

ANALISIS GENETIKA: SEBUAH CATATAN SINGKAT MENGENAI PENERAPANNYA PADA SUKU CERVIDAE (RUSA DAN KIJANG)

(Genetic Analysis: A Brief Note of Its Application on Family Cervidae (Deer and Muntjak))

IVAN YUSUFI NOOR¹ DAN ERNA SUZANNA²

¹Program Studi Konservasi Biodiversitas Tropika Sekolah Pascasarjana IPB

²Departemen Konservasi Sumber Daya Hutan dan Ekowisata, Fakultas Kehutanan IPB

Diterima 15 Februari 2009 / Disetujui 20 Maret 2009

ABSTRACT

This paper presents a brief note of genetically based study on Cervidae. Many genetically based studies were performed on Cervids in last 20 years, and those are about many species, aspects and objectives. Most of these study using genetic analysis as the basic methods, and those objectives are: (1) to reveal genetic variability among population or individuals; to determine sex, individual, subspecies or species; to perform phylogenetic relationship and evolution; and for forensics. The importance of those kind of studies are to reveal a variety of genetic informations that are relevant and usefull for population management and conservation. Using all of informations that are revealed from previous and recent study, it is possible to applying genetic analysis on Cervids of Indonesia. Genetic markers and methods that are necessary for these kind of study have been available, and the objects of study, such as 5 species of deer and muntjak of Indonesia, were ready to be explored.

Keywords: Cervidea, Genetic Analysis, Genetic Markers, Objectives and Methods

PENDAHULUAN

Keanekaragaman hayati dapat dipandang dalam tiga tingkatan: ekosistem, jenis dan gen. Pada tingkatan gen, keanekaragaman hayati berwujud variasi genetik yang terdapat pada kromosom setiap individu makhluk hidup, yang membawa berbagai macam sifat dan menentukan karakteristik individu atau kelompok makhluk hidup.

Sayangnya, selama ini manusia kurang menyadari bahwa variasi genetik adalah potensi sumber daya alam yang luar biasa besar manfaatnya. Akibatnya, aspek konservasi keanekaragaman genetik tidak banyak mendapat perhatian.

Bukan hanya itu, segala macam aktivitas pemanfaatan sumber daya alam selama ini, telah membawa dunia ke dalam krisis ekologi yang ditandai oleh kemerosotan kuantitas dan kualitas keanekaragaman hayati. Dalam peristiwa tersebut, variasi genetik ikut menurun bersama hilangnya sebagian individu atau jenis akibat pemanfaatan. Kehilangan variasi/keanekaragaman genetik pada gilirannya mengurangi kemampuan jenis untuk bertahan hidup dalam jangka panjang (*survival*), dan meningkatkan peluang kepunahannya. Situasi semacam itu, tentu saja akan membawa sumber daya genetik ke dalam krisis yang semakin dalam.

Dalam rangka mengatasi atau mengantisipasi krisis semacam itu, maka lahirlah apa yang dinamakan Konservasi Genetik. Tujuannya adalah mencegah kehilangan dan mengawetkan keanekaragaman genetik.

Konservasi Genetik menaruh perhatian terutama pada: (1) pemahaman atas aspek genetika dan proses evolusi serta ekologi yang dapat digunakan untuk memecahkan permasalahan-permasalahan konservasi, khususnya yang menyangkut jenis-jenis terancam punah serta populasi-populasi kecil; dan (2) penggunaan teknik molekuler (analisis genetika) untuk mempelajari atau menyelidiki lebih dalam tentang karakteristik genetika, sejarah, biologi dan proses-proses ekologi populasi. DeSalle and Amato (2004) menyatakan bahwa, pada umumnya, konservasi genetik fokus pada tiga isu utama yakni perkembangbiakan spesies tangkaran, per-masalahan batasan jenis dan forensik konservasi.

Perkembangan yang pesat dalam teknik-teknik molekuler (analisis genetika) sekitar dua puluh lima tahun belakangan telah membawa konservasi genetik ke tingkat pencapaian ilmu pengetahuan seperti sekarang ini. Penemuan metode-metode seperti elektroforesis dan penggandaan DNA melalui teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah jantung dari keberhasilan konservasi genetik, karena dengannya DNA-DNA dari berbagai jenis satwa liar yang terancam punah dapat disediakan dalam jumlah yang memadai untuk dianalisis. Demikian pula perkembangan Teknik Pengambilan Contoh yang Tidak Merusak (*Non-Invasive Sampling Techniques*) untuk mendapatkan sumber-sumber DNA dari jenis-jenis terancam punah yang sangat jarang dan sensitif (Taberlet & Luikart 1999), telah memberikan kontribusi yang sangat berarti dalam konservasi genetik, khususnya dalam analisis genetik.

Sebagai akibat dari perkembangan teknologi genetika molekuler, maka berbagai penelitian berbasis genetika pada berbagai satwa liar, khususnya jenis-jenis yang terancam punah, semakin marak. Semua itu tentunya dalam konteks konservasi: perlindungan, pengawetan dan pemanfaatan yang lestari dari jenis-jenis satwaliar dimaksud. Perkembangan pengetahuan berbasis genetika juga terjadi pada kelompok satwa dari famili Cervidae (rusa dan kijang). Alasannya adalah karena kelompok satwa ini memiliki arti penting baik dari sudut pandang konservasi keanekaragaman hayati maupun ekonomi (manfaat). Beberapa jenis dari Suku Cervidae adalah jenis-jenis yang secara global langka dan terancam punah; jenis-jenis satwa endemik, yang hanya terdapat di wilayah sebarannya sekarang; jenis-jenis yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena bagian-bagian tubuhnya (khususnya tanduk) bernilai sangat mahal dan dicari oleh banyak orang; sementara itu, kebanyakan jenis dari suku ini juga merupakan sumber pangan sehingga banyak diburu atau ditangkarkan oleh manusia. Karena arti penting itu maka Cervidae menjadi obyek yang sangat menarik untuk diteliti dan digali informasinya.

Tulisan ini dimaksudkan untuk mengungkapkan secara singkat dan padat berbagai aspek terkait penerapan analisis genetika pada suku Cervidae. Berbagai informasi tersebut nantinya akan dikaitkan dengan kemungkinan penerapan analisis genetika dalam konservasi jenis-jenis satwa rusa dan kijang yang ada di Indonesia.

ANALISIS GENETIKA PADA SUKU CERVIDAE

Famili Cervidae merupakan kelompok jenis yang sangat menarik minat manusia. Berbagai manfaat diperoleh manusia dari berbagai jenisnya. Namun demikian, akibat pemanfaatannya, banyak dari jenis-jenis ini yang terancam punah. Sekarang, karena potensi manfaat itu dan juga adanya ancaman kepunahan, berbagai upaya konservasi terhadap jenis-jenis dari Famili Cervidae ini semakin digalakkan.

Terhadap upaya konservasi itu, para ahli genetika populasi atau konservasi genetika memberikan sumbangan yang penting dengan berbagai studi yang mengungkap berbagai macam informasi genetik yang relevan dan berguna bagi upaya pengelolaan populasi dan konservasi jenis. Berikut ini akan disampaikan secara ringkas berbagai tujuan dan kepentingan, metode-metode serta penanda genetik yang digunakan dalam studi genetika dari jenis-jenis Cervidae.

Tujuan dan Kepentingan

Seiring dengan perkembangan yang pesat dari teknologi analisis genetika, berbagai studi terkait genetika atas jenis-jenis dari Suku Cervidae terus dikembangkan.

Tujuan studi-studi tersebut sangat beragam, dan sepiantas kelihatannya dilakukan untuk kepentingan mengembangkan ilmu pengetahuan semata. Namun demikian pada dasarnya semua itu bermuara pada satu kepentingan yakni pelestarian jenis-jenis dari suku tersebut, karena informasi-informasi yang diperoleh dari studi-studi itu – langsung ataupun tidak – sangat bermanfaat bagi upaya konservasi.

Galan *et al* (2003), misalnya, melakukan studi yang bertujuan mengembangkan metode atau teknik yang layak dipergunakan untuk membedakan jenis-jenis rusa di Eropa melalui analisis genetik dengan menggunakan DNA yang berasal dari rambut satwa. Hasil studi ini memberikan pengetahuan baru mengenai Teknik Pengambilan Contoh yang Tidak Merusak (*Non-Invasive Sampling Techniques*) dalam memperoleh sampel DNA dari satwaliar terancam punah sekaligus metode analisis genetiknya. Secara tidak langsung, hasil studi juga dapat dipergunakan untuk kepentingan mempelajari ekologi dari dua spesies yang hidup secara simpatrik, bahkan tanpa harus bertemu langsung dengan satwanya.

Tujuan lainnya dari studi genetika jenis Cervidae dikemukakan oleh Chiang *et al.* (2004). Dalam studinya, kelompok peneliti ini bertujuan mengungkap lebih banyak informasi genetik dari dua sub spesies kijang yakni kijang Cina dan kijang Formosa (Taiwan). Alasannya adalah satu-satunya informasi genetik yang tersedia saat itu hanyalah mengenai jumlah kromosom diploid kedua sub spesies tersebut yakni $2n=46$. Pengungkapan atas karakteristik genetik kedua jenis kijang tersebut selanjutnya membuktikan bahwa keduanya adalah dua sub spesies yang berbeda. Yang mengejutkan adalah adanya kemungkinan bahwa keduanya berasal dari nenek moyang yang berbeda (kijang Formosa lebih mirip kijang India) atau kemungkinan telah terjadi pola evolusi yang berbeda pada kedua jenis kijang yang diteliti. Dengan contoh penelitian Chiang *et al.* (2004), dapat disimpulkan bahwa analisis genetika dapat digunakan untuk kepentingan membedakan sub spesies, melihat kekerabatan antar spesies dan mempelajari proses spesiasi serta evolusi suatu jenis.

Di India, James *et al.* (2008) melakukan analisis genetik untuk tujuan membuktikan keberadaan spesies *Muntiacus putaoensis* di wilayah Aranuchal Pradesh, India. Sebelumnya, jenis ini ditemukan sebagai jenis yang baru di Myanmar, dan diperoleh informasi bahwa di wilayah Aranuchal Pradesh juga terdapat jenis baru ini. Karena jenis ini sukar dijumpai maka pembuktian dilakukan dengan tengkorak yang diduga sebagai jenis baru tersebut. Tetapi terdapat kesulitan identifikasi karena tengkorak itu mirip dengan kijang biasa/India (*Muntiacus muntjak*) yang hidup simpatrik dengan *Muntiacus putaoensis*. Oleh sebab itu, James *et al.* (2008) mengembangkan analisis genetik/molekuler yang dapat dengan pasti membedakan spesies.

Suatu studi genetika molekuler/analisis genetika juga dapat digunakan untuk tujuan membedakan jenis kelamin.

Salah satunya adalah yang dilakukan Han *et al* (2007) di Korea terhadap rusa roe Korea (*Capreolus pygargus tianschanicus*). Studi ini dilakukan dengan menggunakan gen penanda genetik spesifik jantan (*Sex Determining Region Y*) dan *Cytochrome b*. Dengan penanda ini, ternyata Han *et al.* (2008) juga dapat mengidentifikasi jenis untuk dapat membedakan rusa roe Korea dengan jenis rusa lainnya. Hal ini dimungkinkan karena salah satu penanda yakni *Cytochrome b* juga merupakan penanda genetik yang dapat memperlihatkan berbagai perubahan genetika (mutasi, delesi, insersi) yang terjadi pada makhluk hidup.

Di Jepang, Tamate *et al.* (2000) melakukan suatu studi yang bertujuan mengembangkan sejumlah penanda genetik yang dapat memberikan informasi mengenai variasi genetik pada rusa sika Jepang yang terancam punah akibat adanya fragmentasi habitat dan populasi-populasi kecil yang terisolasi. Untuk tujuan tersebut berbagai penanda genetik berupa lokus mikrosatelit polimorfik (memiliki variasi tinggi), yang sebelumnya telah diteliti dan digunakan dalam studi kelompok satwa Cervidae lainnya, dicobakan dalam penelitian terhadap sebuah populasi rusa sika Jepang di pulau kecil, Kinkazan. Hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa penanda mikrosatelit yang digunakan terbukti merupakan alat yang efektif untuk mengetahui struktur genetik rusa sika Jepang. Bukan hanya itu, penanda-penanda genetik yang digunakan ternyata memiliki kemampuan tinggi untuk analisis berbasis individu sehingga berguna untuk mengidentifikasi individu-individu.

Aspek lain yang terungkap dari studi ini adalah alela-alela mikrosatelit dari populasi Kinkazan ternyata masih memenuhi Hukum Keseimbangan Hardy-Weinberg walaupun ukuran populasinya kecil. Populasi Kinkazan ini juga menunjukkan bahwa keanekaragaman genetik dan heterozigositasnya tidak menurun. Semua informasi-informasi yang terungkap dari studi ini penting untuk mempelajari mekanisme yang mengontrol tingkat keanekaragaman genetik pada populasi satwa pulau.

Kepentingan praktis untuk konservasi jenis terancam punah kadangkala juga melandasi suatu studi genetika molekuler. Sebagai contoh, ketika Dinas Kehutanan Provinsi Anhui di Cina kesulitan dalam menentukan jenis Cervidae yang menjadi asal-usul daging dan bulu sitaan dari aktivitas perburuan liar, maka mereka meminta peneliti untuk mengidentifikasinya. Memenuhi permintaan ini Wu *et al.* (2006) melakukan studi genetika yang bertujuan untuk mengembangkan sepasang primer spesifik yang khusus digunakan untuk mengidentifikasi jenis rusa sika Jepang yang di China berstatus dilindungi tetapi banyak diburu

secara liar. Primer spesifik ini dinamakan *Sika Deer-Specific SCAR Primer* (MHL-U/MHL-D) yang masing-masing terdiri atas 18 basa primer dengan sekuen 5'-GCA GGA ACT GAG ATC TGG-3' and pasangannya 5'-CAG TGC GTA GAG ACT AAG-3'.

Primer spesifik ini membuat identifikasi jaringan dari rusa sika Jepang menjadi lebih mudah, lebih cepat dan lebih reliable/terpercaya. Keduanya menyediakan alat yang efektif untuk berbagai bentuk usaha konservasi seperti mendeteksi perburuan liar, atau untuk meng-identifikasi apakah ramuan tradisional China mengandung bahan yang berasal dari jaringan jenis satwa ini (Wu *et al.* 2006).

Perkembangan teknik biologi molekuler (analisis genetik) seperti Polymerase Chain Reaction (PCR) dan DNA Sequencing, telah memungkinkan studi genetika molekuler bagi jenis-jenis yang sudah punah dari fosil-fosilnya yang berupa tulang, gigi atau otak. Oleh sebab itu, analisis genetika dapat digunakan untuk kepentingan mengungkapkan sejarah keberadaan suatu jenis di suatu tempat di masa lalu, kekerabatan dan proses evolusinya.

Di Korea, suatu studi genetika semacam itu terhadap sisa-sisa tulang Cervidae telah dilakukan oleh Kang *et al.* (2007). Tujuannya adalah untuk memastikan jenis rusa apa yang ada di masa 500 – 900 SM di wilayah Jeju, Korea. Hasil penelitiannya mengungkapkan bahwa tulang-tulang yang diteliti berasal dari kelompok rusa yang termasuk ke dalam Sub Famili Caprioleinae dan secara genetik berkerabat dengan rusa roe Korea yang terdapat di Pulau Jeju dan Semenanjung Korea sekarang ini.

Jadi dari studi ini dibuktikan bahwa rusa roe Korea pernah hidup dan menghuni Pulau Jeju di masa lalu. Sebaliknya, studi ini tidak memberikan bukti bahwa rusa Sikka (dari Sub Famili Cervinae) pernah hidup di Pulau Jeju sekalipun beberapa catatan sejarah mengungkapkan keberadaannya. Dengan demikian, studi Kang *et al.* (2007) dapat memberikan sumbangan pengetahuan untuk memahami asal-usul dan hubungan kekerabatan antara jenis-jenis rusa yang hidup di Pulau Jeju sekarang dan di masa lalu. Dari sisi evolusi, studi ini mengungkap informasi bahwa rusa roe Korea yang hidup di Pulau Jeju berasal dari lebih dari satu leluhur (berdasarkan garis keturunan ibu/betina).

Selain contoh-contoh di atas, masih banyak studi atau penelitian yang melibatkan analisis genetika atau genetika molekuler dengan subyek atau obyek jenis-jenis satwa dari Suku Cervidae. Tabel 1 memperlihatkan berbagai penelitian berbasis analisis genetika pada Suku Cervidae yang sejauh ini dapat penulis rangkum.

Tabel 1. Berbagai Studi Berbasis Genetika pada Famili Cervidae beserta Tujuan dan Kepentingannya

Peneliti dan Tahun	Judul Penelitian	Tujuan/Kepentingan
Lima-de-Faria <i>et al.</i> (1986)	DNA Cloning and Hybridization in Deer Species Supporting the Chromosome Field Theory.	<ul style="list-style-type: none"> - Memperoleh informasi tentang tingkat homologi dari sekuen tetap dari setiap jenis yang diteliti sebagai penciri kelompoknya - Mengkonfirmasi teori kromosom yang menyatakan bahwa setiap sekuen DNA memiliki teritori optimal dan cenderung menempati tempat yang sama dalam kromosom
Emerson & Tate (1993)	Genetic Analysis of Evolutionary Relationships Among Deer (Subfamily Cervinae).	<ul style="list-style-type: none"> - Menyusun evolusi hubungan antara 10 taxa pada 4 genera dalam sub famili Cervinae berdasarkan tipe elektroforesis 22 jenis protein - Mengakhiri perdebatan tentang evolusi hubungan antar <i>C. elaphus</i> and <i>C. nippon</i> subspecies
Lan <i>et al.</i> (1995)	Phylogeny of <i>Muntiacus</i> (Cervidae) Based on Mitochondrial DNA Restriction Map.	Menyusun hubungan filogenetik (kekerabatan) antara jenis-jenis kijang
Maudet <i>et al.</i> (1998)	Study of Genetic Diversity in a Rusa Deer (<i>Cervus timorensis russa</i>) population in Mauritius Using Derived Bovine Microsatellites	<ul style="list-style-type: none"> - Menguji coba penanda genetik mikrosatelit pada keluarga Bovine untuk mempelajari polimorfisme pada rusa jawa - Memberikan perbaikan pada penangkaran rusa melalui skema-skema pengembangbiakan yang efisien
Su <i>et al.</i> (1999)	Phylogenetic Study of Complete Cytochrome <i>b</i> Genes in Musk Deer (Genus <i>Moschus</i>) Using Museum Samples.	<ul style="list-style-type: none"> - Menentukan sekuen lengkap gen cytochrome <i>b</i> mitokondria dari semua jenis rusa musk - Mengembangkan analisis genetik dengan menggunakan sumber DNA dari sampel Museum - Merekonstruksi sejarah hubungan filogenetik
Kholodova <i>et al.</i> (2000)	The Use of Fur Collected in the Field for Studying the Genetic Diversity of Wild Ungulates	<ul style="list-style-type: none"> - Mengembangkan metode analisis genetik dan teknik non-invasive sampling untuk memperoleh DNA <i>Cervus elaphus</i> - Menganalisis keanekaragaman genetik <i>Cervus elaphus</i> melalui berbagai sumber DNA
Wang & Lan (2000)	Rapid and Parallel Chromosomal Number Reductions in Muntjac Deer Inferred from Mitochondrial DNA Phylogeny	<ul style="list-style-type: none"> - Memperbaharui informasi tentang filogenetik dari kijang India/Muncak - Menganalisis evolusi karyotypes dari kijang India - Analisis filogenetik berbasis sekuen DNA pada gen ND4L dan ND4 Mitokondria
Kim <i>et al.</i> (2001)	Molecular Discrimination of <i>Cervidae</i> Antlers and <i>Rangifer</i> Antlers	<ul style="list-style-type: none"> - Mengontrol kualitas atas produk obat tradisional dari tanduk rusa - Mengidentifikasi sumber atau asal usul jenis satwa yang menghasilkan produk tersebut.
Poetsch (2001)	Analysis of Microsatellite Polymorphism in Red Deer, Roe Deer, and Fallow Deer – Possible Employment in Forensic Applications	<ul style="list-style-type: none"> - Mengembangkan metode identifikasi individu untuk kepentingan forensik dalam mendukung upaya konservasi - Menguji berbagai penanda mikrosatelit dari reideer untuk digunakan dalam analisis sekuen mikrosatelit rusa merah, rusa roe dan rusa fallow.
Polziehn <i>et al.</i> (2001)	Microsatellite Analysis of North American Wapiti (<i>Cervus elaphus</i>) Populations	<ul style="list-style-type: none"> - Mengetahui keanekaragaman genetik pada populasi-populasi wapiti dengan menggunakan penanda genetik mikro-satelit - Memberikan bukti-bukti tentang status sub spesies yang ada - Melihat perbedaan-perbedaan (jarak) genetik antar populasi untuk menentukan hubungan kekerabatannya

Peneliti dan Tahun	Judul Penelitian	Tujuan/Kepentingan
Bonnet <i>et al.</i> (2002)	Efficiency of Semi-automated Fluorescent Multiplex PCRs with 11 Microsatellite Markers for Genetic Studies of Deer Populations	<ul style="list-style-type: none"> - Mengembangkan metode yang berguna bagi studi struktur dan keanekaragaman genetik populasi pada 4 jenis rusa tropis dan jenis-jenis dari genus <i>Cervus</i> lainnya. - Mengujicoba penanda genetik mikrosatelit dari Bovine dan Ovine pada analisis genetik jenis-jenis rusa - Menguji efisiensi metode studi genetik
Li <i>et al.</i> (2002)	Isolation and Identification of a Novel Satellite DNA Family Highly Conserved in Several Cervidae Species	Mengisolasi dan mengidentifikasi penanda genetik baru (satellite IV DNA) yang khas untuk beberapa spesies Cervidae
Williams <i>et al.</i> (2002)	Microsatellite Variation in The Reintroduced Pennsylvania Elk Herd	Memeriksa konsekuensi program relokasi dengan mempelajari variasi genetik
Yi <i>et al.</i> (2002)	[12S rRNA, Cytochrome b and MDR1 Gene DNA Sequence and Phylogenetic Evolution of Muntiacus	<ul style="list-style-type: none"> - Menganalisis hubungan filogenetik dan klasifikasi genus <i>Muntiacus</i> - Mempelajari proses evolusi dari genus <i>Muntiacus</i>/Kijang
Hundertmark <i>et al.</i> (2003)	Mitochondrial Phylogeography of Moose (<i>Alces alces</i>) in North America	<ul style="list-style-type: none"> - Memprediksi model ekspansi wilayah (penyebaran) - Menentukan apakah pola variasi genetik mendukung keberadaan 4 sub spesies
Feulner <i>et al.</i> (2004)	Mitochondrial DNA and Microsatellite Analyses of The Genetic Status of The Presumed Sub-species <i>Cervus elaphus montanus</i> (Carpathian red deer)	<ul style="list-style-type: none"> - Mempelajari karakteristik genetik populasi rusa merah Carpathian untuk menentukan-nya sebagai sub spesies tersendiri (<i>Cervus elaphus montanus</i>). - Menegaskan status sub spesies sebagai salah satu populasi yang tersisa dari jenisnya yang perlu mendapatkan perhatian khusus dalam konservasi
Hartman & Scherthan (2004)	Characterization of Ancestral Chromosome Fusion Points in The Indian Muntjac Deer	<ul style="list-style-type: none"> - Merancang strategi PCR yang mencakup fragmen DNA yang mengandung telomere dan pengulangan sekuen (satelit) DNA - Mengembangkan analisis genetik untuk mempelajari proses evolusi kromosom yang langka yang umum terjadi pada kijang
Pitra <i>et al.</i> (2004)	Evolution and Phylogeny of Old World Deer	<ul style="list-style-type: none"> - Membuat hubungan filogenetik antara jenis-jenis rusa dunia lama dengan menggunakan cytochrome b sebagai penanda molekuler - Mempelajari evolusi homoplastik dari morfologi, geografi, ekologi dan perilaku pada kelompok Cervinae (rusa dunia lama)
Thevenon <i>et al.</i> (2004)	Microsatellite Analysis of Genetic Diversity of the Vietnamese Sika Deer (<i>Cervus nippon pseudaxis</i>)	<ul style="list-style-type: none"> - Mempelajari keanekaragaman genetik dan struktur populasi dengan menggunakan penanda mikrosatelit - Mengevaluasi konsekuensi jumlah individu yang terbatas (kemungkinan inbreeding) - Membandingkan keanekaragaman genetik pada satwa tangkaran tradisional di Vietnam dengan kebun binatang di Eropa. - Menentukan fokus program konservasi bagi jenis ini.
Webley <i>et al.</i> (2004)	Low Levels of Genetic Variation within Introduced Javan Rusa Deer (<i>Cervus timorensis russa</i>) in Australia.	<ul style="list-style-type: none"> - Mengungkapkan tingkat keanekaragaman genetik dan kemungkinan erosi genetik dari populasi rusa yang berkembang dari 7 ekor satwa hasil introduksi - Mengidentifikasi lokus mikrosatelit polimorfis yang dapat membantu program pengembangbiakan komersial dan manajemen populasi alam.

Peneliti dan Tahun	Judul Penelitian	Tujuan/Kepentingan
Wu <i>et al.</i> (2004)	Two Genetically Distinct Units of The Chinese Sika Deer (<i>Cervus nippon</i>): Analyses of Mitochondrial DNA Variation	<ul style="list-style-type: none"> - Menyelidiki keanekaragaman genetik, struktur populasi dan aliran gen pada populasi rusa sika China dengan menganalisis mtDNA - Mengidentifikasi kelompok yang secara filogenetik berbeda
Fernandez & Vrba (2005)	A complete Estimate of The Phylogenetic Relationships in Ruminantia: a Dated Species-level Super-tree of The Extant Ruminants	<ul style="list-style-type: none"> - Membuat hubungan filogenetik lengkap dari 197 spesies ruminansia yang ada sekarang dan yang sudah punah melalui informasi morfologi, perilaku dan molekuler - Menyediakan pohon filogenetik (<i>supertree</i>) yang dapat menjadi kerangka acuan yang berguna bagi studi evolusi dan perbandingan yang terkait ruminansia
Kuznetsova <i>et al.</i> (2005)	Molecular Phylogeny of Deer (Cervidae: Artiodactyla)	<ul style="list-style-type: none"> - Menganalisis sekuen gen <i>12S</i> and <i>16S</i> rRNA (2445 bp) dari mitokondria dan gen betaspectrin dari inti (828 bp) kelompok Cervidae dan beberapa artiodaktil lainnya - Merekonstruksi kembali stuktur filogenetik dari famili Cervidae
Wu & Fang (2005)	Mitochondrial DNA Genetic Diversity of Black Muntjac (<i>Muntiacus crinifrons</i>), An Endangered Species Endemic to China	<ul style="list-style-type: none"> - Menyelidiki keanekaragaman genetik pada kijang hitam China melalui penanda genetik mtDNA - Memperbaiki program pengembangbiakan untuk mencegah potensi tekanan inbreeding
Randi <i>et al.</i> (2006)	A Mitochondrial DNA Control Region Phylogeny of the Cervinae: Speciation in <i>Cervus</i> and Implications for Conservation	<ul style="list-style-type: none"> - Menduga hubungan filogenetik pada 25 jenis dari Sub Famili Cervinae melalui penanda genetik mtDNA CR. - Mempelajari proses spesiasi pada genus <i>Cervus</i> dan implikasi konservasinya - Membuktikan bahwa variasi sekuen dari mtDNA CR sangat berguna untuk menentukan spesies dan batasan sub spesies serta menentukan lokasi tempat satwa berasal.
Leite <i>et al.</i> (2007)	Transferability of Microsatellite Loci from Cervidae Species to The Endangered Brazilian Marsh Deer, <i>Blastocerus dichotomus</i> .	<ul style="list-style-type: none"> - Mempelajari dna memahami stuktur genetik dan aliran gen pada populasi rusa marsh yang tersisa - Memperoleh informasi yang berguna untuk mengembangkan strategi konservasi jenis tsb. - Mengujicobakan 38 penanda genetik mikrosatelit pada 4 jenis Cervidae lain untuk analisis genetik rusa marsh
Meredith <i>et al.</i> (2007)	Microsatellite Analysis of Three Sub Species of Elk (<i>Cervus elaphus</i>) in California	<ul style="list-style-type: none"> - Mengevaluasi perbedaan genetik diantara tiga sub spesies elk - Menentukan status sub spesies - Membuktikan dugaan adanya interbreeding antar sub spesies - Menilai resiko dan derajat inbreeding pada populasi ketiga sub spesies dan membuat rekomendasi untuk monitoring dan pengelolaan populasi
Rodrigues <i>et al.</i> (2007)	Genetic Diversity of Two Brazilian Populations of the Pampas Deer (<i>Ozotoceros bezoarticus</i> , Linnaeus 1758)	<ul style="list-style-type: none"> - Menyediakan pengetahuan yang berguna untuk studi taksonomi dan genetika jenis ini di masa datang - Memantau variasi genetik dan mengembangkan pedoman pengelolaan untuk konservasi jenis satwa ini. - Mengetahui struktur dan keanekaragaman genetik pada rusa Pampas
Wada, <i>et al.</i> (2007)	The complete Nucleotide Sequence of Mitochondrial Genome in the Japanese Sika deer (<i>Cervus nippon</i>),	<ul style="list-style-type: none"> - Menentukan sekuen lengkap nukleotida genom mitokondria (D-loop) - Menganalisis hubungan filogenetik antara Cervidae dengan Bovidae - Menyediakan data dasar genetik bagi program pengembangbiakan

Peneliti dan Tahun	Judul Penelitian	Tujuan/Kepentingan
	and a Phylogenetic Analysis Between Cervidae and Bovidae	
Wu <i>et al.</i> (2007)	Microsatellite Analysis of Ge-netic Variation and Population Subdivision for the Black Muntjac, <i>Muntiacus crinifrons</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Mengembangkan penyelidikan keanekaragaman genetik pada kijang hitam China pada penanda genetik mikrosatelit - Memperbaiki program pengelolaan jenis dan pengembang-biakan/penangkaran
Lindsay & Belant (2008)	A Simple and Improved PCR-based Technique for White-tailed Deer (<i>Odocoileus virginianus</i>) Sex Identification	Mengembangkan dan menyediakan teknik yang siap pakai, sederhana dan terpercaya untuk mengidentifikasi jenis kelamin individu dari contoh jaringan rusa yang tidak diketahui jenisnya
Zhang <i>et al.</i> (2008)	Isolation and Characterization of Eight Microsatellite Loci for The Vulnerable Hainan Eld's Deer (<i>Cervus eldi hainanus</i>) in China	<ul style="list-style-type: none"> - Mengisolasi dan menentukan karakteristik dari 8 penanda genetik mikrosatelit dari rusa eld Hainan yang terancam punah - Mengembangkan analisis genetik rusa eld Hainan agar informasi genetik dapat memberikan kontribusi dalam upaya konservasinya

Metode-metode

Analisis genetika adalah sebuah proses, oleh karena itu aktivitas ini terdiri atas serangkaian kegiatan. Secara umum, kegiatan-kegiatan dalam analisis genetika meliputi mengumpulkan bahan yang menjadi sumber DNA, menyimpan dan membawanya agar tidak mengalami kerusakan, mengekstraksi DNA dari bahan tadi, menggandakan (amplifikasi) dan memurnikan DNA agar dapat dianalisis serta kemudian menerapkan teknik-teknik sekuensing, pemotongan dengan enzim restriksi, fluoresensi atau yang lainnya sesuai dengan tujuan analisis genetiknya. Tahap terakhir adalah kegiatan menganalisis hasil-hasil yang diperoleh untuk mendapatkan interpretasi dan kesimpulan.

Setiap tahapan sebagaimana disebutkan di atas memiliki metode tersendiri. Metode tersebut pada umumnya baku, karena begitu suatu metode selesai digunakan dengan berhasil dalam sebuah penelitian maka metode tersebut akan dijadikan acuan bagi penelitian yang lain. Sebagai contoh, dalam penelitiannya, Kang *et al.* (2007) menggunakan metode ekstraksi DNA dari Graham (1978) dan Maniatis *et al.* (1982), serta metode pemurnian DNA dari Sambrook *et al.* (1989). Contoh lain adalah ketika Rodrigues *et al.* (2007) menggunakan metode standard phenol-chloroform dari Sambrook and Russel (2001) untuk mengekstraksi DNA.

Sebuah standar metode atau prosedur kerja juga dapat muncul dari pembuat mesin PCR atau perancang primer. Namun demikian yang pasti adalah setiap penelitian akan mengungkapkan metode apa yang diacu atau yang

digunakan sebagai standar. Pada beberapa studi, seorang peneliti bahkan bisa melakukan modifikasi atas metode atau prosedur kerja yang sudah ada, dan hal itu bisa saja menjadi metode yang baru, yang kelak akan menjadi acuan pula.

Dalam konteks metode, ada hal menarik yang perkembangannya sering menjadi perhatian yakni penggunaan metode/teknik pengambilan contoh yang tidak merusak (*Non-Invasive Sampling Techniques*) untuk mendapatkan bahan-bahan yang mengandung DNA. Sebagaimana diketahui, pada umumnya suatu analisis genetika populasi satwaliar yang terancam punah memerlukan sejumlah besar jaringan satwa dalam keadaan segar, yang berarti langsung dari mahluk yang masih hidup. Akibatnya, peneliti seringkali harus membunuh atau menangkap satwanya untuk mendapatkan jaringan yang masih segar. Cara pengambilan contoh semacam ini sangat mengganggu atau merusak, terlebih bagi satwa-satwa berukuran kecil atau sensitif. Apalagi apabila cara seperti ini harus dilakukan pada jenis-jenis terancam punah yang populasinya sangat sedikit. Bagi satwaliar yang terancam punah, yang jumlahnya jarang dan bersifat sensitif, metode yang merusak tidak layak dan tidak tepat dilakukan karena satwanya sulit ditangkap dan mengandung resiko cedera atau kematian bagi satwa target (Piggott & Taylor 2003).

Oleh sebab itu, para ilmuwan genetika dituntut untuk mengembangkan suatu teknik atau metode yang tidak merusak yang sering disebut Teknik Pengambilan Contoh yang Tidak Merusak (*Non-Invasive Sampling Techniques*). Teknik ini tidak harus menangkap, membunuh, mengganggu, bahkan kadang-kadang tidak perlu bertemu atau

mengamati satwanya. Sekarang teknik ini menjadi teknologi baru yang menarik dan telah diaplikasikan di seluruh dunia. Bagi jenis-jenis yang proses penangkapan tidak memungkinkan, maka teknik ini penting dan satu-satunya yang dapat dipilih untuk mengumpulkan informasi mengenainya. Banyak penelitian di Australia terhadap beraneka jenis satwa yang terancam punah dan sensitif (tidak mudah dilihat) dilakukan dengan berhasil dengan menggunakan metode ini. Sekarang, sudah terbentuk pendapat umum bahwa teknik *non-invasive sampling* sama potensialnya dengan penggunaan sampel darah atau biopsi.

Dalam studi genetika satwa-satwa dari famili Cervidae, teknik *Non-Invasive Sampling Techniques* masih jarang digunakan. Jaringan hewan segar seperti darah, kulit, daging, masih tetap menjadi sumber DNA yang umum digunakan dalam penelitian, sehingga penangkapan satwa secara langsung menjadi hal yang umum dilakukan (Tamate *et al.* 2000; Wu *et al.* 2006; Rodrigues *et al.* 2007), walaupun dalam beberapa penelitian, satwa yang digunakan berasal dari kebun binatang atau penangkaran (Chiang *et al.* 2008; Thevenon *et al.* 2004; Maudet *et al.* 1998). Selain itu, DNA yang digunakan dalam studi juga seringkali berasal dari satwa buruan atau kerangka (sisa-sisa) satwa yang telah mati, seperti bulu, kulit, tulang atau tengkorak atau bahkan bubuk dari tanduk (James *et al.* 2008; Han *et al.* 2007; Kang *et al.* 2007; Meredith *et al.* 2007; Kim *et al.* 2001).

Hanya sedikit, studi atau penelitian yang mengusung tema ini; beberapa diantaranya adalah Galan *et al.* (2005) yang menggunakan sumber DNA berupa rambut yang ditinggal satwa di bekas tempat tidurnya, dan Huber *et al.* 2002 (dalam Galan *et al.* 2005) yang menggunakan sampel kotoran untuk mengidentifikasi jenis kelamin. Jejak seperti rambut dan kotoran merupakan sumber data yang sangat berguna bagi *non-invasive sampling* dan dapat memberikan informasi pada tingkat spesies, populasi atau individu.

Ketika jenis yang sangat berkerabat dekat hidup dalam wilayah yang tumpang tindih, maka sangat penting untuk memiliki teknik yang *reliable* untuk membedakan mereka dengan menggunakan sampel kotoran atau rambut. Perkembangan terbaru memungkinkan analisis genetika dengan menggunakan sampel DNA yang sangat sedikit dan dapat diambil dari sisa-sisa sel yang ditinggalkan satwa selama aktivitas sehari-harinya.

Penanda Genetik

Penanda genetik (*genetic marker*) adalah suatu bagian (fragmen) dari keseluruhan rangkaian gen (genom) yang memiliki karakteristik sekuen basa DNA khas, yang dapat memberikan petunjuk tentang sifat-sifat tertentu dari suatu individu atau kelompok makhluk hidup atau proses-proses biologi (evolusi) yang dialaminya. Dengan mempelajari karakteristik dari suatu penanda genetik, dapat diungkap berbagai macam hal misalnya hubungan kekerabatan antara makhluk hidup, variasi/ keanekaragaman genetik pada

berbagai tingkatan (individu, populasi), terjadinya perubahan genetik (mutasi insersi, delesi), bahkan asal-usul makhluk hidup atau bagian-bagiannya.

Dalam konteks analisis genetika pada suku Cervidae berbagai penanda genetik sudah digunakan. Beberapa diantaranya spesifik untuk kelompok Cervidae, sementara yang lainnya tidak. Penanda genetik *mitochondrial DNA* (*mtDNA*) seperti *D-loop* dan *Cytochrome b* adalah penanda yang bersifat umum dan tidak hanya digunakan untuk analisis genetika suku Cervidae. Kedua penanda genetik tersebut umumnya digunakan untuk mengidentifikasi spesies atau sub spesies serta menyusun hubungan kekerabatan (filogeni) antar kelompok satwa (Kim *et al.* 2001; James *et al.* 2008).

Penggunaan *D-loop* dan *Cytochrome b* untuk kepentingan di atas didasari oleh karakteristik khas dari wilayah gen tersebut. Bagian ini dipercaya sebagai tempat dimana perubahan genetik (pada urutan basa DNA) seperti mutasi, insersi dan delesi terjadi secara intensif. Perubahan genetik tersebut membawa individu atau populasi ke dalam proses evolusi, menjadi spesies lain atau sub spesies lain. Pada prinsipnya, dengan memperhatikan karakter sekuen basa DNA spesifik pada kedua penanda genetik tersebut maka kita bisa membedakan satu spesies dengan spesies lainnya, atau satu sub spesies dengan sub spesies lainnya.

Selain *D-loop* dan *Cytochrome b*, masih ada bagian lain dari mtDNA yang sering digunakan sebagai penanda genetik yakni fragmen gen yang dinamakan 12S rRNA, 16S rRNA, ND4L dan ND4. Penanda genetik ini digunakan untuk menganalisis genetika jenis-jenis dari genus *Muntiacus*/kijang (Wang & Lan 2000; Shukla *et al.* 2001; James *et al.* 2008) dan juga rusa (Kim *et al.* 2001).

Khusus untuk *Cytochrome b*, yang berasal dari mitokondria, penanda genetik ini juga sangat berguna dalam analisis genetika yang bertujuan untuk menentukan jenis kelamin. Kegunaan tersebut sangat terkait dengan sifat dari mitokondria tempat penanda ini berasal. Mitokondria adalah tempat di mana DNA/kromosom berada dalam kondisi haploid dan berasal hanya dari garis keturunan ibu (betina). Sedangkan untuk mengidentifikasi jenis kelamin jantan pada Cervidae, digunakan sekuen nukleotida gen penanda spesifik kelamin jantan yang dinamakan *Sex Determining Region Y (SRY)* (Han *et al.* 2007). Dengan demikian, untuk kepentingan mengidentifikasi jenis kelamin satwa dari Suku Cervidae, sudah ditemukan penanda genetik yang sesuai.

Walaupun pada umumnya pembedaan sub spesies dilakukan dengan penanda genetik mtDNA CR seperti *D-loop* atau *Cytochrome b*, tetapi Chiang *et al.* (2004) juga telah menemukan bahwa ada penanda genetik khas Cervidae yang dapat digunakan untuk kepentingan membedakan sub spesies. Penanda genetik tersebut disebut *Cervid Satellite I DNA*, dan perbedaan sekuen mikrosatelit (perulangan basa DNA) pada penanda genetik tersebut akan

terlihat pada dua sub spesies yang berbeda. Tidak hanya itu, *Cervid Satellite I DNA* ternyata juga dapat digunakan untuk memetakan jalur evolusi karyotipe.

Pada kebanyakan analisis genetika pada Cervidae, penanda mikrosatelit adalah yang paling banyak digunakan untuk mempelajari variasi genetik. Lokus-lokus mikrosatelit yang tersebar secara acak dalam genom bekerja sebagai penanda genetik yang efektif. Penanda tersebut digunakan untuk menentukan silsilah, keanekaragaman genetik dan struktur populasi serta masih banyak tujuan lainnya (Xu *et al.* 2001).

Penanda mikrosatelit ada yang memang spesifik untuk Cervidae, tetapi ada juga yang diturunkan dari kelompok lain seperti Bovine, Ovine dan Caprine. Xu *et al.* (2001) mengungkapkan bahwa ada sekitar 200 mikrosatelit yang ditemukan pada Cervidae yang diturunkan dari ketiga kelompok satwa di atas. Maudet *et al.* (1998) menggunakan 9 mikrosatelit yang diturunkan dari Bovine, rusa sika dan rusa merah untuk analisis genetika rusa jawa (*Cervus timorensis*). Tamate *et al.* (2000), dalam penelitiannya telah menggunakan 36 penanda mikrosatelit, dan 5 diantaranya adalah yang memang berasal dari Cervidae. Hanya saja karena penelitiannya ditujukan untuk analisis genetika rusa sika (*Cervus nippon*), maka hanya 17 penanda mikrosatelit yang terbukti efektif untuk mengungkap struktur genetik rusa sika. Bahkan, penanda genetik tersebut dapat digunakan untuk analisis berbasis individu se-hingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi individu.

Walaupun Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) adalah penanda genetik yang paling awal dikenal dalam studi genetika bukan berarti penanda ini ketinggalan zaman. Dalam konteks untuk melihat dan membandingkan keanekaragaman genetik dua populasi dari suatu jenis, RAPD masih layak untuk digunakan; Rodrigues *et al.* (2007) menggunakan penanda genetik ini dalam mempelajari keanekaragaman genetik rusa Pampas (*Ozotoceros bezoarticus*), salah satu rusa Neotropis yang paling terancam punah, di Brazil.

KEMUNGKINAN PENERAPAN ANALISIS GENETIKA PADA JENIS-JENIS CERVIDAE DI INDONESIA

Indonesia memiliki setidaknya 5 jenis satwa yang termasuk dalam suku Cervidae. Kelimanya terdiri atas 2 jenis dari genus *Cervus* (*Cervus unicolor*/rusa sambar dan *C. timorensis*/rusa jawa), 1 jenis dari genus *Axis* (*Axis kuhlii*/rusa bawean) dan 2 jenis dari genus *Muntiacus* (*Muntiacus muntjak*/kijang dan *M. atherodes*/kijang kuning Kalimantan). Kecuali kijang kuning Kalimantan, keempat jenis lainnya termasuk satwa liar yang terancam punah dan dilindungi undang-undang di Indonesia. Dua diantara kelima jenis tersebut dikategorikan endemik, yakni rusa

Bawean yang di dunia ini hanya terdapat di Pulau Bawean dan kijang kuning Kalimantan yang hanya terdapat di Pulau Kalimantan.

Keberadaan kelima jenis satwa yang berstatus terancam punah atau endemik ini tentunya membuka kesempatan bagi studi-studi atau penelitian terkait genetika. Apalagi upaya-upaya konservasi jenis saat ini sangat memerlukan berbagai informasi tentang genetika baik populasi maupun individu (DeSalle dan Amato 2004). Beberapa studi/penelitian berbasis genetika atas jenis-jenis tersebut telah dilakukan di Indonesia (Thohari *et al.* 1993; Suzanna 1999). Namun demikian, masih banyak permasalahan-permasalahan di bidang konservasi yang memerlukan data dan informasi genetika populasi sehingga studi genetika masih sangat dibutuhkan dan perlu dilakukan lebih intensif.

Usaha pelestarian secara *eks-situ* berupa penangkaran adalah salah satu bidang yang sangat memerlukan studi genetika. Saat ini sudah banyak penangkaran-penangkaran komersial satwa rusa di Indonesia. Aspek genetika populasi pada umumnya belum mendapatkan perhatian dalam mengelola populasi satwa tangkaran. Demikian pula permasalahan seperti tekanan *inbreeding* atau penurunan variabilitas genetik yang dapat membawa usaha penangkaran pada kemungkinan kerugian, belum sepenuhnya dipahami oleh para penangkar. Saat ini, perhatian usaha penangkaran hanya pada mengembang-biakan sebanyak-banyaknya satwa yang ditangkarkan.

Permasalahan lain dalam konservasi jenis-jenis Cervidae di Indonesia adalah perburuan liar dan perdagangan ilegal satwa dan bagian-bagiannya. Dalam konteks permasalahan itu, penegak hukum biasanya mengalami kesulitan dalam proses hukum akibat tidak dapat memberikan bukti yang meyakinkan kepada jaksa atau pengadilan mengenai jenis-jenis satwa liar apa yang menjadi sumber dari bagian-bagian satwaliar atau produk yang berasal dari satwaliar yang menjadi barang bukti tindak pidana. Di sini ada peluang bagi studi genetika molekuler (analisis genetika) untuk membantu menyediakan bukti-bukti yang kuat mengenai penentuan jenis. Di Indonesia, situasi semacam ini sering terjadi dalam perdagangan ilegal daging rusa (*Cervus timorensis* dan *C. Unicolor*) serta kijang (*Muntiacus muntjak* dan *M. Atherodes*).

Terkait jenis kijang Indonesia (*Muntiacus muntjak* dan *M. atherodes*), ada permasalahan yang potensial dapat diselesaikan dengan studi genetika molekuler/analisis genetik. Permasalahan tersebut berkaitan dengan status dari kijang kuning Kalimantan, khususnya yang ada di Provinsi Kalimantan Selatan. Selain keberadaannya yang menjadi kontroversi, terdapat pertentangan mengenai apakah kijang kuning Kalimantan merupakan sub spesies dari kijang biasa atau spesies tersendiri (DSC 1996). Sebagai sub spesies, selama ini ini kijang kuning dinamakan *Muntiacus muntjak*

pleiharicus. Nama sub spesies *pleiharicus* diberikan sesuai nama daerah di Kalimantan Selatan, yakni Pleihari, dimana jenis ini pada awalnya diketahui. Sementara itu, sebagai jenis tersendiri, kijang kuning Kalimantan diberi nama ilmiah *Muntiacus atherodes* atau bornean yellow muntjak. Jenis ini dikategorikan sebagai jenis yang endemik Kalimantan dan berstatus *Least Concern* (IUCN Red Data Book). Status tersebut menunjukkan bahwa informasi tentang jenis tersebut memang sangat sedikit, sehingga studi genetika menjadi penting untuk meningkatkan informasi mengenainya.

Penelitian berbasis genetika terkait genus *Muntiacus* sudah banyak dilakukan (Lan *et al.* 1995; Chiang *et al.* 2004; Wu & Fang 2005; Wu *et al.* 2007). Metodologi dan penanda genetik yang digunakan pada studi-studi dimaksud dapat dijadikan acuan dalam studi terhadap jenis kijang kuning Kalimantan. Studi semacam itu akan lebih memantapkan struktur filogenetik dari genus *Muntiacus* secara khusus, dan famili Cervidae secara umum.

Peluang untuk melakukan studi genetika juga muncul dari jenis rusa bawean (*Axis kuhlii*) yang sangat endemik karena hanya ada di Pulau Bawean. Dari jenis ini berbagai aspek/topik dapat diteliti, karena memang informasi berbasis genetika dari jenis ini masih sangat sedikit. Aspek-aspek yang dapat diungkap adalah apakah dengan populasi tertutup di Pulau Bawean dan jumlah populasi yang ada sekarang jenis ini mengalami erosi genetik atau tekanan *inbreeding*; bagaimana variasi genetik yang terdapat dalam populasi rusa Bawean; apakah dalam populasi tertutup semacam itu terbentuk subspecies-sub spesies; bagaimana proses evolusi yang dialami populasinya; bagaimana hubungan kekerabatan-nya (filogenetik) dengan jenis-jenis rusa lain dari genusnya di luar Indonesia dan secara khusus dengan Cervidae lain yang ada di Indonesia dan dunia.

Dengan penyebarannya yang relatif luas di Indonesia, jenis-jenis seperti *Cervus timorensis*, *C. Unicolor* dan *Muntiacus muntjak*, mungkin saja memiliki sub-sub spesies karena kondisi alam wilayah Indonesia memang memberikan kemungkinan untuk terjadinya isolasi-isolasi geografi terhadap populasi yang dapat membawa jenis-jenis ke arah spesiasi. Situasi semacam ini membuka peluang untuk mempelajari keberadaan berbagai sub spesies yang mungkin ada pada setiap jenis tersebut dan sekaligus segala macam karakteristik terkait genetiknya.

PENUTUP

Memperhatikan uraian singkat di atas, terlihat peluang untuk melakukan studi berbasis genetika atas jenis-jenis dari famili Cervidae sangat terbuka bagi siapa saja. Secara teknis, analisis genetikapun sangat mungkin dilakukan. Metode sudah banyak tersedia, penanda molekuler serta primer-primer yang dapat digunakanpun sudah banyak yang

diketahui. Referensi-referensi sebagaimana dikemukakan dalam tulisan ini dapat dijadikan bahan masukan bagi siapa saja yang berminat dalam studi genetika tentang Cervidae. Bahkan metode-metode, primer-primer dan penanda-penanda genetik baru bisa saja ditemukan dalam studi-studi yang nantinya akan dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bonnet, A., S. Thévenon, F. Maudet and J.C. Maillard. 2002. Efficiency of semi-automated fluorescent multiplex PCRs with 11 microsatellite markers for genetic studies of deer populations. *Animal Genetics* Vol. 33 (5) 2002: 343 - 350 [Abstract] [Http://www.ingentaconnect.com/content/bsc/agen/2002](http://www.ingentaconnect.com/content/bsc/agen/2002) [23 Januari 2009].
- Crozier, R.H. 1997. Preserving the information content of species: genetic diversity, phylogeny, and conservation worth. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 28: 243-268.
- [DSC] Deer Specialist Group. 1996. *Muntiacu atherodes*. 1996 IUCN Red List of Threatened Species. IUCN. Switzerland.
- Emerson, B.C. and M.L. Tate. 1993. Genetic analysis of evolutionary relationships among deer (Subfamily Cervinae). *The Journal of Heredity* 1993: 84 (4): 266-273 [Abstract]. [Http://jhered.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/84/4/266](http://jhered.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/84/4/266) [23 Januari 2009].
- Fernandez, M.H. and E.S. Vrba. 2005. A complete estimate of the phylogenetic relationships in ruminantia: a Dated Species-level supertree of the extant ruminants. *Biological Review* (2005), 80: 269-302. [Http://www.ucm.es/info/paleo/personal/hdezdez/HFV2005a.pdf](http://www.ucm.es/info/paleo/personal/hdezdez/HFV2005a.pdf) [23 Januari 2009].
- Feulner, P.G.D., W. Bielfeldt, F.E. Zachos, J. Bradvarovic, I. Eckert and G B Hartl. 2004. Mitochondrial DNA and microsatellite analyses of the genetic status of the presumed subspecies *Cervus elaphus montanus* (Carpathian red deer). *Heredity* (2004) 93, 299-306. [Abstract]. [Http://www.nature.com/hdy/journal/v93/n3/abs/6800504a.html](http://www.nature.com/hdy/journal/v93/n3/abs/6800504a.html) [23 Januari 2009].
- Galan, M., C. Baltzinger, A.J.M. Hewison and J.F. Cosson. 2003. Deer species identification using DNA Extracted from Hair Samples and The Polymerase Chain Reaction (PCR) Methods. [Http://pastel.paris tech.org/464/01/annexe_I_BALTZINGER.pdf](http://pastel.paris tech.org/464/01/annexe_I_BALTZINGER.pdf) [23 Januari 2009].
- Hartman, N. and H. Scherthan. 2004. Characterization of ancestral chromosome fusion points in the Indian Muntjac Deer. *Chromosoma* (2004) 112: 213-220

- [Abstract] [Http://www.ingentaconnect.com/content/klu/412/2004/00000112/00000005/art00001](http://www.ingentaconnect.com/content/klu/412/2004/00000112/00000005/art00001) [23 Januari 2009].
- Hundertmark, K.J., R.T. Bowyer, G.F. Shields and C.C. Schwartz. 2003. Mitochondrial Phylogeography of Moose (*Alces alces*) in North America. *Journal of Mammalogy* Vol. 84 (2) 2003: 718 – 728 [Abstract]. [Http://www.bioone.org/doi/abs/10.1644/1545-1542\(2003\)084](http://www.bioone.org/doi/abs/10.1644/1545-1542(2003)084) [23 Januari 2009].
- James, J., U. Ramakrishnan and A. Datta. 2008. Molecular Evidence for the Occurrence of the Leaf Deer *Muntiacus putaoensis* in Arunachal Pradesh, North-East India. *Conserv Genet* (2008) 9:927–931. Short Communication. [Http://www.springerlink.com/content/p1321485604p22hg/](http://www.springerlink.com/content/p1321485604p22hg/) [24 Januari 2009].
- Kang, M.C., S.H. Han, Y.H. Jung, J.H. Oh, G.O. Kim, J. W. Ko and M.Y. Oh. 2007. Genetic analysis of ancient bones of Cervidae Animals from Archaeological Site in Jeju, Korea. *Integrative Biosciences* 11: 147-153, 2007. [Http://www.ibiosci.or.kr/home/data/2007/0110147.pdf](http://www.ibiosci.or.kr/home/data/2007/0110147.pdf) [23 Januari 2009].
- Kholodova, M.V., E. Easton, E.J. Milner-Gulland. 2000. The Use of fur collected in the field for Studying the Genetic Diversity of Wild Ungulates *Biology Bulletin of the Russian Academy of Sciences*, Vol. 27 (6) 2000: 585-590 [Abstract] [Http://www.ingentaconnect.com/content/maik/bibu/2000/00000027/00000006/00295036](http://www.ingentaconnect.com/content/maik/bibu/2000/00000027/00000006/00295036) [23 Januari 2009].
- Kim, E.J., Y.J. Jung, S.J. Kang, S.Y. Chang, K.H. and D.H. Nam. 2001. Molecular Discrimination of *Cervidae* Antlers and *Rangifer* Antlers. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 34, No. 2, March 2001. [Http://www.jbmb.or.kr/jbmb/jbmb_files/20010330_4_108.pdf](http://www.jbmb.or.kr/jbmb/jbmb_files/20010330_4_108.pdf) [23 Januari 2009].
- Kuznetsova, M.V., M. V. Kholodova and A. A. Danilkin. 2005. Molecular Phylogeny of Deer (Cervidae: Artiodactyla). *Genetika*, Vol. 41 (7) 2005: 910-918. [Http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=17281883](http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=17281883) [23 Januari 2009].
- Lan, H., W. Wang and L. Shi. 1995. Phylogeny of *Muntiacus* (Cervidae) Based on Mitochondrial DNA Restriction Map. *Biochemical Genetics* Vol. 33 Nos. 11/12, 1995 [Abstract] <http://www.springerlink.com/content/r18576q7452u7546/fulltext.pdf> [23 Januari 2009].
- Leite, K.C.E., R.G. Collevatti, T.R. Menegasso, W.M. Tomas and J.M.B. Duarte. 2007. Transferability of Microsatellite Loci from Cervidae Species to The Endangered Brazilian Marsh Deer, *Blastocerus dichotomus*. *Genet. Mol. Res.* 6 (2): 325-330 (2007). www.funpecrp.com.br/gmr/year2007/vol2-6/gmr0308/full_text.htm [23 Januari 2009].
- Li, Y.C., C. Lee, W.S. Chang, S.Y. Li and C.C. Lin. 2002. Isolation and Identification of a Novel Satellite DNA Family Highly Conserved in Several Cervidae Species. *Chromosoma* (2002) 111: 176-183 [Abstract] [Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12355207](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12355207) [23 Januari 2009].
- Lima-De-Faria, A., U. Arnason, B. Widegren, M. Isaksson, J. Essen-Möller and H. Jaworska. 1986. DNA Cloning and Hybridization in Deer Species Supporting the Chromosome Field Theory. *Biosystems*, Vol. 19 (3), 1986: 185-212 [Abstract] [Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3022841?dopt=Abstract](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3022841?dopt=Abstract) [24 Januari 2009].
- Lindsay, A.R. and J.L. Belant. 2008. A Simple and Improved PCR-based Technique for White-tailed Deer (*Odocoileus virginianus*) Sex Identification. *Conservation Genetics* (2008) 9: 443-447 [Technical Note] [Http://nsdl.org/resource/2200/20080723194540977T](http://nsdl.org/resource/2200/20080723194540977T) [23 Januari 2009].
- Masy'ud, Burhanuddin. 1992. Identifikasi Sifat Genetik Satwa Dilindungi: Sisi Penting Kegiatan Konservasi Keanekaragaman Hayati. *Media Konservasi* Vol. III (4), Maret 1992: 41 - 46.
- Maudet, F., J.C. Maillard, P. Chardonnet and J. Sauzier. 1998. Study of Genetic Diversity in a Rusa Deer (*Cervus timorensis russa*) population in Mauritius Using Derived Bovine Microsatellites. AMAS 1998. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius. [Http://www.gov.mu/portal/sites/ncb/moa/farc/amas98/s53.pdf](http://www.gov.mu/portal/sites/ncb/moa/farc/amas98/s53.pdf) [22 Januari 2009].
- Meredith, E.P., J.A. Rodzen, J.D. Banks, R. Schaefer, H.B. Ernest, T.R. Famula and B.P. May. 2000. Microsatellite Analysis of Three Sub Species of Elk (*Cervus elaphus*) in California. *Journal of Mammalogy*, 88(3):801–808, 2007. [Http://genome-lab.ucdavis.edu/Publications/2007%20Meredith-plk.pdf](http://genome-lab.ucdavis.edu/Publications/2007%20Meredith-plk.pdf) [24 Januari 2009].
- Pei-Yi Chiang, Chyi Chyang Lin, Shu-Ju Liao, Lie-Jiau Hsieh, Shuan-Yow Li, Ming-Chieh Chao, Yueh-Chun Li. 2004. Genetic Analysis of Two Subspecies of Reeves Muntjac (Cervidae: *Muntiacus reevesi*) by Karyotyping and Satellite DNA Analyses. *Zoological Studies* 43(4): 749-758. *Diakses dari* <http://zoolstud.sinica.edu.tw/Journals/43.4/749.pdf>. [24 Januari 2009].
- Piggott, M.P. and A.C. Taylor. 2003. Remote Collection of Animal DNA and Its Application in Conservation

- Management and Understanding Population Biology of Rare and Cryptic Species. In: *Wildlife Research*, 2003, 30, 1-13. CSIRO Publishing. <http://www.publish.csiro.au/journals/wr>. [13 Desember 2008].
- Pitra, C., J. Fickela, E. Meijaard, P.C. Groves. 2004. Evolution and phylogeny of old world Deer. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33 (2004): 880-895. [http://arts.anu.edu.au/grovco/Pitra deer. pdf](http://arts.anu.edu.au/grovco/Pitra%20deer.pdf) [22 Januari 2009].
- Poetsch, M. 2001. Analysis of microsatellite polymorphism in Red Deer, Roe Deer, and Fallow Deer - Possible employment in forensic applications. *Forensic Science International*, Volume 116 (1): 1 [Abstract] [http://linking hub.else vier.com/retrieve/ pii/S037 907380500215X](http://linking%20hub.elsevier.com/retrieve/pii/S037907380500215X) [22 Janu ari 2009].
- Polziehn, R.O., J. Hamr, F.F. Mallory and C. Strobeck. 2001. Microsatellite Analysis of North American Wapiti (*Cervus elaphus*) Populations. *Molecular Ecology* Vol. 9 (10) 2001: 1561 - 1576 [Abstract]. [http://www3.interscience.wiley.com/journal/1189575 17/abstract](http://www3.interscience.wiley.com/journal/118957517/abstract) [22 Januari 2009].
- Randi, E., N. Mucci, F. Claro-Hergueta, A. Bonnet , E.J.P. Douzery. 2006. A Mitochondrial DNA Control Region Phylogeny of the Cervinae: Speciation in *Cervus* and Implications for Conservation. *Animal Conservation* Vol. 4 (1) 2006: 1 - 11 [Abstract]. [http://www3.interscience.wiley.com/journal/1188903 44/abstract](http://www3.interscience.wiley.com/journal/118890344/abstract). [22 Januari 2009].
- Rodrigues, F.P., J.F. Garcia, P.R.R. Ramos, J. Bortolozzi and J.M.B. Duarte. 2007. Genetic Diversity of Two Brazilian Populations of The Pampas Deer (*Ozotoceros bezoarticus*, Linnaeus 1758). *Braz. J. Biol.*, 67(4, Suppl.): 805-811, 2007. Diakses dari: [www. scielo.br/pdf/bjb/v67n4s0/a02v674s0.pdf](http://www.scielo.br/pdf/bjb/v67n4s0/a02v674s0.pdf).
- Sang-Hyun Han, In-Cheol Cho, Sung-Soo Lee, Leoncia Tandang, Hang Lee, Hong-Shik Oh, Byoung Soo Kim and Moon-You Oh. 2007. Identification of Species and Sex of Korean Roe Deer (*Capreolus pygargus tianschanicus*) Using SRY and CYTB Genes. *Integrative Biosciences* 11: 165-168, 2007. [http://www.ibiosci.or.kr/home/data/2007/0110165. pdf](http://www.ibiosci.or.kr/home/data/2007/0110165.pdf) [24 Januari 2009].
- Shukla, M.S., V. Pidiyar, N.A. Bhave, M.S. Patole and Y.S. Shouche. 2001. PCR Amplification and Sequencing of Mitochondrial 12S rRNA Gene Fragment from *Muntiacus muntjak* (Indian muntjac). *Current Science*, Vol. 80 (5) 2001. [http://www.iisc.ernet.in/currsci/ mar102001/617.pdf](http://www.iisc.ernet.in/currsci/mar102001/617.pdf) [24 Januari 2009].
- Su, B., Y. Wang, H. Lan, W. Wang and Y. Zhang. 1999. Phylogenetic Study of Complete Cytochrome *b* Genes in Musk Deer (Genus *Moschus*) Using Museum Samples. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. 12 (3), 1999: 241-249 [http://www. sciencedirect.com/science](http://www.sciencedirect.com/science) [24 Januari 2009].
- Taberlet, P and G. Luikart. 1999. Non-invasive Genetic Sampling and Individual Identification in Molecular Genetics in Animal Ecology. Edited by Racey et al. *Biological Journal of the Linnean Society* (1999), 68: 41-55. [http://www. Indiana.edu/~kettlab/A501/tabernet_luikart_1999.pdf](http://www.Indiana.edu/~kettlab/A501/tabernet_luikart_1999.pdf) [13 Desember 2008].
- Rai, U.K. 2003. Minimum Size for Viable Population and Conservation Biology. *Our Nature* (2003) 1: 3 -9. [http://ww.nepjol.info/index.php/ON/article/viewFile/29 7/289](http://www.nepjol.info/index.php/ON/article/viewFile/297/289) [25 Desember 2008].
- Tamate, H.B, A. Okada, M. Minami, N. Ohnishi, H. Higuchi and S. Takatsuki. 2000. Genetic variations revealed by microsatellite markers in a small population of the Sika Deer (*Cervus nippon*) on Kinkazan Island, Northern Japan. *Zoological Science* 17: 47-53 (2000). [http://www.bioone.org/ doi/pdf/10.2108/zsj.17.47](http://www.bioone.org/doi/pdf/10.2108/zsj.17.47) [24 Januari 2009].
- Thévenon, S., L.T. Thuy, L.V. Ly, F. Maudet, A. Bonnet, P. Jarne and J.-C. Mail. 2004. Microsatellite Analysis of Genetic Diversity of the Vietnamese Sika Deer (*Cervus nippon pseudaxis*). *Journal of Heredity* 2004: 95 (1): 11-18. Diakses dari: [http://jhered.oxfor djournals.org/cgi/reprint/95/1/ 11.pdf](http://jhered.oxfordjournals.org/cgi/reprint/95/1/11.pdf).
- Wada, K., M. Nishibori and M. Yokohama. 2007 The complete Nucleotide Sequence of Mitochondrial Genome in the Japanese Sika deer (*Cervus nippon*), and a Phylogenetic Analysis Between Cervidae and Bovidae. *Small Ruminant Research*, Vol. 69 (1): 46-54 [Abstract] [http://linkinghub.elsevier.com/retri eve/pii/ S0921448805004992](http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921448805004992) [22 Januari 2009].
- Wang, Wen and Hong Lan. 2000. Rapid and parallel chromosomal number reductions in Muntjac Deer Inferred from Mitochondrial DNA Phylogeny. *Mol. Biol. Evol.* 17(9):1326-1333. 2000.. [http://mbe. oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/17/9/1326](http://mbe.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/17/9/1326) [24 Januari 2009].
- Webley, L.S., K.R. Zenger, A.W. English and D.W. Cooper. 2004. Low levels of genetic variation within introduced Javan Rusa Deer (*Cervus timorensis russa*) in Australia. *European Journals of Wildlife Resources* (2004) 50: 137-140 [Abstract] [http://www.ingentaconnect.com/content/klu/10344/ 2004](http://www.ingentaconnect.com/content/klu/10344/2004) [23 Januari 2009].
- Williams, C.L., T.L. Serfass, R. Cogan and O.E. Rhodes Jr. 2002. Microsatellite variation in the reintroduced pennsylvania Elk Herd. *Molecular Ecology* Vol. 11

- (8) 2002: 1299 – 1310 [Abstract]. Diakses dari: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/118957517/abstract>.
- Wu, X., H. Liu and Z. Jiang. 2006. Identification Primers for Sika Deer (*Cervus nippon*) From a Sequence-characterised Amplified Region (SCAR). *New Zealand Journal of Zoology*, 2006, Vol. 33: 65-71.
- Wu, H.L., Q.H. Wan and S.G. Fang. 2004. Two genetically distinct units of the Chinese Sika Deer (*Cervus nippon*): Analyses of Mitochondrial DNA Variation. *Biological Conservation*, Vol. 119 (2), 2004: 183-190 [Abstract] [Http://www.sciencedirect.com/science](http://www.sciencedirect.com/science) [24 Januari 2009].
- Wu, H.L., Q.H. Wan and S.G. Fang. 2007. Microsatellite analysis of genetic variation and population subdivision for the black muntjac, *Muntiacus crinifrons*. *Biochemical Genetics*. Vol. 45 No. 11/12, 2007: 775-788 [Abstract] [Http://www.biomedexperts.com/Abstract.bme](http://www.biomedexperts.com/Abstract.bme) [24 Januari 2009].
- Wu, H.L. and S.G. Fang. 2005. Mitochondrial DNA Genetic Diversity of Black Muntjac (*Muntiacus crinifrons*), An Endangered Species Endemic to China. *Biochemical Genetics*. Vol. 43 No. 7/8, 2005: 407-416 [Abstract] <http://www.springerlink.com/content/3161325363700344/fulltext.pdf> [24 Januari 2009].
- Xu, YC, Z.C. Pan, Z.R. Xu, S.H. Yang, Y. Jin and S.Y. Bai. 2001. Status of Microsatellites as Genetic Markers in Cervids. *Journal of Forestry Research*, 12 (1) 2001: 55 - 58 [Http://www.springerlink.com/content/6jq65713848pw13u/fulltext.pdf](http://www.springerlink.com/content/6jq65713848pw13u/fulltext.pdf) [23 Januari 2009].
- Yi, G.C., X.M. Zhang and, X.N. Shan. 2002. [12S rRNA, Cytochrome b and MDR1 Gene DNA Sequence and Phylogenetic Evolution of Muntiacus. *Yi Chuan Xue Bao* (2002) 29: 674-80 [Abstract]. [Http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12211214](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12211214) [23 Januari 2009].
- Zhang, Q., Z.G. Zeng and Y.L. Song. 2008. Isolation and Characterization of Eight Microsatellite Loci for The Vulnerable Hainan Eld's Deer (*Cervus eldi hainanus*) in China. *Conservation Genetics* (2008) 9: 965-967 [Technical Note] <http://www.springerlink.com/content/9p1m5261v76k3340/fulltext.pdf> [23 Januari 2009].