

KARAKTERISTIK GENETIK PADA FAMILI CERVIDAE (*Cervus unicolor*, *Cervus timorensis*, dan *Axis kuhlii*) BERDASARKAN 12SrRNA mtDNA

Wirdatei*, Gono Semiadi*, Toshinao Okayama**

*Bidang Zoologi, Puslit Biologi LIPI

**Biodiversity Conservation Project, JICA-LIPI

Jl. Raya Cibinong KM 46, Cibinong-Jabar, 16911

ABSTRACT

Genetic analysis from three species of Indonesia Cervidae (sambar deer, *Cervus unicolor*; rusa deer, *Cervus timorensis*; and Bawean deer, *Axis kuhlii*) was conducted to analyze their relationship. Tissues and blood from twelve sambar deer, one rusa deer and three Bawean deer were collected and analyzed for 12SrRNA using Primer forward (L1091) and reverse (H1478). The results indicated the amplication of mtDNA were 389 base nucleotide. There were 22 polymorphic sites, which were dominated by transition and gave 9 haplotypes that were 5 in sambar deer, 1 in rusa deer and 3 in Bawean deer.

Key words: Genetic, *Cervus unicolor*, *Cervus timorensis*, *Axis kuhlii*, 12SrRNA

PENGANTAR

Rusa Indonesia termasuk satwa yang dilindungi undang-undang tetapi sekaligus berpotensi sebagai sumber protein, sebagaimana dikembangkan di luar negeri (Semiadi 1993; Woodford & Dunning 1992). Dari hasil pengamatan di luar negeri dan beberapa pengamatan awal di Indonesia menunjukkan rusa tropik mudah berkembang biak, sehingga satwa ini sangat potensial untuk dimanfaatkan sesuai dengan potensinya melalui program budidaya dan sekaligus ke arah domestikasi (Semiadi, 2002). Sebagai sumber daya alam, rusa mempunyai manfaat multi ganda baik sebagai sumber pangan, objek pariwisata, estetika, di samping sebagai sumber pangan.

Indonesia mempunyai empat jenis rusa yaitu *Cervus unicolor* (rusa sambar) yang mempunyai bobot badan terbesar sekitar 160-200 kg/ekor dengan dua anak jenis yaitu *Cervus unicolor equinus* (Sumatera) dan *Cervus unicolor bookei* (Kalimantan), *Cervus timorensis* (rusa timor) yang berbobot badan sekitar 45-155 kg/ekor dengan enam anak jenis, *Axis kuhlii* (rusa bawean) yang merupakan satwa endemik di Pulau Bawean dengan bobot badan 30-45 kg/ekor dan *Muntiacus muncak* (muncak) sebagai jenis rusa terkecil yang kita miliki dengan bobot badan tidak lebih dari 25 kg/ekor (Anderson, 1984). Secara morfologi ketiga rusa (sambar, timor, dan bawean) dibedakan dari ukuran tubuh, bobot tubuh, dan warna bulu, sedangkan *Muntiacus muncak* secara taksonomi (morfologi) jauh berbeda dengan ketiga jenis rusa dari Cervidae.

Pencirian satwa ini secara genetik dalam usaha penentuan karakteristik, terutama pada rusa sambar dan

timor baik di penangkaran maupun di alam sangatlah penting, karena *introduce spesies* ke suatu daerah yang tidak terkendali baik oleh alam maupun manusia akan mempengaruhi karakter spesifik dari masing-masing jenis terlebih apabila proses hibridisasi antar jenis dimungkinkan terjadi secara alami. Selain itu saat ini masih belum banyak diketahui karakteristik masing-masing spesies ini guna penentuan kondisi genetiknya dalam usaha pemanfaatan satwa ini sebagai komoditi alternatif di dalam bidang peternakan. Untuk itu dilakukan kajian karakteristik rusa Indonesia berdasarkan gen 12SrRNA mtDNA. Gen 12SrRNA adalah salah satu daerah *coding* dari 37 gen pada DNA mitokondria (mtDNA). Daerah mitokondria dikenal mengalami perubahan cepat dalam evolusi. Analisis restriksi dari mtDNA mamalia yang berhubungan dekat menunjukkan bahwa genom ini mempunyai laju evolusi yang lebih tinggi dari pada DNA inti (Brown *et al.*, 1985; Kocher *et al.*, 1989). Di samping itu DNA mitokondria merupakan alat yang kuat dalam mempelajari evolusi hewan dan juga banyak digunakan untuk analisis struktur populasi, aliran gen, dan filogeni (Moritz *et al.*, 1974).

BAHAN DAN CARA KERJA

Lokasi sampel: Sampel diperoleh dari Kabupaten Penajam Paser Utara, Kalimantan Timur untuk rusa sambar; Kabupaten Kupang, Pulau Timor untuk rusa timor; dan Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur untuk rusa bawean. Sampel terdiri atas darah, daging, hati, sesuai dengan Tabel 1. Sampel asal rusa sambar berupa jaringan daging dan hati diperoleh dari cuplikan jaringan yang dibeli dari pasar

tradisional. Pada sampel yang berupa darah diperoleh dari darah yang ada di penangkaran Dinas Peternakan TK. I di desa Api-Api, Kecamatan Waru, Kabupaten Penajam Paser Utara, melalui pengambilan lewat vena jugularis dan tanpa obat bius. Sampel asal rusa timor dan rusa bawean diperoleh dari satwa di penangkaran (Kebun Binatang Surabaya untuk sampel rusa Bawean dan Camplong, Kupang untuk sampel rusa timor). Larutan preservasi yang dipakai untuk jaringan daging dan hati berupa etanol absolut, dan pada darah bervariasi antara EDTA dan etanol absolut.

Ekstraksi DNA

Total DNA diekstraksi dari darah dan jaringan dengan menggunakan metode Sambrook *et al.* (1989), dengan phenol-chloroform dan presipitasi dengan etanol absolut. Kemudian DNA dilarutkan dalam larutan TE dan disimpan dalam suhu dingin (4-20°C) sampai digunakan.

Amplifikasi dan Sekuensing

Untuk mendapatkan gen 12S rRNA mtDNA, total DNA diamplifikasi dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Amplifikasi pada daerah gen 12 S rRNA, menggunakan primer H1478 dan L1091 (Kocher *et al.*, 1989) dalam 50 µl volume reaksi terdiri atas 5 µl buffer 10×, 4 µl 10mM dNTP mix, 5 µl 2pm primer, 1 µl 1.25U Taq Polymerase, 1-2 µl DNA template, dan 29 µl MQ. Amplifikasi menggunakan mesin *Thermal Cycle* 9600 Perkin Elmer. Kondisi PCR 95°C, 5 min; 40 cycles (95°C selama 30 detik, 55°C selama 30 detik, 72°C selama 60 det.). Hasil amplifikasi dielektroforesis pada 1% Seakem agarose gel di dalam 1 × TAE buffer dan diwarnai dengan ethidium bromide. PCR *product* dipurifikasi dengan MicroSpin™ S-400 HR *Columns* (Amersham).

Seluruh sekuen diperoleh dari DNA double-strand dengan menggunakan *Thermosequense dye primer cycle sequencing kit* (Amersham) pada ALF *express* DNA *sequencer*.

Analisis data

Penjajaran sekuen nucleotide menggunakan Clustal X (Jeanmougin *et al.*, 1998). Untuk menghitung *haplotype diversity* (*h*) mengikuti Li & Graur (1991). Untuk menggambarkan pohon filogeni dengan menggunakan Program PHYLIP NEIGHBOR (Felsenstein, 1989).

HASIL

Hasil sekuen dari 12 rusa sambar, 1 rusa timor, dan 3 rusa bawean dengan menggunakan primer Cy5L1091 adalah sepanjang 389base pair (bp) nukleotida (Gambar 1).

Pada jajaran sekuen terdapat 22 variasi mutasi, mutasi terjadi karena kejadian transisi dan tranversi basa. Pada hasil sekuen ini mutasi didominasi oleh kejadian transisi dari G-A, C-T dan sebaliknya (72,73%) yaitu pada urutan basa ke-11, 50, 67, 76, 79, 118, 119, 147, 155, 187, 236, 285, 319, 354, 356, dan basa ke 389, sedangkan kejadian tranversi dari G-T, A-T, dan A-C terdapat pada sekuen ke-90, 186, dan 219 (13,64%). Di samping itu juga terjadi perubahan basa akibat insersi dan delesi basa pada urutan basa ke-5, 190, dan 388 (13,64%). Mutasi atau substitusi basa pada ketiga jenis rusa tersebut memberikan 8 haplotipe (SB1, SB2, SB3, SB4, SB5, TM1, BW1 dan BW2) (Tabel 2). Haplotipe SB1, SB2, SB3, SB4, dan SB5) adalah merupakan sebaran haplotipe atau karakteristik dari populasi rusa sambar di desa Api-Api, Kaltim. Tingkat keragaman haplotipe (*h*) pada populasi rusa sambar di daerah tersebut menunjukkan cukup tinggi (57,61%). Perbedaan (variasi haplotipe) yang cukup tinggi pada rusa sambar disebabkan perubahan pada urutan ke-389 dari A-G dari individu yang berasal dari Babulu dan kota Samarinda. Selain itu juga karena adanya delesi basa Guanin pada posisi ke-5 dan ke-388 dari individu yang berasal dari Babulu, dan juga adanya insersi basa Guanin pada posisi ke-190 dari individu yang berasal dari desa Api-Api, Kabupaten Penajam. Individu lain yang berasal dari Api-Api juga mengalami perubahan basa adalah pada posisi basa ke-187, 236, dan 389. Apabila tidak adanya gap (insersi dan delesi) basa, atau kejadian insersi dan delesi basa pada urutan sekuen ini diabaikan, maka keragaman rusa sambar rendah, meskipun diperoleh dari lokasi yang berbeda (Tabel 2).

Sementara pada rusa bawean dari 3 individu yang dianalisis memberikan 2 penciri (haplotipe) yaitu BW1 dan BW2. Perbedaan nukleotide pada jenis ini terjadinya delesi basa Timin (T) pada urutan basa ke-5. Apabila kejadian delesi basa ini diabaikan, maka ketiga individu rusa bawean ini menunjukkan populasi monomorf. Untuk rusa timor hanya 1 individu memberikan penciri tersendiri yaitu haplotipe TM1.

PEMBAHASAN DAN KESIMPULAN

Dari perbandingan pasangan basa dari ketiga sekuen rusa tersebut menunjukkan bahwa antara rusa sambar dan rusa timor memperlihatkan kemiripan nukleotide yang lebih tinggi dalam hal ini hanya terdapat 2 mutasi basa secara transisi, yaitu dari G-A, pada posisi basa ke-236 dan 285 (Tabel 2). Tingkat kekerabatan yang lebih jauh adalah antara rusa timor dengan rusa bawean, yaitu terdapat 16 mutasi basa atau sekitar 4,1%, sedangkan antara rusa

sambar dengan rusa bawean terdapat 18 mutasi basa atau sekitar 4,9% (Gambar 1, Tabel 2). Dari 22 situs bervariasi dalam 388 sekuen basa terdapat 3 transversi yang menunjukkan ratio transisi/transversi lebih kurang 5 : 1. Ratio nilai ini menunjukkan kejadian yang normal pada mamalia, seperti dilaporkan Irwin *et al.*, (1991), bahwa perbandingan kejadian transisi/transversi pada sekuen basa mamalia yang normal adalah mendekati 10. Posisi perubahan basa dari kedua spesies tersebut dengan tiga individu rusa bawean adalah pada situs yang sama. Dari hasil penelitian terhadap rusa sambar dilaporkan, bahwa perbandingan pasangan sekuen antara *Cervus unicolor* (rusa sambar) dengan *Muntiacus muncak* (muncak) pada daerah 12S rRNA dan 16S rRNA sepanjang 962 sekuen nukleotida (*Cervus/Muntiacus*) ditemukan 23 mutasi, dan yang menunjukkan kesamaan sekuen mencapai 98,3% (Miyamoto *et al.*, 1990). Sedangkan dalam penelitian ini kesamaan sekuen *C. unicolor/C. timorensis* sebesar 99,48% yang menunjukkan kemiripan yang lebih tinggi; *C. unicolor/A. kuhlii* sebesar 95,37%; *C. timorensis/A. kuhlii* sebesar 95,88%. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rusa *Axis kuhlii* memberikan perbedaan nukleotida yang lebih tinggi di antara 2 jenis cervidae lainnya. Hasil pengamatan pada runutan nucleotida rusa bawean menunjukkan adanya indikasi proses laju evolusi dari perubahan basa secara transisi maupun transversi. Hal ini tampaknya sesuai dengan proses evolusi di alam di mana Pulau Bawean telah mengalami isolasi dari daratan utama di zaman Pelitocene. Asal usul rusa Bawean dan bagaimana caranya mencapai pulau Bawean tidak diketahui dengan pasti. Diduga bahwa nenek moyang rusa bawean terpisah dari kerabatnya sekitar masa diuvial, ketika daratan Sunda Shelf terpisah akibat naiknya permukaan laut (Von Koeningswald dalam Bemmell, 1953).

Dari ketiga spesies ini menunjukkan adanya variasi laju evolusi pada situs yang berbeda dari sekuen nukleotida. Churchill (1997) dalam Cook *et al.* (1999), menerangkan bahwa metode untuk menghitung variasi laju evolusi pada situs berbeda dari sekuen nukleotida dengan menggunakan model Markov, menunjukkan bahwa laju evolusi pada situs berbeda dari sekuen nukleotida adalah tidak sama.

Pohon filogeni yang digambarkan dengan menggunakan *matric distance* dari program PHYLIP NEIGHBOR menunjukkan hubungan yang dekat antara

Cervus unicolor dengan *Cervus timorensis*, akan tetapi menunjukkan perbedaan signifikan dengan *Axis kuhlii* (Gambar 2). Dari pohon filogenetik ini menunjukkan, bahwa rusa bawean adalah jenis rusa termuda atau termuda dari 3 jenis rusa yang ada di Indonesia, di mana rusa ini hanya terdapat di Pulau Bawean, Jawa Timur. Dari hasil analisis filogenetik yang dilakukan Randi *et al.* (2001) menunjukkan juga bahwa hubungan kekerabatan antara *C. unicolor* dengan *C. timorensis* sangat dekat (bootstrap 85%), berada dalam satu *clade*, bahkan kedua species ini mempunyai *tandem repeat* yang cukup tinggi pada daerah *control region* mtDNA. Daerah *control region* mtDNA diketahui mengalami laju substitusi yang lebih tinggi dari daerah mtDNA lainnya, di mana daerah ini merupakan awal dari transkripsi gen. Akan tetapi bagian *central* dari daerah ini menunjukkan adanya kesamaan nukleotida antar spesies (Mignotte *et al.*, 1986).

Satu haplotipe dari rusa sambar yaitu SB5 (individu dari Api-Api), menunjukkan lebih dekat dengan timor dan terpisah dengan kelompok populasi sambar lainnya. Haplotipe ini mengalami perubahan basa dengan sambar lainnya pada posisi basa ke-187 dan 236. Adanya pemisahan seekor rusa sambar yang satu kelompok dengan rusa timor, mungkin terjadi mengingat di saat konflik Timor-Timur tahun 1980-an, banyak tentara yang kembali dari tugas membawa anak rusa timor dan mengembangkannya di sekitar Kabupaten Penajam Paser Utara. Pada beberapa rusa yang dipelihara ini tidak sedikit dilaporkan yang kemudian menghilang di hutan sekitar yang kemungkinan *highbreed* dengan rusa sambar (Erik Nursyamdani, komunikasi pribadi dengan G. Semiadi)

Hasil penelitian menunjukkan, bahwa panjang gen 12SrRNA mtDNA yang teramplifikasi dengan menggunakan primer L1091 dan H1478 adalah sekitar 389 bp nukleotida. Dari 389 bp nukleotida ditemukan sebanyak 22 variasi basa pada situs yang berbeda. Mutasi basa (variasi basa) tersebut didominasi dengan kejadian transisi yaitu dari Adenin (A) ke Guanin (G); Timin (T) ke Cytosin (C) dan sebaliknya. Mutasi basa ini memberikan 8 haplotipe yaitu 5 haplotipe pada populasi rusa sambar; 2 haplotipe pada rusa bawean dan 1 haplotipe pada rusa timor. Tingkat kekerabatan di antara 3 spesies rusa ini menunjukkan, bahwa rusa sambar dan timor menunjukkan jarak genetik yang lebih dekat dibandingkan dengan rusa bawean.

Tabel 1. Asal rusa, bagian yang diekstrak, lokasi sampel, dan preservasi sampel

No.	Kode	Jaringan	Lokasi	Preservasi
<i>Rusa sambar</i>				
1.	Cu010	Daging	Babulu (BB)	Etanol 99%
2.	Cu10	Daging	Babulu (BB)	Etanol 99%
3.	Cu09	Darah	Api-api (AP)	Etanol 99%
4.	Cu03	Daging	Waru (WR)	Etanol 99%
5.	Cu06	Daging	Babulu (BB)	Etanol 99%
6.	Cu02	Daging	Petung (PT)	Etanol 99%
7.	Cu19	Darah	Api-api (AP)	Etanol 99%
8.	Cu34	Daging	Samarinda (SD)	Kering, grinding
9.	Cu36	Daging	Samarinda (SD)	kering, grinding
10.	Cu38	Daging	Samarinda (SD)	Kering, grinding
11.	Cu23	Daging	Samarinda (SD)	Kering, grinding
12.	Cu42	Daging	Samarinda (SD)	Kering, grinding
<i>Rusa Timor</i>				
1.	CT28	Hati	Champlong (CL)	Etanol 99%
<i>Rusa Bawean</i>				
1.	AK44	Daging	Penangkar	Beku langsung
2.	AK2	Darah	Penangkar	EDTA
3.	AK	Darah	Penangkar	EDTA

Tabel 2. Posisi polimorphic antara haplotipe rusa sambar.*

Haplo tipe	5	11	50	67	76	79	90	118	119	147	155	186	187	190	219	236	285	319	354	356	388	389	
SB1	-	A	G	G	G	G	G	G	T	T	A	A	G	-	T	A	G	A	C	C	G	A	
SB2	-	G
SB3	T	G	G
SB4	T	G
SB5	T	A	G	.	G	G
TM1	T	G	A	G
BW1	T	.	A	A	A	A	T	A	C	C	G	T	A	G	A	G	A	G	T	T	.	G	
BW2	-	.	A	A	A	A	T	A	C	C	G	T	A	G	A	G	A	G	T	T	.	G	

Keterangan: * Titik menunjukkan basa yang sama dengan sekuen pertama (urutan pertama)

CLUSTAL X (1.8) multiple sequence alignment

```

CU34SD      -CTAAT-CAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CU010BB     --TAAT-CAACTGAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CU19AP      -CTAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CU38SD      -TAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CU06BB      --TAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CU02PT      --TAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CU03WR      --TAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CU36SD      -CTAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CU40SD      -CTAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CU10BB      --TAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CT23YG      --TAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CU09AP      --TAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
CT28BL      --TAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGGTTATTAAT
AK2/15      GCTAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGATTATTAAT
AK          --TAATTCAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGATTATTAAT
AK44BW      --TAAT-CAACTAAGCACTCTATTCTTAGTTTACTGCTAAATCCTCCTTTGATTATTAAT
          ***      *
CU34SD      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CU010BB     TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CU19AP      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CU38SD      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CU06BB      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CU02PT      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CU03WR      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CU36SD      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CU40SD      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CU10BB      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CT23YG      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CU09AP      TTCATAATGACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
CT28BL      TTCATAATAACTTTCGTGTTGGATTTTCTTAGATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCG
AK2/15      TTCATAATAACTTTCGTATTAGATTTTCTTATATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCA
AK          TTCATAATAACTTTCGTATTAGATTTTCTTATATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCA
AK44BW      TTCATAATAACTTTCGTATTAGATTTTCTTATATTAGAAAATGTAGCCCATTTCTTTCCA
          *****
CU34SD      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CU010BB     TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CU19AP      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CU38SD      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CU06BB      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CU02PT      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CU03WR      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CU36SD      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CU40SD      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CU10BB      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CT23YG      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CU09AP      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
CT28BL      TTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGTTTTTATGTATTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
AK2/15      CTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGCTTTTATGTGTTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
AK          CTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGCTTTTATGTGTTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
AK44BW      CTCCATAGGTTACACCTTGACCTAACGCTTTTATGTGTTATGATTGTGCTTACTTTTGTA
          *****

```

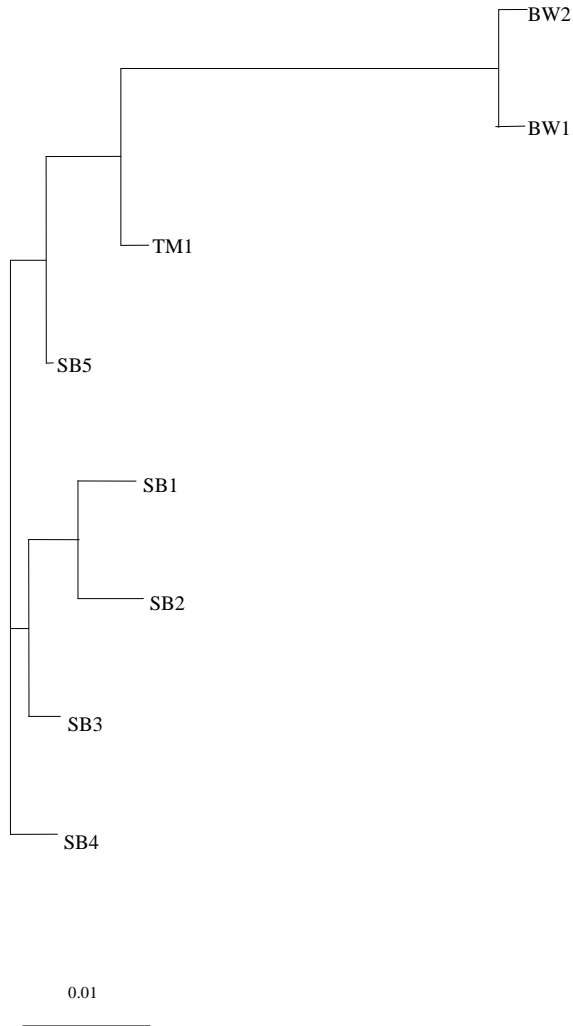
CU34SD CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CU010BB CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CU19AP CCTTTTtaggggTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CU38SD CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CU06BB CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CU02PT CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CU03WR CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CU36SD CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CU40SD CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CU10BB CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CT23YG CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTAAG
 CU09AP CCTTTTtaggggTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTGAG
 CT28BL CCTTTTtaggg-TTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGTATTAGCAAGGAATGGTGAG
 AK2/15 CCTTTTtaggggTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGAATTAGCAAGGAATGGTGAG
 AK CCTTTTtaggggTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGAATTAGCAAGGAATGGTGAG
 AK44BW CCTTTTtaggggTTTGCTGAAGATGGCGGTATATAGACTGAATTAGCAAGGAATGGTGAG
 ***** ** *****

CU34SD GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CU010BB GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CU19AP GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CU38SD GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CU06BB GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CU02PT GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CU03WR GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CU36SD GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CU40SD GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CU10BB GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CT23YG GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CU09AP GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 CT28BL GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 AK2/15 GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 AK GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA
 AK44BW GTTTATCGGGGTTTATCGATTATAGAACAGGCTCCTCTAGAAGGGTGTAAAGCACCGCCA

CU34SD AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CU010BB AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CU19AP AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CU38SD AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CU06BB AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CU02PT AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CU03WR AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CU36SD AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CU40SD AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CU10BB AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CT23YG AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CU09AP AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 CT28BL AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTACACAA
 AK2/15 AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTATATAA
 AK AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTATATAA
 AK44BW AGTCCTTTGAGTTTTAAGCTATTGCCGGTAGTACTCTGGCGAATAGTTTTGTTTATATAA
 ***** * **

CU34SD	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	A	G
CU010BB	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	-	A	G
CU19AP	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
CU38SD	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
CU06BB	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	-
CU02PT	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
CU03WR	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
CU36SD	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
CU40SD	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
CU10BB	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
CT23YG	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
CU09AP	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
CT28BL	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
AK2/15	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
AK	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G
AK44BW	C	T	A	T	T	T	G	T	G	T	T	T	A	A	G	G	C	T	A	G	G	C	A	T	A	G	T	G	G	G

Gambar 1. Jajaran sekuen nucleotide 12S rRNA mtDNA dari 16 individu rusa
 Keterangan: CU = *Cervus unicolor*; CT = *Cervus timorensis*; AK = *Axis kuhlii*



Gambar 2. Pohon filogeni dari sebaran Haplotype dari masing-masing Jenis rusa. SB = haplotype rusa Sambar; TM = haplotype rusa Timor; BW = haplotype rusa Bawean

DAFTAR PUSTAKA

Anderson R, 1984. Deer farming in Australia. Proceeding of deer refresher course. Refresher course for veterinarians. *The post-graduate committee in Veterinary science* (49): 55-71

Bemmel, van ACV, 1953. One of the rarest deer of the world. *Beaufortia* 27: 1-5

Brown WM, 1985. The Mitochondrial Genom of Animals in Molecular Evolutionary Genetic. Plenum Press, New York.

Brown GG, Gadaleta G, Pepe G, Saccone G, and Sbisia E, 1986. Structural conservation and variation in the D-loop containing region of vertebrate mitochondrial DNA. *J. Mol. Biol.* 192: 503-511

Cook EC, Ying Wang and George Sensabaugh, 1999. A Mitochondrial control region and cytochrome *b* phylogeny of sika deer (*Cervus nippon*) and report of tandem repeats in the control region. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 12(1): 47-56.

Felsenstein J, 1989. PHYLIP: Phylogeny Inference Package (Univ. Washington, Seattle).

Jeanmougin F, Thomson JD, Gouy M, Higgins DG, Gibson TJ, 1998. Multiple Sequence alingment with Clustal X. *Trends Biochem Sci* 23: 403-405.

Irwin DM, Kocher TD, and Wilson AC, (1991). Evolution of cytochrom *b* gene of mammals. *J. Mol. Evol.* 32: 128-144.

Miyamoto MM, Kraus F, and Ryder OA, 1990. Phylogeny and evolution of antlered deer determined from mitochondrial DNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87: 6112-6131.

Moritz C, Dowling TE, and Brown WM, 1992. Evolution of Animal Mitochondrial DN. Relevance for population Biology and Systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 268-292.

Randi E, Mucci N, Claro-Hergueta F, Bonnet A, and Douzery EJP, 2001. A mitochondrial DNA control region phylogeny of the Cervinae: speciation in *Cervus* and implication for conservation. *Animal Conservation* 4: 1-11.

- Semiadi G, 1993. The domestication and nutrition of sambar deer (*Cervus unicolor*): A comparative study with red deer (*Cervus elaphus*). *PhD Dissertation*. Massey University. Palmerston North. New Zealand.
- Semiadi G, 2002. Upaya pembinaan penangkaran rusa sambar (*Cervus unicolor*) sebagai ternak baru dalam rangka pemberdayaan satwa liar berpotensi dan komoditas unggulan daerah Propinsi Kalimantan Timur. *Laporan*. Puslit Biologi LIPI.
- Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, Edwards SV, Paabo S, Villablanca FX, and Wilson AC, 1989. Dynamics of mtDNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 6196-6200.
- Woodford KB and Dunning A, 1992. Production cycles and characteristics of rusa deer in Queensland, Australia. *In: The Biology of deer* (ed. RD Brown). Springer-Verlag, New York. 197-202.

Reviewer: **Dr. Bambang Irawan, MSc.**