

Kajian gen Amely Gajah Sumatra (*Elephas maximus sumatranus*)
[The Study of Amely Gen of Sumatran elephant (*Elephas maximus sumatranus*)]

Moch Syamsul Arifin Zein & Sri Sulandari^{RIP}

Laboratorium Genetika, Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong Science Center, Jalan Raya Jakarta Bogor KM.46, Cibinong 16911. Telp 021-8765056, Fax. 021-8765068,

E-mail: zein_genetic@yahoo.com

Memasukkan: Agustus 2015, **Diterima:** November 2015

ABSTRACT

Sumatran elephants (*Elephas maximus sumatranus*) is endemic of Asian elephants in Indonesia, an endangered animal and listed on Appendix I of CITES. Therefore, information on the status and distribution of the population of Sumatran elephants, including the distribution of genetic diversity is necessary to facilitate the development of adequate conservation and management strategies. The purpose of this research was to use Amely gene to trace paternal lineage of Sumatran elephants based on Y chromosome variation. A total of 22 blood samples of male Sumatran elephants were collected in Sumatra (Way Kambas, Seblat, Bentayan, Sugihan, dan Bukit Serelo Lahat). We amplified intronic regions of the Y-linked gene (Amely) using published primer sequences (Amely-R2 and Amely-F2) and sequenced. Sequences generated from this study, aligned with reference sequences available in the GenBank, namely *Elephas maximus* (AY823325.1), *Loxodonta Africana* (AY 823320.1; AY 823321.1), *Loxodonta cyclotis* (AY823322.1; AY8233223.1, AY 823324.1). Neighbour Joining tree of Sumatran elephants was performed using MEGA version 5.2.2. The analysis results of 22-male Sumatran elephants, indicating that no diversity (no variation) of the Y chromosome obtained among the population of Sumatran elephants. Sumatran and Asian elephants have the same haplotypes. Further results confirmed that the savanna elephants (*Loxodonta africana*) and the forest elephants (*Loxodonta cyclotis*) formed two (2) separate clades, which shows two different species. Results obtained in this study may help to design future conservation programs for the species.

Keywords: Sumatran elephant, Amely gene, Y chromosome, Genbank, haplotype

ABSTRAK

Gajah Sumatra (*Elephas maximus sumatranus*) adalah endemik dari gajah Asia di Indonesia, kini keberadaannya di ambang kepunahan. Oleh karena itu informasi mengenai status dan distribusi populasi gajah Sumatra, termasuk informasi mengenai keragaman genetik dari suatu populasi dibutuhkan untuk menentukan kebijakan konservasi. Tujuan penelitian ini yaitu menggunakan Gen Amely untuk melacak garis keturunan paternal gajah Sumatra berdasarkan variasi kromosom Y. Sebanyak 22 sampel darah gajah Sumatra jantan (*Elephas maximus sumatranus*) dari Way Kambas, Seblat, Bentayan, Sugihan, dan Bukit Serelo Lahat sebagai materi penelitian ini. Satu (1) set primer (Amely-R2 dan Amely-F2) digunakan untuk amplifikasi PCR dan selanjutnya di sekuen. Sekuen yang dihasilkan dari penelitian ini, disejajarkan dengan referensi sekuen yang tersedia di Genbank, yaitu *Elephas maximus*/ Gajah Asia (AY823325.1), *Loxodonta Africana* (AY 823320.1; AY 823321.1), *Loxodonta cyclotis* (AY823322.1; AY 8233223.1, AY 823324.1). Pohon NJ (*Neighbour Joining tree*) gajah Sumatra dilakukan dengan menggunakan MEGA versi 5.2.2. Hasil analisa terhadap 22 gajah Sumatra jantan, menunjukkan bahwa tidak ada keragaman (variasi) kromosom Y ditemukan dalam populasi gajah Sumatra, dan antara gajah Sumatra dengan gajah Asia membentuk haplotipe yang sama. Lebih lanjut menegaskan bahwa Gajah savana (*Loxodonta africana*) dan gajah hutan (*Loxodonta cyclotis*) membentuk dua (2) *clade* yang terpisah, yang menunjukkan dua spesies yang berbeda.

Kata Kunci: Gajah Sumatra, gen Amely, kromosom Y, Genbank, haplotipe

PENDAHULUAN

Spesies gajah Asia (*Elephas maximus*) dan gajah afrika (*Loxodonta Africana*) mulai terpecah kira-kira dua juta tahun yang lalu. Gajah Asia memiliki telinga lebih kecil sedikit dari pada Gajah Afrika, dahi rata, dan dua bonggol di kepala merupakan puncak tertinggi gajah, sedangkan gajah Afrika hanya mempunyai satu bonggol di atas kepala. Selain itu gajah Asia mempunyai satu bibir, sedangkan gajah Afrika mempunyai dua bibir di ujung belalai.

Kedua jenis kelamin gajah Afrika mempunyai gading, sedangkan pada gajah Asia hanya gajah jantan yang mempunyai gading (Grubb *et al.* 2000).

Gajah Asia di Indonesia hanya ditemukan di Sumatra (*Elephas maximus sumatranus*) dan Kalimantan bagian Timur (*Elephas maximus borneensis*). Di Indonesia berdasarkan Ordonansi Perlindungan Binatang Liar tahun 1931, gajah telah dinyatakan sebagai satwa dilindungi. Saat ini populasi terus menurun sehingga keberadaan gajah perlu diperhatikan dan dilestarikan. Spesies ini

terdaftar dalam *red list book* IUCN (*The World Conservation Union*) dengan status terancam punah, sementara itu CITES (*Convention on International Trade of Endangered Fauna and Flora*) telah memasukkan dalam katagori Appendix I.

Populasi gajah Sumatra (*Elephas maximus sumatranus*) tersebar di tujuh provinsi yaitu Nanggroe Aceh Darussalam, Sumatra Utara, Riau, Jambi, Bengkulu, Sumatra Selatan, dan Lampung (Soehartono dkk. 2007). Ancaman serius bagi populasi gajah Sumatra adalah hilangnya habitat, perburuan liar, dan degradasi habitat akibat konversi hutan untuk pertanian/perkebunan. Selain itu banyak populasi gajah terjebak dalam kantung-kantung kecil yang tidak cukup untuk mendukung kehidupan gajah. Kondisi ini memicu konflik antara manusia dan gajah yang merupakan ancaman terbesar bagi gajah Sumatra. Oleh karena itu, informasi mengenai status dan distribusi populasi gajah Sumatra, termasuk informasi mengenai keragaman genetik dari suatu populasi adalah sangat dibutuhkan untuk menentukan kebijakan, pengelolaan, dan strategi konservasi.

Genetika konservasi sebagai salah satu aplikasi genetik yang dapat digunakan sebagai intervensi pengelolaan konservasi secara optimal, dalam upaya untuk mempertahankan spesies sebagai entitas yang dinamis yang berhubungan dengan perubahan lingkungan. Studi keragaman genetik populasi gajah yang tersisa di Sumatra adalah penting untuk aktualisasi status populasi dan distribusi gajah Sumatra. Penelitian molekuler pada gajah Asia sudah banyak ditemukan, filogeni interspesies (Dene *et al.* 1980; Hoss *et al.* 1994; Hagelberg *et al.* 1994; Yang *et al.* 1996; Ozawa *et al.* 1997; Noro *et al.* 1998; Scoshani *et al.* 1998) dan filogeni intraspesies (Hartl *et al.* 1996 dan Fernando *et al.* 2000).

Hasil penelitian molekuler khusus pada populasi gajah Sumatra (*E. maximus sumatranus*) masih sangat terbatas. Kajian keragaman genetik secara maternal dari populasi gajah Sumatra (*Elephas maximus sumatranus*) dengan menggunakan D-loop DNA mitokondria telah dilakukan oleh Sulandari & Zein (2012) pada populasi di Bentayan, Bukit Salero Lahat, Seblat, Sugihan, dan Way Kambas. Hasil penelitian mendeteksi empat haplotipe (BP, BT, BS, dan BR) dimana haplotipe ini telah dilaporkan Vidya *et al.* (2008), sedangkan 2

haplotipe baru yang terdeteksi yaitu BX berasal dari haplotipe BT dan BY berasal dari haplotipe BS. Kedua haplotipe baru terbentuk karena terjadi mutasi substitusi transversal. Haplotipe BU yang ditemukan oleh Vidya *et al.* (2008) tidak terdeteksi pada penelitian yang dilakukan Sulandari & Zein (2012). Selanjutnya dikatakan hasil kajian diversitas genetik secara maternal dari populasi gajah Sumatra sangat rendah.

Berdasar hasil penelitian tersebut maka perlu melakukan analisa khusus keragaman gajah Sumatra jantan menggunakan gen Amely dari kromosom Y yang berguna untuk melacak keturunan secara paternal. Data populasi genetik yang dihasilkan berdasarkan kromosom Y masih sangat terbatas, karena ketersediaan marker kromosom Y yang jarang untuk informasi sekuen (Petit *et al.* 2002) dan level variasinya rendah (Queney *et al.* 2001; Hellborg & Ellergen 2004; Meadows *et al.* 2004). Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui variasi intraspesifik gajah Sumatra jantan di Sumatra berdasarkan kromosom Y (gen Amely), selain itu menelusuri kekerabatan gajah Sumatra dengan membandingkan Y kromosom gajah Sumatra dengan Y kromosom spesies gajah Asia dan Afrika.

BAHAN DAN CARA KERJA

Sebanyak 22 sampel darah gajah Sumatra (*Elephas maximus sumatranus*) dengan jenis kelamin jantan digunakan sebagai materi dalam penelitian ini. Koleksi sampel berasal dari 5 lokasi di Pusat konservasi gajah Sumatra, yaitu Way Kambas di Propinsi Lampung (n=10), Seblat di Propinsi Bengkulu (n=5), Bentayan di Sumatra Selatan (n=2), Sugihan di Sumatra Selatan (n=2), dan Bukit Serele Lahat di Sumatra Selatan (n=3). Sampel darah tersebut di awetkan dalam alkohol 96% absolut.

Ekstraksi DNA total menggunakan *Qiagen DNeasy®Blood & Tissue Kit*. Amplifikasi gen Amely (gen yang terpaut dengan kromosom Y) yang spesifik khusus gajah dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, menggunakan Thermal Cycler 2700 (Applied Biosystems). Amplifikasi PCR tersebut dilakukan dengan menggunakan campuran yang mengandung 30 µL reaksi dari 50 ng sampel DNA, PCR buffer 1x, 200 µM dNTP, 2 mM MgCl₂ dan 1 unit Tag DNA polimerase (Fermentas, Native dengan BSA). Primer yang digunakan adalah Amely-F2 5'-

GGT.GAG.ATA.CAG.AGA.ATC.ACA.TTT.ACT. T-3' dan Amely-R2 5'-AGC.GTT.TCT.CAA.ATC. GTT.CAA.T-3' (Roca *et al.* 2001; 2005). Kondisi PCR yang digunakan adalah sebagai berikut: predenaturasi pada temperatur 95°C selama 10-menit, diikuti oleh 45 siklus dengan denaturasi pada 94°C selama 30 detik, annealing pada suhu 60°C selama 30 detik, dan elongasi pada suhu 72°C selama 2 menit, kemudian diakhiri dengan elongasi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit. Primer ini mengamplifikasi fragmen DNA mitokondria dengan panjang 1550 pasang basa (bp). Selanjutnya produk PCR dikirim ke Macrogen Sequencing Service di Korea untuk diseku. Analisa filogenetik menggunakan metoda neighbor-joining, dimana kalkulasi matrik jarak genetik dengan model Kimura-2 parameter yang diimplementasikan pada *pairwise distance calculation* dalam program MEGA (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) Versi 6.05 (Tamura *et al.* 2013).

HASIL

Variabilitas Gen Amely

Total 22 sekuen gen Amely sepanjang 1551 pasang basa dari gajah Sumatra (*Elephas maximus sumatranus*) jantan berasal dari Way Kambas (Propinsi Lampung), Seblat (Propinsi Bengkulu), Bentayan (Sumatra Selatan), Sugihan (Sumatra Selatan), dan Bukit Sereho Lahat (Sumatra Selatan) digunakan dalam penelitian ini. Hasil sekuen gen Amely gajah Asia (*Elephas maximus*) dari *Genbank* dengan kode akses AY823325.1 digunakan sebagai rujukan dan interpretasi variasi nukleotida gen Amely gajah Sumatra. Selain itu, digunakan pembandingan urutan nukleotida dari spesies

gajah savanna Afrika (*Loxodonta Africana*) dengan kode akses AY 823320.1 dan AY 823321.1, serta gajah hutan Afrika (*Loxodonta cyclotis*) dengan kode akses AY823322.1, AY 8233223.1, dan AY 823324.1 (Tabel 1).

Hasil analisa menunjukkan bahwa *bootstrap probabilities* lebih dari 94%, dimana nilai *bootstrap* tinggi menunjukkan kestabilan pengelompokkan dalam pohon filogenetik. Hasil sekuen gen Amely dari kromosom Y dari 22 gajah Sumatra ternyata hanya terdapat satu haplotipe. Tipe sekuen (haplotipe) dari gajah sumatra sama dengan gajah Asia (*Elephas maximus*) dari *Genbank* dengan kode akses AY823325.1. dengan tingkat identifikasi 100%. (Tabel 1). Hasil pensejajaran (*alignment*) antara gajah Asia (*Elephas maximus* dan *Elephas maximus sumatranus*) dibandingkan dengan gajah Afrika (*Loxodonta Africana* dan *Loxodonta cyclotis*) terdapat situs polimorfik (*variable sites*) berjumlah 16 yaitu pada posisi panjang basa: 7, 84, 184, 309, 384, 434, 456, 570, 620, 686, 876, 945, 1234, 1321, 1427, dan 1549 (Tabel 1).

Pohon Filogeni

Hasil analisa NJ pada penelitian ini sama dengan hasil penelitian terhadap gajah Afrika dan gajah Asia (Roca *et al.* 2005). Jarak genetik antara gajah sumatra dan gajah Asia (0,0). Hal ini menunjukkan terdapat kesamaan yang tinggi antara gajah sumatra dan gajah Asia. Jarak genetik antara gajah Asia dengan *Laxondonta africana* (0,6%) dan antara gajah Asia dengan *Laxodonta cyclotis* (0,8%), sedangkan jarak genetik antara gajah Asia dan gajah Afrika (0,7%). Jarak genetik selengkapnya dapat

Tabel 1. Situs variasi sekuen gen AMELY sepanjang 1551 pasang basa pada gajah savana dan gajah hutan (gajah Afrika); *Elephas maximus sumatranus* dan *Elephas maximus* (gajah Asia).

| Spesies | Kode akses Gen bank | Situs variasi | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|---------------------|---------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 | 6 | 6 | 8 | 9 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| | | 8 | 8 | 0 | 8 | 3 | 5 | 7 | 2 | 8 | 7 | 4 | 3 | 2 | 2 | 4 | |
| | | 7 | 4 | 4 | 9 | 4 | 4 | 6 | 0 | 0 | 6 | 6 | 5 | 4 | 1 | 7 | 9 |
| <i>Loxodonta cyclotis</i> | AY823322.1 | G | C | T | G | A | A | A | T | T | C | A | A | G | A | T | T |
| <i>Loxodonta cyclotis</i> | AY8233223.1 | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | . | A | . | . | . |
| <i>Loxodonta cyclotis</i> | AY 823324.1 | . | . | A | A | . | . | . | C | . | G | C | G | . | . | C | C |
| <i>Loxodonta Africana</i> | AY823320.1 | . | . | A | A | . | . | . | C | . | G | C | G | . | . | . | C |
| <i>Loxodonta Africana</i> | AY 823321.1 | . | G | A | A | . | . | . | C | . | G | C | G | . | . | C | C |
| <i>E. maximus</i> | AY823325.1 | T | . | . | . | G | G | G | . | C | T | C | . | . | T | . | C |
| <i>E. maximus sumatranus</i> | 22 sekuen | T | . | . | . | G | G | G | . | C | T | C | . | . | T | . | C |

dilihat pada Tabel 2 dan pohon filogeni dapat dilihat pada Gambar 1.

PEMBAHASAN

Roca *et al.* (2001; 2005), Grubb *et al.* (2000) dan Comstock *et al.* (2002) menunjukkan bahwa gajah savana (*Loxodonta africana*) dan gajah hutan (*Loxodonta cyclotis*) merupakan dua spesies yang berbeda, kemudian Roca *et al.* (2005) menginformasikan hasil analisis gen Amely dari kromosom Y, yaitu gajah hutan, gajah savanna, gajah Asia masing masing mengelompok dalam *clade* yang berbeda. Pada penelitian ini dilakukan analisa terhadap 22 sekuen gajah Sumatra (*Elephas maximus sumatranus*) berasal dari 5 lokasi Pusat konservasi gajah Sumatra, ternyata semua sekuen gajah Sumatra mengelompok dengan *Elephas maximus* (Gajah Asia) dalam satu haplotipe yang sama. Jadi tidak ada perbedaan hasil sekuen gen Amely (1551 pasang basa) pada gajah Sumatra dan gajah Asia. Hal ini menunjukkan variasi genetik intraspesies gen Amely homogen dimana tidak terdapat situs polimorfik. Hasil ini menunjukkan bahwa secara paternal kekerabatan gajah Sumatra dengan gajah Asia sangat dekat, sedangkan variasi interspesies dari gajah Asia dan gajah Afrika dapat membentuk *clade* yang jelas terpisah sesuai dengan yang dilaporkan Roca *et al.* (2005), yaitu *clade* gajah savana (*Loxodonta africana*), gajah hutan (*Loxodonta cyclotis*), dan gajah Asia (*Elephas maximus*) termasuk gajah sumatra (*Elephas maximus sumatranus*).

Jarak genetik antar spesies berdasarkan sekuen gen Amely dari kromosom Y, yaitu *Elephas maximus* dan *Loxodonta africana* 0,6%, antara *Elephas maximus* dan *Loxodonta cyclotis* 0,8%, dan antara *Elephas maximus* dan *Elephas maximus sumatranus* 0%, sedangkan jarak genetik rata-rata gajah Asia dengan gajah Afrika yaitu 0,7%. Hasil kajian ini menunjukkan jarak genetik antar spesies gajah dengan menggunakan sekuen gen Amely sangat dekat. Hal ini karena gen Amely yang

merupakan bagian *non coding* (intron) mempunyai situs polimorfik rendah (Queney *et al.* 2001; Hellborg & Ellergen 2004; Meadows *et al.* 2004). Namun informasi sekuen marker kromosom Y ini jarang tersedia untuk berbagai spesies (Petit *et al.* 2002).

Pada kajian variasi genetik gajah Sumatra secara maternal telah dilakukan dengan menggunakan D-loop DNA mitokondria menunjukkan hasil diversitas genetik yang juga rendah, dimana terdapat satu haplotipe dominan mencapai 91,4% dari 105 individu yang berasal dari lima lokasi konservasi gajah Sumatra, dimana jarak genetik dalam populasi berkisar 0,0-0,0003 dan jarak genetik antar populasi 0,0-0,0022 (Sulandari & Zein 2012). Selain itu mempunyai diversitas haplotipe 0,74±0,0523 dan diversitas nukleotida 0,004±0,0025 (Vidya *et al.* 2008). Hasil penelitian pada 57 gajah Asia dari Sri Langka, India, Nepal, Myamar, Thailand, Malaysia, dan Indonesia diketahui terdapat 2 *clade* utama dengan jarak genetik 2% pada gen Cytochrome b dan 5% pada daerah control DNA mitokondria (Fleicher *et al.* 2001).

Hasil kajian gajah Sumatra secara paternal dan maternal memberi gambaran variasi genetik yang rendah. Oleh sebab itu penelitian lebih lanjut dapat dilakukan dengan deteksi hubungan kekerabatan dalam populasi gajah Sumatra dengan menggunakan sidik jari DNA. Diharapkan kajian dengan menggunakan marker mikrosatelit ini dapat memberikan gambaran lebih jelas terhadap struktur populasi gajah Sumatra yang semakin menurun jumlah populasi akibat dari habitat yang semakin sempit dan perburuan ilegal yang masih sering terjadi.

KESIMPULAN

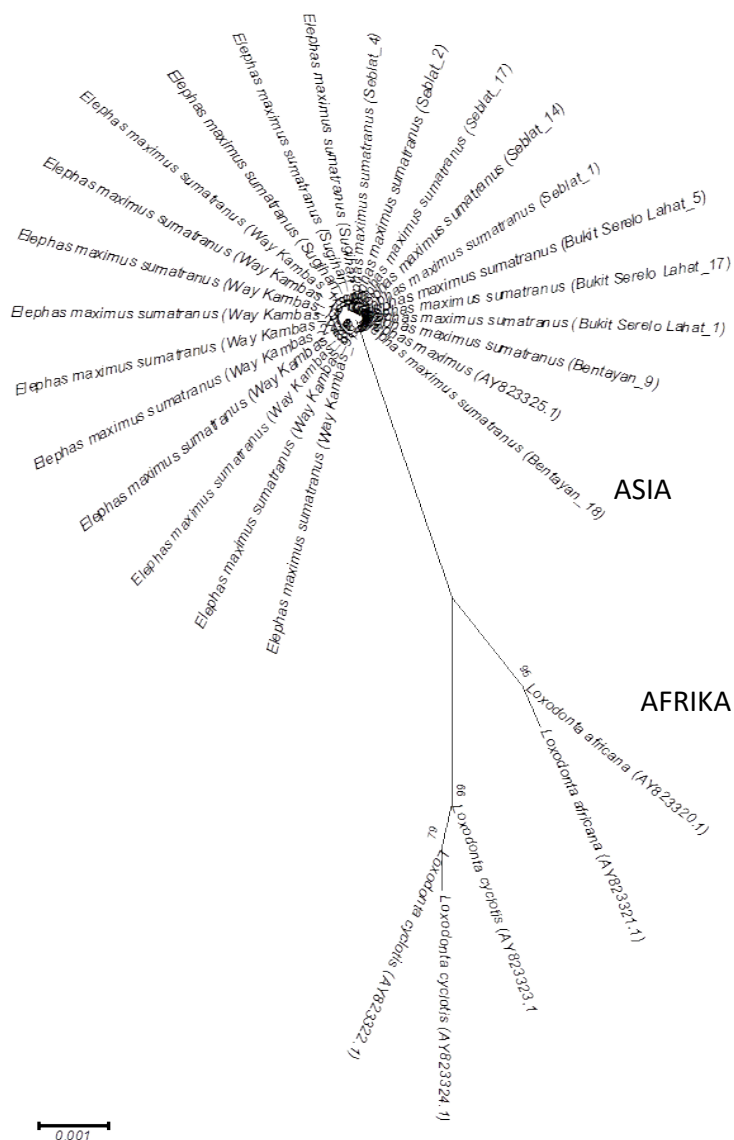
Variabilitas intraspesies gen Amely relatif homogen dan secara paternal Gajah Sumatra dan gajah Asia mempunyai haplotipe yang sama, sedangkan variasi interspesifik dapat membentuk 3 *clade* dimana posisi gajah sumatra berada dalam *clade* gajah Asia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih pada Rini dan Inda (Teknisi Laboratorium Genetika Bidang

Tabel 2. Jarak genetik berdasarkan gen Amely

| | | | |
|-----------------------|-------|-------|-------|
| <i>E.maximus</i> | | | |
| <i>E.m.sumatranus</i> | 0,000 | | |
| <i>L.africana</i> | 0,006 | 0,006 | |
| <i>L.cyclotis</i> | 0,008 | 0,008 | 0,008 |



Gambar 1. Pohon filogeni dengan Neighbour Joining pada populasi *Elephas maximus sumatranus* dan *Elephas maximus* (Gajah Asia); *Loxodonta africana* dan *Loxodonta cyclotis* (Gajah Afrika)

Zoologi) yang telah membantu kegiatan analisa di Laboratorium. Penelitian ini dibiayai oleh DIPA Pusat Penelitian Biologi-LIPI

DAFTAR PUSTAKA

Dene, H., M. Goodman, & AE. Romero-Herrera. 1980. The amino acid sequence of elephant (*Elephas maximus*) myoglobin and the phylogeny of Proboscidea. *Proceedings Royal Society of London (Biology)* 207:111-127.
 Fernando P., ME. Pfrender, SE. Encalada, & R. Lande. 2000. Mitochondrial DNA variation, phyleogeography and population structure of the Asian elephant, *Heredity*, 84:362-372.

Grubb P., CP. Groves, JP. Dudley, & J. Shoshani, 2000. Living African elephants belong to two species: *Loxodonta Africana* (Blumenbach, 1797) and *Loxodonta cyclotis* (Matschie, 1900). *Elephant*. 2(4):1-4.
 Hageberg, E., MG. Thomas, ECJr. Cook, AV. Sher, GF. Baryshnikov, & AM. Lister. 1994. DNA from ancient mammoth bones. *Nature* 370: 333-334.
 Hartl, GB, F. Kurt, R. Tiedemann, C. Gmeiner, & K. Nadlinger. 1996. Population genetics and systematics of Asian elephant (*Elephas maximus*): A study based on sequence variation at the Cyt b gene of PCR amplified mitochondrial DNA from

- hair bulbs. *Z Saugetierkunde* 61: 285-290.
- Hellborg L., & H. Ellegren. 2004. Low levels of nucleotide diversity in mammalian Y chromosomes. *Molecular Biology and Evolution*. 21: 158-63
- Hoss, M., S. Paabo, & NK. Vereshchagin. 1994. Mammoth DNA sequence. *Nature* 370: 333.
- Meadows, JRS., RJ. Hawken, & JW. Kijas. 2004. Nucleotide diversity on the ovine Y chromosome. *Anim. Genet.* 35: 379-385.
- Noro, M., R. Masuda, IA. Dubrovo, MC. Yoshida, & M. Kato. 1998. Molecular phylogenetic inference of the woolly mammoth *Mammuthus primigenius*, based on complete sequence of mitochondrial cytochrome B and 12S ribosomal RNA genes. *Journal Molecular and Evolution* 46: 314-326.
- Ozawa, T., S. Hayashi, & VM. Mikhelson. 1997. Phylogenetic position of mammoth and Steller's sea cow within tethytheria demonstrated by mitochondrial DNA Sequence. *Journal Molecular and Evolution* 44: 406-423
- Petit, E., F. Balloux, & L. Excoffier. 2002. Mammalian population genetics: why not Y? *Trends Ecology and Evolution*. 17: 28-33
- Queney, G., N. Ferrand, S. Weiss, F. Mougel, & M. Monnerot. 2001. Stationary distributions of microsatellite loci between divergent population groups of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Molecular Biology Evolution*. 18: 2169-78
- Roca, AL., N. Georgiadis, J. Pecon-Slatery, & SJ. O'Brien SJ, 2001. Genetic evidence for two species of elephant in Africa. *Science*. 293:1473-1477.
- Roca, AL., & SJ. O'Brien. 2005. Genomic inferences of Afrotheria and the evolution of elephants, *Current Opinion in Genetics & Development*. 15:652-659.
- Roca, A., N. Georgiadis & SJ. O'Brien. 2005. Cytonuclear genomic dissociation in African elephant species. *Nature Genet.* 37(1):96-100 (+supplementary data).
- Shoshani, J., EM. Golenberg, H. Yang. 1998. Elephantidae phylogeny: morphological versus molecular result. *Acta Theriologica*, Suppl 5: 89-122.
- Sulandari, S. & MSA. Zein. 2012 Mitochondrial DNA variation of the Sumatran elephant in Sumatra. *International Jurnal Biotropia* 19(2) 92-102.
- Soehartono, T., HD. Susilo, D. Gunaryadi, EM. Purastuti, W. Azmi, AN. Fadhli, & C. Stremme. 2007. Strategi dan Rencana Aksi Konservasi Gajah Sumatra dan Gajah Kalimantan 2007-2017. Departemen Kehutanan
- Vidya, TNC., R. Sukumar & DJ. Melnick. 2008. Range-wide mtDNA phylogeography yields insights into the origins of Asian elephants, *Proceedings of the Royal Society B*: 1-10
- Yang, H., EM. Golenberg, & J. Shoshani. 1996. Phylogenetic resolution within the Elephantidae using fossil DNA sequence from the American mastodon (*Mammuth americanum*) as an outgroup. *Proceedings. Natals. Academic Science USA* 93: 1190-1194