P.sp3 GAGGAGCTAC AGTGATTA..
008MZBR121 GAGGAGCTAC AGTGATTA..
011P.ornat GAGGCGCTAC AGTTATCA..
016P.macul GAGGCGCTAC AGTTATCA..
19P.gymnot GAGGAGCTAC AGTGATTA..
KU868151.1 GAGGCGCTAC AGTCATCA..
MT123565.1 GAGGCGCTAC AGTAATTA..
00314724P. GAGGGGCAAC GATGGTIT..
MN380215.1 GAGGCGCTAC AGTAATTA..
00414724P. GAGGGGCAAC GATGGTIT..
KU868142.1 GAGGAGCTAC AGTAATTA..
009P.orien -----
MH220729.1 GAGGGGCAAC AGTAATCA..
AB241057.1 GAGGCGCTAC AGTAATTA..
Clustal Co

```

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama Lengkap : Faza Nuzuliah Furqoni
2. Tempat & Tgl Lahir : Gresik, 10 Desember 2001
3. Alamat Rumah : Perum. Tenggulunan Mega
Asri Blok B. 20 Candi, Sidoarjo
4. HP : 085773829447
5. E-mail : fazanuzulia@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal:

- a. MINU KH. Mukmin Sidoarjo
- b. MTs. Perguruan Mu'allimat Jombang
- c. MA Perguruan Mu'allimat

2. Pendidikan Non-Formal:

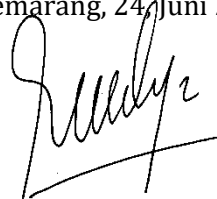
- a. Pondok Pesantren Putri Walisongo Cukir
Jombang
- b. Ma'had Ulil Albab lil Banat Ngaliyan Semarang

C. Pengalaman Organisasi

- a. Sekretaris OSIS MTs PM Jombang (2015-2017)
- b. Anggota PMR MA PM Jombang (2018-2019)
- c. KOMINFO HMJ Biologi UIN Walisongo (2022-2023)

d. INKOM MUA (2022-2023)

Semarang, 24 Juni 2024

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Faza Nuzuliah Furqoni', with a long horizontal stroke extending from the bottom of the signature.

Faza Nuzuliah Furqoni

NIM: 2008016007