

ASAM AMINO SPESIFIK PADA DAERAH CYTOCHROME B SEBAGAI PENANDA GENETIK HARIMAU SUMATERA (*Panthera tigris sumatrae*)

Ulfi Faizah

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya
Gedung C3, Lantai II, Kampus UNESA Ketintang Surabaya 60231
Email: ulfi_faizah05@yahoo.com

ABSTRAK

Faizah, U. 2011. Asam amino spesifik pada daerah cytochrome b sebagai penanda genetik harimau Sumatera (*Panthera tigris sumatrae*). *Zoo Indonesia* 20(2), 27-33. Saat ini status Harimau Sumatera terancam punah. Oleh karena itu, salah satu upaya konservasi adalah fokus pada konservasi genetik. Cytochrome b (=Cyt. b) pada DNA mitokondria telah digunakan secara luas untuk mempelajari keragaman genetik dan hubungan filogenetik. Tujuan dari penelitian ini adalah (1) untuk menganalisis keragaman genetik berdasarkan penanda genetik Cyt. b pada Harimau Sumatera, (2) untuk mengetahui filogeni dari subspecies Harimau Sumatera dengan Harimau lain di dunia. Amplifikasi gen dilakukan dengan metode PCR menggunakan primer UF-06 dan UF-07 (675 pb). Hasilnya adalah (1) terdapat satu situs asam amino spesifik, yakni situs 40 (Valin); (2) Harimau Sumatera memiliki hubungan terdekat dengan Harimau India dan Harimau Indo-Cina, hubungan terjauh adalah dengan harimau Siberia. Asam amino spesifik pada daerah Cyt. b dapat digunakan sebagai penanda genetik Harimau Sumatera dan dapat membedakan antara subspecies harimau.

Kata kunci: Harimau Sumatera, konservasi genetik, Cyt. b, asam amino

ABSTRACT

Faizah, U. 2011. Specific amino acid in cytochrome b as a genetic marker of Sumatran tigers (*Panthera tigris sumatrae*). *Zoo Indonesia* 20(2), 27-33. The status of the Sumatran tiger is currently endangered now. Therefore, the conservation effort must be focused on its genetic conservation. Cytochrome b (=Cyt. b) of mitochondrial DNA has been used extensively in studying genetic diversity and phylogenetic relationships. The aims of the current study this research are (1) to analyze genetic diversity based on genetic marker Cyt. b of the Sumatran tiger; (2) to construct the phylogeny of the Sumatran tiger subspecies with other tigers of the world. The amplification of the genes was performed through PCR method by using primers UF-06 and UF-07 (675 bp). The result shows (1) one specific amino acid site, i.e. site 40 (Valin); (2) the Sumatran tiger has the closest relationship with the Indian and the Indo-Chinese tigers, and the farthest relationship is with the Siberian tiger. Cyt b genetic marker is suitable for the Sumatran tiger genetic marker and it is a good marker for distinguishing tigers subspecies.

Keywords: Sumatran tiger, genetic conservation, Cyt. b, amino acid

PENDAHULUAN

Menurut Staf Konservasi Keanekaragaman Hayati, Seksi Konservasi Wilayah II Balai Konservasi Sumber Daya Alam (BKSDA) Sumatera Barat, Rully Permana, saat ini populasi Harimau Sumatera (*Panthera tigris sumatrae*) diperkirakan tinggal 300 ekor yang tersebar di seluruh wilayah Sumatera. Di dalamnya meliputi Taman Nasional Gunung Leuser, Taman Nasional Kerinci Seblat, dan Taman Nasional Bukit Barisan Selatan (Kompas.com 2011).

Dikarenakan jumlahnya yang semakin menurun, IUCN (2011) mengategorikan Harimau Sumatera dalam status “critically endangered” atau satwa langka yang kritis yaitu kategori tertinggi dari ancaman kepunahan. Sedangkan CITES (*Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*) memasukkan Harimau Sumatera ke dalam Appendix: 1, artinya kategori hewan yang sangat dilarang untuk diperdagangkan baik pada tingkat nasional maupun internasional (CITES 2011). Keragaman genetik suatu populasi

sangat penting dalam konservasi karena keragaman genetik yang tinggi akan sangat membantu suatu populasi beradaptasi terhadap perubahan-perubahan yang terjadi di lingkungan sekitarnya dan memiliki tingkat *breeding* yang tinggi. Mengetahui status genetik suatu populasi dapat dirancang suatu program konservasi untuk menghindari kepunahan dan membantu pengembangan rencana pengelolaan kelangsungan hidupnya (Damayanti 2007).

Cytochrome b (Cyt. b) adalah salah satu gen dari DNA mitokondria (mtDNA) yang banyak digunakan untuk penelitian identifikasi dan hubungan atau filogeni antara spesies dari genus atau famili yang sama. Hal itu disebabkan gen Cyt b adalah penyandi protein dan merupakan daerah *conserve* atau tidak banyak mengalami perubahan atau mutasi basa sehingga lebih sensitif digunakan sebagai penanda genetik/marka atau *barcode* untuk identifikasi kemurnian spesies (Widayanti 2006).

Beberapa penelitian tentang Cyt. b pada subspesies harimau (*P. tigris* sp.) telah dilakukan di antaranya oleh Cracraft *et al.* (1998) dan Lou *et al.* (2004) tetapi informasi genetik gen Cyt. b pada

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Juni 2007 sampai dengan Mei 2008. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Pusat Studi Sumber Daya Hayati dan Bioteknologi (PSSHB), Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM), Institut Pertanian Bogor (IPB).

Sampel penelitian untuk total DNA berasal dari darah empat ekor Harimau Sumatera koleksi Taman Safari Indonesia, Cisarua-Bogor. Keempat ekor Harimau Sumatera tersebut merupakan hasil tangkapan langsung dari habitatnya yang berasal dari empat daerah berbeda di Sumatera yaitu Medan, Riau, Jambi, dan Bengkulu (Tabel 1).

Metode ekstraksi dan isolasi DNA menggunakan Phenol-Chloroform (Duryadi 1997, 2005). Amplifikasi dengan teknik PCR pada daerah Cyt. b parsial menggunakan primer UF-06 ((F) 5' AGCAGCAGTCCACCTCCTATTCC TT 3') dan primer UF-07 (R) 5' GCTTTGGGTGCTGATGGTGGGGCTA 3'). Larutan pre-reaksi pada penelitian ini menggunakan Go Tag[®] PCR *Core Systems* dari Promega. Volume reaksi

Tabel 1. Daftar sampel yang digunakan

No	Nama Harimau	Asal Daerah	Kode Sampel	Keterangan
1	Cicis	Medan	HS1c	Pengambilan sampel 22 Juni 2007
2	Minas	Riau	HS2c	Pengambilan sampel 7 September 2007
3	Jabung	Jambi	HS3c	Pengambilan sampel 7 September 2007
4	Simba	Bengkulu	HS4c	Pengambilan sampel 11 April 2008

Harimau Sumatera belum banyak dilakukan. Penelitian ini menggunakan gen Cyt. b parsial untuk mendapatkan data keragaman genetik dan mengetahui karakteristik penanda genetik asam amino spesifik pada Harimau Sumatera. Data tersebut dapat digunakan sebagai acuan penanda genetik dalam konservasi genetik Harimau Sumatera yang bermanfaat untuk identifikasi kemurnian genetik dan mengetahui hubungan kekerabatannya.

PCR adalah 50 µl dengan komposisi seperti pada Tabel 2. Proses PCR pada penelitian ini menggunakan mesin *GeneAmp^(R) PCR system 2400* (Perkin-Elmer). Kondisi PCR untuk mengamplifikasi daerah target penelitian terdapat pada Tabel 3.

Proses sekuensing dilakukan di First BASE Laboratories Sdn Bhn-Malaysia. Data hasil pembacaan sekuen dianalisis dengan menggunakan program MEGA 4.0 (Tamura *et al.* 2007). Hasil analisis

asam amino berupa matriks rata-rata “jarak genetik p” (*p-distance*). Analisis filogeni menggunakan metode *bootstrap Neighbor-Joining* (NJ) dengan 1000 kali pengulangan. *Multiple alignment* untuk daerah Cyt. b parsial menggunakan data pembandingan dari

GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) yang terdiri dari sebuah sekuen lengkap mtDNA Harimau Siberia dan 30 sampel sekuen Cyt. b parsial berbagai subspecies harimau dari penelitian Cracraft (1998) (Tabel 4).

Tabel 2. Komposisi PCR untuk mengamplifikasi daerah Cyt. b parsial

Komposisi	Cyt. b parsial
DNA template	4 µl
Primer Forward (20pmol/ µl)	1,5 µl
Primer Reverse (20 pmol/ µl)	1,5 µl
dNTP (10mM)	1 µl
5x buffer	5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	3 µl
5 unit Taq (5u/ µl)	0,25 µl
ddH ₂ O	33,75 µl

Tabel 3. Kondisi PCR untuk mengamplifikasi daerah Cyt. b parsial

Kondisi	Cyt. b parsial
Predenaturasi	94°C / 5 menit
Denaturasi	94°C / 45 detik
Annealing	52°C / 1 menit
Extension	72°C / 1 menit
Final ekstension	72°C / 7 menit
Siklus	35 x
Volume	50 µl

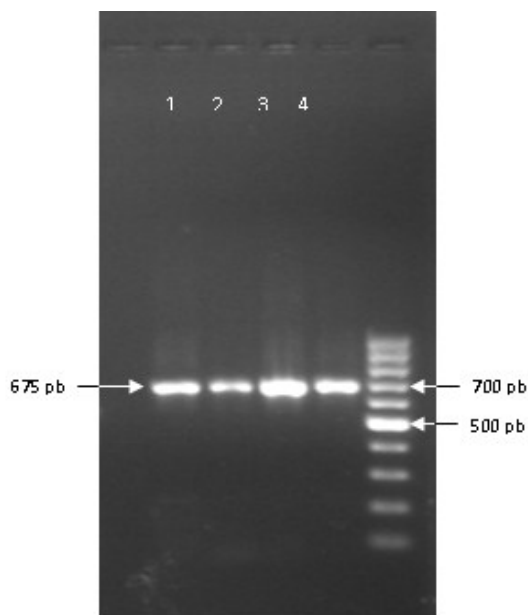
Tabel 4. Data sekuen subspecies harimau pembandingan untuk daerah Cyt. b parsial

No	No Gen Bank	Kode	Nama Spesies	Asal	Panjang sekuen (pb)	Pustaka/keterangan
1	EF551003	Pt. alt	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	16990	Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov)
2	AF053040	Pt. sum su1	<i>P. t. sumatrae</i>	Sumatera	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
3	AF053041	Pt. sum su2	<i>P. t. sumatrae</i>	Sumatera	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
4	AF053042	Pt. sum su3	<i>P. t. sumatrae</i>	Sumatera	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
5	AF053043	Pt. sum su4	<i>P. t. sumatrae</i>	Sumatera	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
6	AF053044	Pt. sum su5	<i>P. t. sumatrae</i>	Sumatera	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
7	AF053045	Pt. sum su6	<i>P. t. sumatrae</i>	Sumatera	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
8	AF053046	Pt. sum su7	<i>P. t. sumatrae</i>	Sumatera	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
9	AF053047	Pt. sum su9	<i>P. t. sumatrae</i>	Sumatera	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
10	AF053048	Pt. sum su10	<i>P. t. sumatrae</i>	Sumatera	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
11	AF053049	Pt. cor c1	<i>P. t. corbetti</i>	Indo China	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
12	AF053050	Pt. cor c2	<i>P. t. corbetti</i>	Indo China	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
13	AF053021	Pt. tig b5	<i>P. t. tigris</i>	India	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
14	AF053022	Pt. tig b6	<i>P. t. tigris</i>	India	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
15	AF053023	Pt. tig b7	<i>P. t. tigris</i>	India	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
16	AF053024	Pt. tig b8	<i>P. t. tigris</i>	India	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
17	AF053025	Pt. tig b9	<i>P. t. tigris</i>	India	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998

No	No Gen Bank	Kode	Nama Spesies	Asal	Panjang sekuen (pb)	Pustaka/keterangan
18	AF053026	Pt. alt s1	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
19	AF053027	Pt. alt s2	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
20	AF053028	Pt. alt s3	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
21	AF053029	Pt. alt s4	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
22	AF053030	Pt. alt s5	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
23	AF053031	Pt. alt s6	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
24	AF053032	Pt. alt s7	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
25	AF053033	Pt. alt s8	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
26	AF053034	Pt. alt s10	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
27	AF053035	Pt. alt s11	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
28	AF053036	Pt. alt s12	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
29	AF053037	Pt. alt s13	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
30	AF053038	Pt. alt s14	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998
31	AF053039	Pt. alt s15	<i>P. t. altaica</i>	Siberia	1140	Cracraft <i>et al.</i> 1998

HASIL DAN PEMBAHASAN

Amplifikasi daerah Cyt. b parsial mtDNA dengan menggunakan primer UF-06 dan UF-07 pada keempat sampel Harimau Sumatera (*Panthera tigris sumatrae*) menghasilkan produk PCR berukuran 675 pb (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil amplifikasi daerah Cyt. b parsial. No. 1-4: DNA hasil amplifikasi menggunakan pasangan primer UF-06 dan UF-07, No. 5: DNA penanda 100 pb

Untuk mengetahui status genetik Harimau Sumatera maka analisis keragaman genetik menggunakan data pembandingan Cyt. b parsial dari GenBank untuk *multiple alignment*. Basa nukleotida yang dibandingkan sepanjang 549 pb. Dari 549 pb nukleotida pada daerah Cyt. b parsial tersebut selanjutnya diterjemahkan dalam bentuk asam amino dan didapatkan 183 asam amino yang terdiri dari Isoleusin (I), Treonin (T), dan Valin (V). Hasil analisa dari jajaran sekuen asam amino terdapat tiga buah situs yang beragam dari empat subspecies harimau (*Panthera tigris altaica*, *Panthera tigris sumatrae*, *Panthera tigris corbetti*, dan *Panthera tigris tigris*) dan menghasilkan asam amino spesifik pada Harimau Sumatera yaitu Valin (GTC) dan basa spesifik (Tabel 5).

Harimau Sumatera mempunyai sebuah situs asam amino yang spesifik yaitu pada asam amino ke -40 dengan asam amino V (Valin) sedangkan subspecies harimau lainnya mempunyai asam amino I (Isoleusin).

Situs asam amino spesifik pada Harimau Sumatera adalah pada asam amino ke-40 (asam amino

Tabel 5. Tiga situs asam amino yang beragam di daerah Cyt. b parsial (183 asam amino) pada beberapa subspecies harimau (Sekuen acuan *Panthera tigris altaica* [Pt. alt], EF551003)

Subspecies	40/(23 6)	44/(240)	107/(303)
Pt. alt	I	T	T
HS1c	V	I	I
HS2c	V	I	I
HS3c	V	I	I
HS4c	V	I	I
Pt. sum1	V	I	I
Pt. sum2	V	I	I
Pt. sum3	V	I	I
Pt. sum4	V	I	I
Pt. sum5	V	I	I
Pt. sum6	V	I	I
Pt. sum7	V	I	I
Pt. sum9	V	I	I
Pt. sum10	V	I	I
Pt. cor1	I	I	I
Pt. cor2	I	I	I
Pt. tig 5	I	I	I
Pt. tig 6	I	I	I
Pt. tig 7	I	I	I
Pt. tig 8	I	I	I
Pt. tig 9	I	I	I
Pt. alt1	I	T	T
Pt. alt2	I	T	T
Pt. alt3	I	T	T
Pt. alt4	I	T	T
Pt. alt5	I	T	T
Pt. alt6	I	T	T
Pt. alt7	I	T	T
Pt. alt8	I	T	T
Pt. alt10	I	T	T
Pt. alt11	I	T	T
Pt. alt12	I	T	T
Pt. alt13	I	T	T
Pt. alt14	I	T	T
Pt. alt15	I	T	T

Keterangan:
 Nomor dalam kurung adalah nomor situs asam amino pada Cyt. butuh sekuen acuan *P. t altaica* [Pt. alt], EF551003

tasi dari A (Adenin) menjadi G (Guanin) pada basa pertama dari *triple codon*nya. Mutasi substitusi basa pada asam amino ke-40 ini bersifat non sinonim, karena dari pembacaan *triple codon* yang berbeda (dari ATC menjadi GTC) menyebabkan terjadinya penyandian asam amino yang berbeda (dari Isoleusin menjadi Valin) (Tabel 6).

Perubahan basa nukleotida pada posisi 369 yaitu Adenin (A) dari Guanin (G) menunjukkan basa spesifik pada Harimau Sumatera tetapi *triple codon*-nya tidak menyandikan asam amino yang spesifik. Hal ini disebabkan *triple codon* CCA menyandikan asam amino yang sama dengan yang disandikan subspecies harimau lainnya (*triple codon* CCG) yaitu asam amino Prolin (P). Basa nukleotida yang mengalami mutasi atau perubahan basa pada codon ketiga dari *triple codon* dan umumnya tidak merubah asam amino yang dihasilkan (*effect Wobble*) atau bersifat substitusi sinonim di mana terdapat lebih dari satu codon untuk satu asam amino (Tabel 6).

Hubungan kekerabatan Harimau Sumatera dalam penelitian ini dengan subspecies harimau lain dapat dibandingkan berdasarkan matrik rata-rata “jarak genetik p” dari asam amino yang disajikan

Tabel 6. Ilustrasi penterjemahan asam amino ke-40 dan 123 pada daerah Cyt. b parsial pada Harimau Sumatera dibanding kan dengan subspecies harimau yang lain

Asam amino ke ...	40 (236)			123 (319)				
No. situs nukleotida	130 (706)	131 (707)	132 (708)	Terjemahan as. amino mutasi substitusi non sinonim	367 (955)	368 (956)	369 (957)	Terjemahan as. amino mutasi substitusi si- nonim
Basa nukleotida Harimau Sumatera	G	T	C	V (Valin)	C	C	A	P (Prolin)
Basa nukleotida Harimau subspecies lain	A	T	C	I (Isoleusin)	C	C	G	

Keterangan: Nomor dalam kurung adalah nomor basa nukleotida pada Cyt. b utuh sekuen acuan *P. t altaica* [Pt. alt], EF551003

ke-236 pada Cyt. b utuh) yaitu V (Valin) dengan *triple codon* GTC. Pada subspecies harimau lainnya di situs ini menyandikan I (Isoleusin) dengan *triple codon*nya ATC. Dengan demikian telah terjadi mu-

pada (Tabel 7).

Analisa jarak genetik menunjukkan bahwa sekuen pada populasi Harimau Sumatera baik koleksi Taman Safari Indonesia Bogor maupun dari

Tabel 7. Matrik rata-rata “jarak genetik p” (*p-distance*) dari asam amino di daerah Cyt. b parsial (183 asam amino) beberapa subspecies harimau

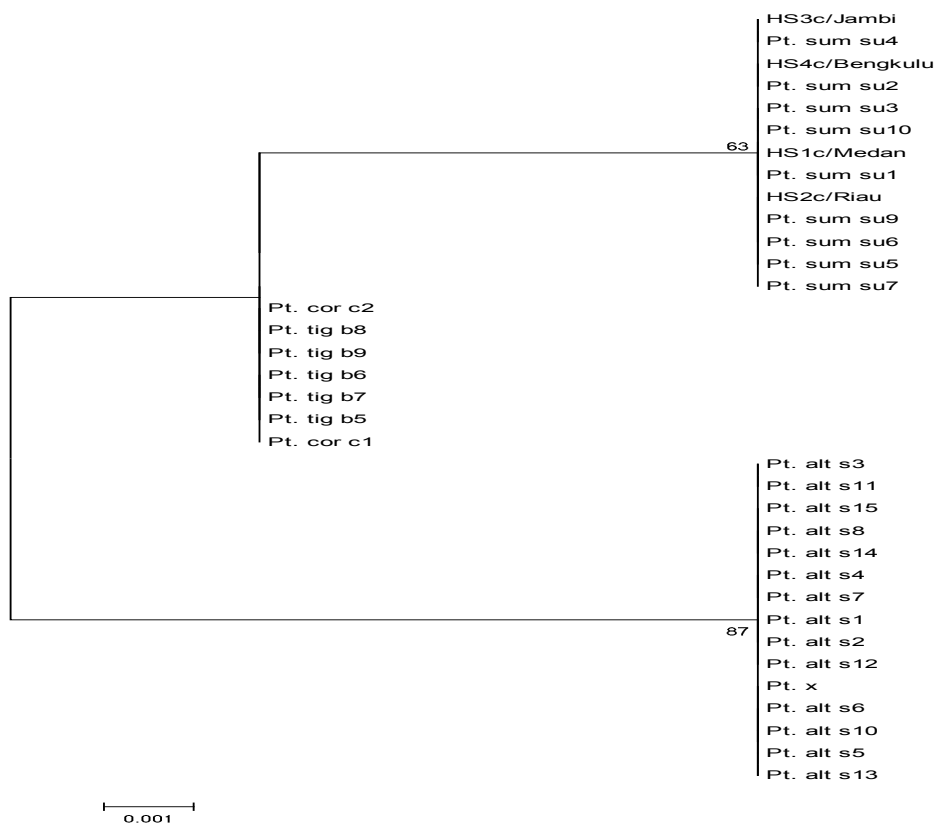
Subspecies	<i>P. t. alt</i>	<i>P. t. sumatrae</i>	<i>P. t. corbetti</i>	<i>P. t. tigris</i>	<i>P. t. altaica</i>
<i>P. t. alt</i> (n = 1)					
<i>P. t. sumatrae</i> (n = 13)	0.017				
<i>P. t. corbetti</i> (n = 2)	0.011	0.006			
<i>P. t. tigris</i> (n = 5)	0.011	0.006	0.000		
<i>P. t. altaica</i> (n = 14)	0.000	0.017	0.011	0.011	

Keterangan: n = number/jumlah

GenBank (Cracraft *et al.* 1998), tidak terdapat mutasi basa dan perbedaan asam amino. Hal ini menunjukkan bahwa asam amino antara individu Harimau Sumatera yang ada tidak beragam. Dibandingkan dengan sub spesies lainnya Harimau Sumatera memiliki perbedaan jarak genetik terkecil dengan *P. t. tigris* dan *P. t. corbetti*, sedangkan yang terbesar dengan *P. t. altaica*.

Rekonstruksi pohon filogeni berdasarkan “jarak genetik p” (*p-distance*) dari asam amino di daerah Cyt. b parsial antara berbagai subspecies harimau terdapat pada Gambar 2.

Pohon filogeni pada Gambar 2 memperlihatkan percabangan yang relatif sederhana yaitu terbentuk dua kluster besar, dengan salah satu kluster-nya membentuk dua subkelompok. Pada kluster



Gambar 2. Filogeni berdasarkan “jarak genetik p” (*p-distance*) dari asam amino di daerah Cyt. b parsial (183 asam amino) beberapa subspecies harimau. (Nama latin dalam gambar 2 mengacu pada Tabel 4)

pertama walaupun berasal dari kelompok awal yang sama, *P.t. tigris* dan *P.t. corbetti* masuk dalam satu subkelompok sedangkan *P.t. sumatrae* membentuk sub kelompok tersendiri. Sedangkan pada kluster kedua tidak terjadi pemisahan subkelompok yang terdiri dari *P.t. altaica*. Hasil ini juga ditunjukkan oleh jarak genetik di antara subspecies seperti pada Tabel 7.

Dari rekonstruksi filogeni berdasarkan “jarak genetik p” (*p-distance*) asam amino di daerah Cyt. b parsial untuk berbagai subspecies harimau menunjukkan bahwa Harimau Sumatera mengelompok tersendiri terpisah dari subspecies harimau yang lain. Hal ini membuktikan bahwa asam amino pada Cyt. b parsial dapat digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan yang spesifik pada Harimau Sumatera jika dibandingkan dengan subspecies harimau lainnya.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa berdasarkan analisis marka genetik asam amino daerah Cyt. b parsial pada Harimau Sumatera didapatkan sebuah situs asam amino spesifik yaitu situs asam amino ke 40 (V). Situs spesifik tersebut dapat digunakan sebagai marka genetik dalam mengidentifikasi kemurnian genetik dari Harimau Sumatera apabila akan dilakukan usaha konservasi genetiknya karena dapat digunakan untuk membedakan antar subspecies Harimau Sumatera dengan subspecies harimau yang lain. Berdasarkan rekonstruksi filogeni menggunakan marka genetik asam amino pada daerah Cyt. b parsial diketahui bahwa hubungan kekerabatan antar individu Harimau Sumatera dalam penelitian ini adalah Harimau Sumatera paling dekat dengan Harimau India (*P.t. tigris*) dan Harimau Indo-China (*P.t. corbetti*) sedangkan paling jauh dengan Harimau Siberia (*P.t. altaica*).

DAFTAR PUSTAKA

- CITES. 2011. CITES appendices. <http://www.cites.org/eng/app/appendices.shtml>, diakses 20 Juli 2011.
- Cracraft, J., Feinstein, J., Vaughn, J., Helm-Bychowski, K. 1998. Sorting out tigers (*Panthera tigris*): Mitochondrial sequences, nuclear inserts, systematics, and conservation genetics. *Anim Conser* 1: 139-150.
- Damayanti, C.S. 2007. Peranan studi genetik dalam kegiatan konservasi. <http://vetopia.wordpress.com/2007/11/02/peranan-studi-genetik-dalam-kegiatan-konservasi> diakses 14 Agustus 2008.
- Duryadi, D. 1997. Isolasi dan Purifikasi Mitochondrian (mtDNA). Laboratorium Biologi Molekuler Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi (PPSH) Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Duryadi, D. 2005. Prinsip-Prinsip dalam teknologi molekuler. pelatihan singkat teknik biologi molekuler “Kerjasama Pusat Studi Ilmu Hayati, Lembaga Penelitian dan Pemberdayaan Masyarakat Institut Pertanian Bogor dan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Depdiknas”. Bogor.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources). 2011. IUCN red list of threatened species. Version 2011.1. (www.iucnredlist.org diakses 20 Juli 2011).
- Kompas.com. Rabu, 20 Juli 2011. Harimau Sumatera terancam. (<http://regional.kompas.com/read/2011/07/19/20500455/Harimau.Sumatera.Terancam.> diakses 20 Juli 2011).
- Luo, S.-J., J.-H. Kim, W.E. Johnson, J. van der Walt, J. Martenson, N. Yuhki, D.G. Miquelle, O. Uphyrkina, J.M. Goodrich, H.B. Quigley, R. Tilson, G. Brady, P. Martelli, V. Subramaniam, C. McDougal, S. Hean, H. Shi-Qiang, P. Wenshi, U.K. Karanth, M. Sunquist, J.L.D. Smith, S.J. O'Brien. 2004. Phylogeography and genetic ancestry of tiger (*Panthera tigris*). *PloS Biology* 2 (12): e442. doi:10.1371/journal.pbio.0020442.
- Tamura K., J. Dudley, M. Nei, S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* doi 10.1093/molbev/msm092.
- Widayanti R. 2006. Kajian penanda genetik gen Cytochrome B dan daerah D-loop pada *Tarsius* sp. [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.