

INTISARI

IDENTIFIKASI MOLEKULER KUSKUS (Phalangeridae) ASAL SULAWESI BERDASARKAN SEKUEN GEN PENYANDI 12S ribosomal- RNA (12S rRNA) DAN ATP Synthase Sub-unit 6 (ATP6)

Ratih Pangestika

Kuskus (Phalangeridae) adalah hewan marsupialia yang dilindungi di Indonesia berdasarkan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 1999. Informasi tentang karakteristik tiap spesies secara molekuler diharapkan dapat membantu usaha konservasi *in-situ* dan *ex-situ* secara optimal. Tujuan utama penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi secara molekuler kuskus asal Sulawesi berdasarkan gen penyandi 12S rRNA dan ATP6.

Sampel DNA diisolasi dari sampel *musculus bicep femoris* kuskus jantan dan potongan ekor kuskus betina asal Pulau Sangihe, Sulawesi. Amplifikasi gen 12S rRNA dan ATP6 menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan kondisi suhu predenaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, *annealing* pada suhu 44°C (12S rRNA) dan 47°C (ATP6) selama 45 detik, elongasi pada suhu 72°C selama 1 menit 30 detik, dan *post* elongasi pada suhu 72°C selama 5 menit. Reaksi ini dilakukan dalam mesin PCR sebanyak 35 siklus. Hasil PCR disekuensing menggunakan primer 12S rRNA dan ATP6 dengan kondisi suhu dan waktu yang sama seperti kondisi PCR. Hasil sekunsing gen 12S rRNA diperoleh urutan nukleotida sepanjang 713 bp dan pada gen ATP6 diperoleh urutan nukleotida sepanjang 601 bp dan 200 asam amino setelah disejajarkan berganda dengan spesies kuskus dan mamalia lainnya yang diambil dari *Genbank* dan selanjutnya dianalisa menggunakan MEGA versi 6.06.

Hasil analisis menggunakan gen penyandi 12S rRNA didapatkan 2 situs nukleotida dan pada gen penyandi ATP6 memiliki 3 situs nukleotida dan 2 situs asam amino yang berbeda pada sampel kuskus dengan *Ailurops ursinus* (*Genbank*). Jarak genetik berdasar sekuen nukleotida yang dianalisis dengan *Kimura 2-parameter* antara dua sampel kuskus dengan *Ailurops ursinus* (*Genbank*) sebesar 0,3% (12S rRNA) dan 0,5% (ATP6). Filogram menggunakan metode *Neighbour-Joining* berdasarkan hasil urutan nukleotida menunjukkan bahwa dua sampel kuskus merupakan satu cabang dengan *Ailurops ursinus* (*Genbank*). Kesimpulan dari penelitian ini adalah dua sampel kuskus yang berasal dari Sulawesi merupakan *Ailurops ursinus*.

Kata kunci : Kuskus, gen 12S rRNA, gen ATP6, *Ailurops ursinus*, sekuen DNA

ABSTRACT

MOLECULAR IDENTIFICATION OF CUSCUS (*Phalangeridae*) FROM SULAWESI BASED ON ENCODING GENE 12S ribosomal-RNA (12S rRNA) AND ATP Synthase Sub-unit 6 (ATP6)

Ratih Pangestika

Cuscus (*Phalangeridae*) is marsupial that protected in Indonesia based on Government Regulation of Republik Indonesia Number 7 1999. The information about the characteristic between each spesies based on molecular exploration is expected to assist in-situ and ex-situ conservation optimally. The main purpose of this research is to identify the molecular of cuscus from Sulawesi based on encoding gene 12S rRNA and ATP6.

The DNA samples were isolated from musculus bicep femoris of male cuscus and tail of female cuscus from Sangihe Island, Sulawesi. Amplification of 12S rRNA and ATP6 gene by PCR technique under condition of predenaturation 94°C for 5 minutes, denaturation 94°C for 30 seconds, annealing 44°C (12S rRNA) and 47°C (ATP6) for 45 seconds, elongation 72°C for 1 minute 30 seconds, and post elongation 72°C for 5 minutes. Those reactions were processed in PCR machine for 35 cycles. The result of PCR process were sequenced with 12S rRNA and ATP6 primers in the same condition of PCR process. The result of 12S rRNA gene sequence is obtained 713 base nucleotides and for ATP6 gene result 601 base nucleotides and 200 amino acids sequence after multiple aligned with other mammals which are taken from Genbank and then analyzed with MEGA version 6.06.

Result of analysis use 12S rRNA showed that are 2 different nucleotides and ATP6 have 3 different nucleotides and 2 amino acids between two samples and *Ailurops ursinus* (*Genbank*). Genetic distances of nucleotide sequence analyzed using Kimura 2-parameter between two samples of cuscus and *Ailurops ursinus* (*Genbank*) is 0,3% (12S rRNA) and 0,5% (ATP6). Construction of phylogenetic tree used Neighbour-Joining method based on nucleotide sequence was able to distinguish two samples of cuscus that closed to *Ailurops ursinus* (*Genbank*). The conclusion of this experiment is that two samples of cuscus from Sulawesi are *Ailurops ursinus*.

Keywords : Cuscus, 12S rRNA, ATP6, *Ailurops ursinus* (*Genbank*), DNA sequence.