

## METODE NON INVASIF UNTUK IDENTIFIKASI BEKANTAN (*Nasalis larvatus*) SUNGAI BARITO SECARA MOLEKULER

Badruzaufari<sup>1\*</sup>, Rani Sasmita<sup>1</sup>, Amelia Rezeki<sup>2</sup>, Widiana Ramadana Yanti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Jalan A.Yani KM. 35, Banjarbaru, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Lambung Mangkurat  
Jalan Brigjen H. Hasan Basri, Banjarmasin, Indonesia

\*Corresponding author: badruzaufari@ulm.ac.id

**Abstrak.** Pengambilan sampel genetik non-invasif memberikan potensi besar untuk diaplikasikan pada penelitian dan konservasi bekantan. Peneliti dapat memperoleh DNA guna proses identifikasi dari berbagai sumber termasuk feses, tanpa memegang, menyebabkan stress, bahkan kematian pada bekantan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi teknik pengambilan sampel genetik dari feses untuk aplikasi identifikasi molekuler bekantan (*Nasalis larvatus*). Sampel feses diambil dari 2 lokasi, yaitu Pulau Curiak dan Pulau Bakut. Gen COII (*cytochrome c oxidase subunit II*) diisolasi dan diamplifikasi menggunakan primer F: 5' – AAC CAT TTC ATA ACT TTG TCAA – 3' dan R: 5' –CTC TTA ATC TTT AAC TTA ACT TAA AAG– 3. Produk PCR kemudian dikloning ke dalam vektor pTA2 dan ditransformasikan ke bakteri *Escherichia coli*. Koloni yang terbentuk diamplifikasi dengan primer T3 dan T7 *promotor*, kemudian diisolasi dan ditentukan urutan nukleotida dengan metode *bidirectional sequencing*. Hasil penentuan urutan nukleotida dan analisis bioinformatika menunjukkan sampel feses yang berasal dari Pulau Curiak dan Pulau Bakut adalah 99,52% identik dengan bekantan (*Nasalis larvatus*). Sampel feses memiliki potensi untuk digunakan secara luas dalam identifikasi molekuler primata untuk kepentingan pengelolaan dan konservasi secara genetik.

**Kata kunci:** bekantan, non-invasif, COII, feses, molekuler

### 1. PENDAHULUAN

Bekantan (*Nasalis larvatus* Wurmb) atau *proboscis monkey* adalah hewan primata endemik Pulau Kalimantan, yang menjadi fauna identitas Kalimantan Selatan. Primata ini hidupnya banyak di daerah lahan basah seperti hutan rawa, hutan mangrove, hutan lahan basah dataran rendah, dan sebagian kecil hidup di hutan dataran lembab dan kering (Bismark, 2009). Bekantan termasuk dalam daftar merah (*Red list*) atau *endangered species* atau jenis hewan yang terancam punah (Meijaard, 2008). Ancaman ini utamanya muncul dari kerusakan habitatnya akibat penebangan pohon (*logging*), budidaya pertanian, dan pemukiman (Meijaard & Nijman, 2000). Akibatnya, bekantan seringkali ditemui memasuki daerah perkotaan dan pemukiman warga yang dapat membahayakan bekantan itu sendiri. Usaha yang dilakukan untuk mengembalikan ke habitatnya dilakukan oleh pihak berwenang, seperti Balai Konservasi dan Sumber Daya Alam, serta lembaga swadaya masyarakat, seperti Sahabat Bekantan Indonesia (SBI).

Penciri atau identitas genetik pada hewan primata seperti *proboscis monkey* (bekantan) dapat diturunkan dari urutan DNA baik yang terdapat pada genom inti maupun mitokondria, diantaranya adalah urutan DNA pada D-loop region (Nijman, 2016) dan gen sitokrom b mitokondria (Muangkram, W. Wajjwalku *et al.*, 2016). Preparasi sampel untuk marker ini umumnya memerlukan prosedur yang invasif seperti pengambilan jaringan atau darah yang sangat sulit dilakukan pada bekantan terutama yang hidup liar. Untuk itu perlu menggunakan metode non-invasif, seperti penggunaan rambut atau feses (Henry, Henry *et al.* 2011; Zhanga, Xiaob *et al.* 2015). DNA dari genom inti maupun dari mitokondria bekantan dapat diekstrak dari fesesnya karena hancuran jaringan yang terbawa keluar bersama feses. Tersedianya bahan dan metode secara komersil dapat mengatasi masalah ekstraksi DNA dari feses, sehingga sangat memungkinkan untuk menganalisis genetik bekantan menggunakan metode DNA *barcoding* (Amato, Metcalf *et al.* 2016).

Daerah gen yang berbeda digunakan untuk mengidentifikasi kelompok organisme yang berbeda menggunakan *barcode*. Gen sebagai penanda *barcode* yang paling umum digunakan untuk hewan dan beberapa protista adalah bagian dari gen sitokrom c oksidase I (COI atau COX1) dan sitokrom c oksidase II (COII atau

COX2) yang ditemukan dalam DNA mitokondria. Gen lain yang cocok untuk *barcode* DNA adalah rRNA *internal transcribed spacer* (ITS) yang sering digunakan untuk jamur dan RuBisCO untuk tanaman. Mikroorganisme diidentifikasi menggunakan gen yang berbeda, yaitu gen 16S rRNA. Daerah gen ini dipilih karena memiliki variasi intraspesifik (dalam spesies) yang lebih sedikit daripada variasi interspesifik (antar spesies), sehingga sangat ideal diaplikasikan untuk identifikasi molekuler.

Guna kepentingan konservasi bekantan dengan pendekatan molekuler, pelepas liar perlu memperhatikan latar belakang genetik bekantan baik individu yang dilepaskan, juga kelompok yang akan didatangi oleh bekantan yang dilepaskan agar dapat mempertahankan keragaman genetik kelompok bekantan. Permasalahan ini memerlukan metode atau teknik non-invasif dan mudah dilakukan karena sifat bekantan yang pemalu dan mudah stress serta statusnya yang dilindungi. Metode secara molekuler yang menggunakan pendekatan metode DNA *barcoding* tampaknya dapat diaplikasikan untuk mengetahui latar belakang genetik baik individu maupun kelompok bekantan beserta komposisi. Untuk itu perlu dilakukan uji terhadap bekantan liar yang berada di Pulau Bakut dan Pulau Curiak, Sungai Barito. Berdasarkan hal tersebut, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi apakah teknik pengambilan sampel genetik non-invasif (dari feses) dapat digunakan untuk identifikasi molekuler bekantan (*Nasalis laravatus*).

## 2. METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus sampai dengan Oktober 2020. Lokasi pengambilan sampel adalah di Pulau Curiak dan Bakut. Lokasi penelitian di Laboratorium Genetika dan Biologi Molekuler FMIPA Universitas Lambung Mangkurat dan Laboratorium PT. Genetika Science, Indonesia.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian antara lain *micropipette*, *tips*, inkubator, *PCR thermal cycle*, *electrophoresis apparatus system*, *microcentrifuge*, dan *illumina sequencing*. Bahan yang digunakan adalah sampel feses bekantan, *Genomic DNA Extraction Zymo Fecal & Soil Extraction Kit* (Zymo Research), *KOD FX Neo Catalog No. KFX-201 (TOYOBO)*, *Primer: L6955 5' – AAC CAT TTC ATA ACT TTG TCAA – 3'*, *Primer H7766 5' –CTC TTA ATC TTT AAC TTA ACT TAA AAG– 3'*, *ZymoClean Gel DNA Recovery Kit*, *TArget Clone™ Catalog No. TAK 101 (TOYOBO)*, *pTA2 vector*, *Mix & Go E. coli Transformation Kit* (Zymo Research), *KOD FX Neo Catalog No. KFX-20 (TOYOBO)*, *Primer T3 & T7 promotor*, *ZymoBiomic Miniprep Kit* (Zymo Research), dan *MyTaq HS RedMix (Bioline 25047)*.

### 2.1. Pengambilan Sampel

Sampel non-invasif diambil dari feses Bekantan di lokasi Pulau Curiak dan Bakut. Sampel feses dikumpulkan dalam tabung *falcon* dan ditempatkan di *ice box* untuk pengawetan sementara sebelum dipindahkan ke *freezer* dan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### 2.2. Ekstraksi dan Amplifikasi DNA

DNA genom total diekstraksi sesuai protokol standar dari *Genomic DNA Extraction Zymo Fecal & Soil Extraction Kit* (Zymo Research). Gen COII diamplifikasi dengan PCR menggunakan primer L6955 5' – AAC CAT TTC ATA ACT TTG TCAA – 3' (*forward*), H7766 5' –CTC TTA ATC TTT AAC TTA ACT TAA AAG– 3' (*reverse*) (Chaves *et al.*, (2006)). Reaksi PCR terdiri dari denaturasi awal pada  $92^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit, diikuti dengan 35 siklus (denaturasi pada  $92^{\circ}\text{C}$  selama 1 menit, *annealing* pada  $48^{\circ}\text{C}$  selama 45 detik dan *extension* pada  $72^{\circ}\text{C}$  selama 1 menit) dan *final extension* pada  $72^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit. Produk PCR dipurifikasi menggunakan *ZymoClean Gel DNA Recovery Kit* Katalog No. D4002 (Zymo Research), dikloning menggunakan vektor pTA2, diligasikan dengan *TArget Clone™* Katalog No. TAK 101 (TOYOBO), ditransformasikan ke dalam *E. coli* DH5 $\alpha$  menggunakan *Mix & Go E. coli Transformation Kit* Katalog No. T3001 (TOYOBO) kemudian diamplifikasi dengan primer *T3 dan T7 promotor* menggunakan *KOD FX Neo* Katalog No. KFX-20 (TOYOBO). Plasmid kemudian diisolasi menggunakan *Genomic DNA extraction using ZymoBiomic Miniprep Kit* (Zymo Research) dan diamplifikasi menggunakan *PCR mix MyTaq HS RedMix* (Bioline 25047). Produk PCR kemudian dikirimkan oleh PT. Genetika Science, Indonesia untuk dianalisis urutan nukleotidnya menggunakan teknik *bi-directional sequencing*.

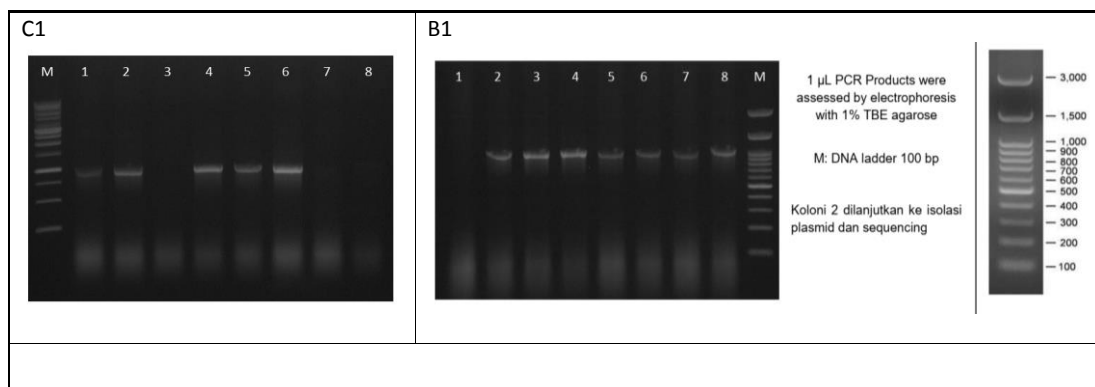
### 2.3. Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan hasil pembacaan *kromatogram* dari urutan gen COII ( $\pm 800$  bp). Kemudian dilakukan analisis komplemen dengan *alignment* untuk sekuen yang memiliki T3 dan T7 promotor, dan sekuen insert. Hasil *consensus* dicocokkan dengan BLAST secara *online*, dengan tujuan mengetahui kemiripan gen target dengan *Query Cover* yang diperoleh dari *Gene Bank*.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Hasil

Hasil PCR menunjukkan gen COII teramplifikasi dengan panjang 800 bp (Gambar 1.). Ukuran panjang hasil amplifikasi dalam penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Chaves *et al.*, (2006), yang memperoleh ukuran kurang lebih 800 bp.



Gambar 1. Hasil amplifikasi gen COII sampel feses bekantan (*N. larvatus*) dalam gel agarose 1%. C1 adalah sampel yang berasal dari Pulau Curiak, sedangkan B1 adalah sampel yang berasal dari Pulau Bakut. M adalah *marker* atau *ladder* DNA dengan ukuran 100 bp.

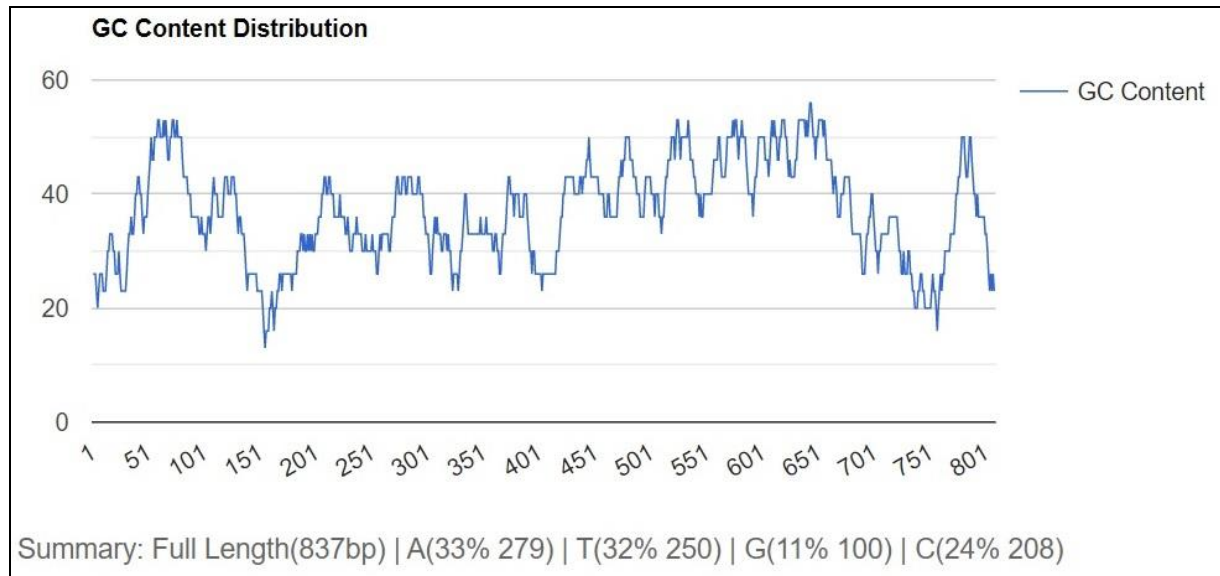
#### >Seq.COII,Bekantan,Bakut,B1

```
AACCATTTTCATAACTTTGTCAAAGCTAAATATAGGATATATCCCTATATATCTTATATGCCTCACCCAGTTCAACTAGGCCTACAAGATGCCACATCCCCTATCATAGAAG  
AATTAATTGCCTTTCACGACCATGCCTTTATAATCGTATCCCTAATTAGCTTTTATGTTTTATGTTTTATCATCAGTACTCACAACAAAATTAACCTAACACCAACATCACA  
GATGCTCAAGAGATAGAACTATCTGAACCTATCTTACCAGCAATTTCTAATCCTAATTGCACCTCCATCCCACGTATTCTCTACTTAACAGACGAAATCAATAATCCCT  
CATTTACTATCAAAATCAATTGGACACCAATGATATTGAACCTTATGAATATACGGACTACGGAGGCTTAATCCTTAAATCTTATATACTCCACCACATTTCTTAAATCCAGG  
GACCTTCGACTTCTAGAAGTTGACAATCGAGTAGTACTTCCAATTGAAGCCCTGTCCGTATAAATAATTACATCCCAAGACGTCTACACTCCTGAACTATCCCTACACTG  
GGTTTAAAAACAGATGCTATCCCCGGACGCTTAAACCAAAACCCTTTCACCTGCTATACGACCAAGGCTTTACTACGGACAATGCTCAGAAATCTGCGGGCCCAACCCACA  
GCTTTATGCCAATTGTTGCAGAACTAATCCCCTAAAAATTTTTGAAATAGGGCCTGTTTTCACTCTATAAACACATTAAAAACACCTTACTTAATAATCTCTTAAATTAACCA  
AAACCCACTGTATAGCTGCCACAGCATTAACTTTAAGTTAAAGATTAAGAG
```

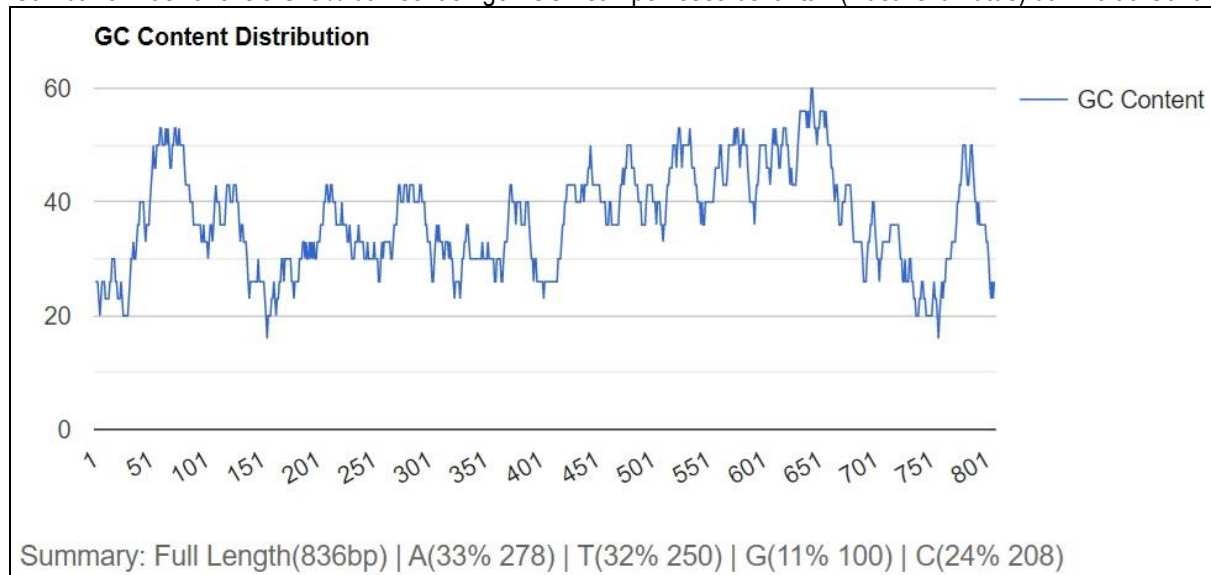
#### >Seq.COII,Bekantan,Curiak,C1

```
AACCATTTTCATAACTTTGTCAAAGCTAAATATAGGATATATCCCTATATATCTTATATGCCTCACCCAGTTCAACTAGGCCTACAAGATGCCACATCCCCTATCATAGAAG  
AATTAATTGCCTTTCACGACCATGCCTTTATAATCGTATCCCTAATTAGCTTTTATGTTTTATGTTTTATCATCAGTACTCACAACAAAATTAACCTAACACCAACATCACA  
GATGCTCAAGAGATAGAACTATCTGAACCTATCTTACCAGCAATTTCTAATCCTAATTGCACCTCCATCCCACGTATTCTCTACTTAACAGACGAAATCAATAATCCCT  
CATTTACTATCAAAATCAATTGGACACCAATGATATTGAACCTTATGAATATACGGACTACGGAGGCTTAATCCTTAAATCTTATATACTCCACCACATTTCTTAAATCCAGG  
AGACCTTCGACTTCTAGAAGTTGACAATCGAGTAGTACTTCCAATTGAAGCCCTGTCCGTATAAATAATTACATCCCAAGACGTCTACACTCCTGAACTATCCCTACACT  
GGTTTAAAAACAGATGCTATCCCCGGACGCTTAAACCAAAACCCTTTCACCTGCTATACGACCAAGGCTTTACTACGGACAATGCTCAGAAATCTGCGGGCCCAACCCACA  
AGCTTTATGCCAATTGTTGCAGAACTAATCCCCTAAAAATTTTTGAAATAGGGCCTGTTTTCACTCTATAAACACATTAAAAACACCTTACTTAATAATCTCTTAAATTAACCA  
AAACCCACTGTATAGCTGCCACAGCATTAACTTTAAGTTAAAGATTAAGAG
```

Gambar 2. Hasil sekuen gen COII sampel feses bekantan (*N. larvatus*) dari Pulau Bakut (B1) dan Curiak (C1)

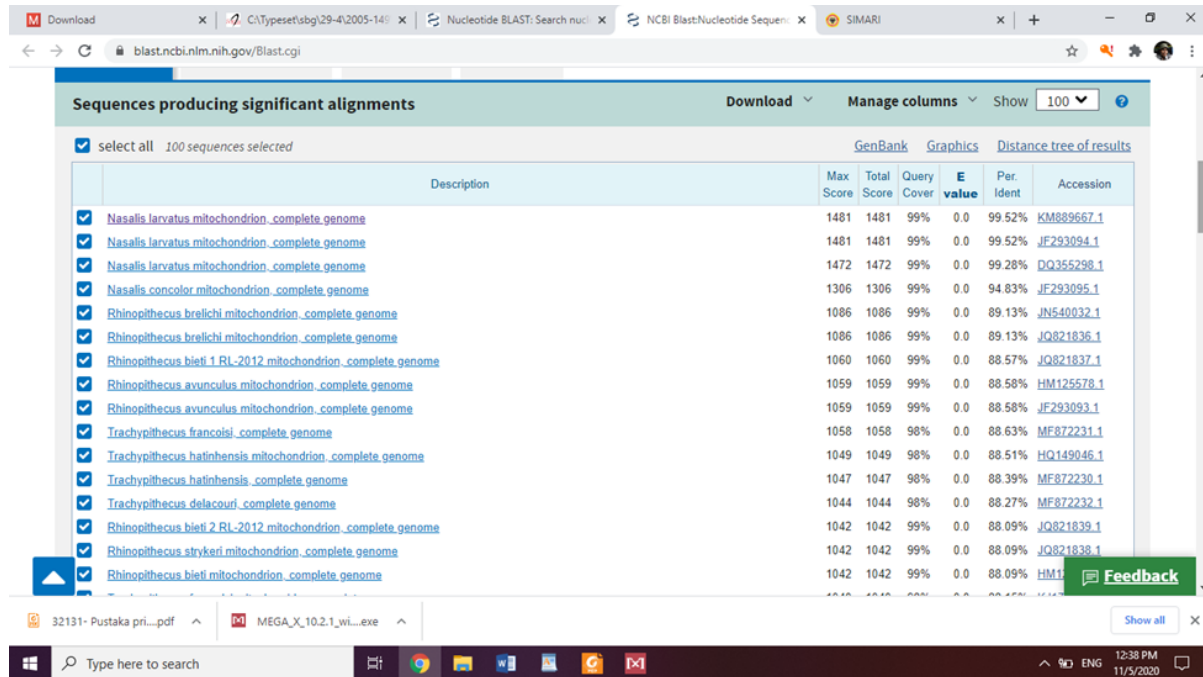


Gambar 3. Hasil analisis G-C% dari sekuen gen COII sampel feses bekantan (*Nasalis larvatus*) dari Pulau Curiak



Gambar 4. Hasil analisis G-C% dari sekuen gen COII sampel feses bekantan (*Nasalis larvatus*) dari Pulau Bakut

Berdasarkan analisis urutan nukleotida menggunakan *bi-directional sequencing*, sekuen gen COII dari feses bekantan di Pulau Bakut dan Curiak masing-masing terdiri dari 836 bp dan 837 bp (Gambar 2). Data sekuen yang didapatkan kemudian dianalisis menggunakan *software online GC Content* di alamat <https://www.biologicscorp.com/tools/GCContent/> untuk menentukan persentase tiap basa yang dimiliki sekuen tersebut. Hasil analisis menunjukkan jumlah basa pada gen COII sampel feses dari Pulau Bakut terdiri dari Adenin (A) sebesar 33%, Timin (T) sebesar 32%, Guanin (G) sebesar 11%, dan Sitosin (C) sebesar 24% (Gambar 4), sedangkan dari Pulau Curiak terdiri dari Adenin (A) sebesar 33%, Timin (T) sebesar 32%, Guanin (G) sebesar 11%, dan Sitosin (C) sebesar 24% (Gambar 3).



Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Nasalis larvatus mitochondrion complete genome	1481	1481	99%	0.0	99.52%	KM889667.1
Nasalis larvatus mitochondrion complete genome	1481	1481	99%	0.0	99.52%	JF293094.1
Nasalis larvatus mitochondrion complete genome	1472	1472	99%	0.0	99.28%	DQ355298.1
Nasalis concolor mitochondrion complete genome	1306	1306	99%	0.0	94.83%	JF293095.1
Rhinopithecus brelichi mitochondrion complete genome	1086	1086	99%	0.0	89.13%	JN540032.1
Rhinopithecus brelichi mitochondrion complete genome	1086	1086	99%	0.0	89.13%	JQ821836.1
Rhinopithecus bieti 1 RL-2012 mitochondrion complete genome	1060	1060	99%	0.0	88.57%	JQ821837.1
Rhinopithecus avunculus mitochondrion complete genome	1059	1059	99%	0.0	88.58%	HM125578.1
Rhinopithecus avunculus mitochondrion complete genome	1059	1059	99%	0.0	88.58%	JF293093.1
Trachypithecus francoisi complete genome	1058	1058	99%	0.0	88.63%	MF872231.1
Trachypithecus hatinhensis mitochondrion complete genome	1049	1049	98%	0.0	88.51%	HQ149046.1
Trachypithecus hatinhensis complete genome	1047	1047	98%	0.0	88.39%	MF872230.1
Trachypithecus delacourii complete genome	1044	1044	98%	0.0	88.27%	MF872232.1
Rhinopithecus bieti 2 RL-2012 mitochondrion complete genome	1042	1042	99%	0.0	88.09%	JQ821839.1
Rhinopithecus strykeri mitochondrion complete genome	1042	1042	99%	0.0	88.09%	JQ821838.1
Rhinopithecus bieti mitochondrion complete genome	1042	1042	99%	0.0	88.09%	HM125579.1

Gambar 5. Hasil BLAST terhadap sekuen sampel penelitian

Hasil BLAST (Gambar 5) dengan menggunakan data gen mtDNA *N. larvatus* pada Gene Bank di <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> menunjukkan bahwa identitas atau tingkat kemiripan sampel penelitian mencapai 99% adalah *N. larvatus* (KM889667.1; JF293094.1; DQ355298.1; JF293095.1).

### 3.2. Pembahasan

Bekantan (*N. larvatus*) merupakan hewan endemik Pulau Kalimantan yang terancam punah (Meijaard *et al.*, 2008). Salah satu upaya konservasi bekantan adalah melalui pendekatan genetik dan molekuler, yang memiliki tujuan utama menentukan kepastian identitas dan taksonomi melalui pendekatan molekuler. Kepastian identitas ini diperlukan untuk praktik perlindungan hukum bagi bekantan, pembuatan peta distribusi, penentuan jenis kelamin, pengambilan data variasi dan struktur genetik dari tiap populasi, hingga monitoring tingkah laku dan habitatnya di alam bebas. Status bekantan yang rawan kepunahan, membuat seorang peneliti harus benar-benar yakin dan mengutamakan aspek keselamatan, keamanan, dan kenyamanan ketika berinteraksi dengan bekantan sebagai hewan model penelitian. Penggunaan metode non invasif adalah jalan terbaik untuk penelitian bekantan, karena sifatnya sangat mensejahterakan (*animal welfare*) hewan. Metode non invasif yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan pengambilan sampel feses dari bekantan yang berada pada 2 lokasi berbeda, yaitu Pulau Curiak dan Bakut, untuk tujuan identifikasi secara molekuler.

Berdasarkan hasil analisis pengurutan nukleotida dan bioinformatika, sampel feses yang berasal dari Pulau Curiak dan Bakut adalah identik dengan bekantan (*N. larvatus*). Hasil penelitian yang sama dibuktikan oleh Mazlan *et al.*, (2019), bahwa sampel feses dapat digunakan untuk identifikasi *N. larvatus* di wilayah Malaysia yang terletak di Pulau Kalimantan, untuk tujuan mengetahui keragaman genetik antar populasi bekantan. Penelitian dengan pengambilan sampel non invasif serupa, telah dilakukan juga oleh Nayasilana *et al.* (2010), dengan hasil bahwa sampel feses merupakan sumber terbaik untuk identifikasi bilou (*Hylobates klossii*) secara molekuler menggunakan gen 12S rRNA dari mtDNA. Sampel feses juga terbukti dapat mengidentifikasi primata famili Atelidae yaitu *Brachyteles hypoxanthus* guna kepentingan penentuan struktur genetik monyet tersebut di dua populasi berbeda (Fagundes *et al.*, 2008). Pengambilan sampel feses sah untuk aplikasi identifikasi monyet (*Presbytis femoralis*) secara molekuler untuk kepentingan metagenomik dan metabarcoding (Srivathsan *et al.*, 2016). Kajian molekuler untuk penentuan jenis kelamin dan *genotyping* menggunakan penanda mikrosatelit juga berhasil dikerjakan dari sampel feses bekantan (Inoue *et al.*, 2016). Pengambilan sampel non invasif dari feses terbukti dapat digunakan untuk identifikasi secara molekuler banyak jenis primata di dunia.

Analisis DNA yang digunakan dalam penelitian ini merupakan analisis DNA mitokondria (mtDNA), dengan target sekuen gen COII (*cytochrome oxidase subunit II*). Gen COII adalah salah satu gen mitokondria yang paling banyak digunakan dalam kajian filogenetik. Pada primata, gen COII telah digunakan untuk menyimpulkan hubungan filogenetik dalam Hominoidea dan Cercopithecoidea (Ruvolo *et al.*, 1991) dan *new world monkey* atau kelompok Platyrrhini (Ascunce *et al.*, 2003).

Berdasarkan hasil penelitian, gen COII yang diamplifikasi dari sampel feses bekantan di Pulau Curiak dan Bakut mempunyai ukuran panjang basa masing-masing adalah 837 bp dan 836 bp. Hasil penelitian yang didapatkan, sesuai dengan kajian oleh Chaves *et al.* (2006) yang mampu mengamplifikasi gen COII pada *Brachyteles* dengan target sekuen sekitar 800 bp. Kajian analisis genetika molekuler dari urutan gen COII juga mampu mengidentifikasi kegiatan ilegal dalam hal jual beli monyet genus *Aotus*, yang banyak digunakan sebagai model hewan percobaan (Ruiz-Gracia *et al.*, 2016). Berdasarkan kajian yang dilakukan oleh Chen *et al.*, (2012), identifikasi spesies dengan sekuens COII memiliki frekuensi keberhasilan yang lebih tinggi (tingkat kemiripan 90,8% sampai dengan 96,9%) dan menghasilkan nilai divergensi genetik intra- dan antarspesifik yang lebih rendah daripada dua penanda lainnya (COI dan Cytb).

Berdasarkan hasil penelitian, ada beberapa hal yang perlu diperhatikan ketika proses pengambilan sampel feses untuk tujuan isolasi DNA maupun mtDNA. Hal pertama adalah penggunaan sendok plastik, kayu maupun spatula *stainless steel* dengan panjang 10 sampai 15 cm, yang sebelumnya harus disterilkan terlebih dahulu. Kemudian sampel feses segar atau kurang dari 24 jam adalah sampel feses yang terbaik untuk isolasi DNA, dan sebaiknya harus segera ditampung dalam *cryovial* kecil atau *microtube* steril. Penggunaan sarung tangan karet sekali pakai adalah wajib saat proses pengambilan sampel dilakukan. Hal ini bertujuan untuk menghindari kontaminasi silang sampel dan potensi penularan penyakit yang mungkin saja dibawa oleh bekantan. Tindakan pencegahan seperti vaksinasi Hepatitis B juga dapat dilakukan bagi peneliti yang cenderung melakukan kontak langsung dengan kotoran primata.

Pengambilan sampel non invasif dari feses bekantan memiliki beberapa hambatan di lapangan, salah satunya adalah sulitnya menemukan bekantan yang dapat dijadikan objek penelitian, dimana jenis satwa ini adalah pemalu dan bergerak sangat cepat ketika ada manusia asing yang mendekati habitatnya. Peneliti harus benar-benar mengetahui kapan satwa ini secara berkelompok keluar dari sarang (pukul 08.00-10.00 WITA), yang akan memudahkan dalam pemantauan kapan bekantan mengalami proses defekasi guna diambil kotorannya. Koleksi sampel dalam bentuk segar, mewajibkan peneliti tiba di lokasi pengambilan sampel pada pagi hari, sehingga menghindari koleksi sampel tidak segar yang kemungkinan besar telah terkontaminasi.

#### 4. SIMPULAN

Metode pengambilan sampel genetik dari feses untuk aplikasi identifikasi molekuler bekantan (*Nasalis larvatus*) sangat efektif dan dapat dijadikan acuan untuk mempelajari bekantan melalui pendekatan molekuler. Gen COII yang diisolasi dari feses bekantan dapat diamplifikasi dan disekuensing menghasilkan urutan nukleotida sepanjang 836 bp (Pulau Bakut) dan 837 bp (Pulau Curiak).

#### 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada: Universitas Lambung Mangkurat yang telah mendanai penelitian ini pada Program Hibah Dosen Wajib Meneliti dengan sumber dana DIPA PNBP Universitas Lambung Mangkurat Dengan Surat Penugasan No. 211.140/Un8.2/PI/2020.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

- Ascunce, Marina S., E. Hasson & M.D. Mudry. (2003). "COII: a useful tool for inferring phylogenetic relationships among New World monkeys (Primates, Platyrrhini)". *Zoologica Scripta*. 32 (5): 397–406.
- Amato, K. R., J. L. Metcalf, *et al.* (2016). "Using the gut microbiota as a novel tool for examining colobine primate GI health." *Global Ecology and Conservation*. 7: 225-237.
- Bismark, M. (2009). *Biologi Konservasi Bekantan (Nasalis larvatus)*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam. Bogor.
- Chaves, Paulo B, Marcela F. Paes, Sérgio L. Mendes, Karen B. Strier, Iúri D. Louro, & Valéria Fagundes. (2016). "Non-invasive genetic sampling of endangered muriqui (Primates, Atelidae): "Efficiency of fecal DNA extraction". *Genetics and Molecular Biology*. 29(4): 750-754.
- Chen, Rui., Li-Yun Jiang., & Ge-Xia Qiao. (2012). "The effectiveness of three regions in mitochondrial genome for aphid DNA barcoding: a case in Lachninae". *PLOS ONE*. 7 (10): 1-11.

- Fagundes, V., M.F.Paes., P.B.Chaves., S. L. Mendes., C. B. Possamai., J.P., Boubli., & K.B. Strier. (2008). "Genetic structure in two northern miqui populations (*Brachyteles hypoxanthus*, Primates, Atelidae) as inferred from fecal DNA". *Genetics and Molecular Biology*. 31(1): 166-171.
- Henry, P., A. Henry, *et al.* (2014). "A Non-invasive Hair Sampling Technique to Obtain High Quality DNA from Elusive Small Mammals." *Journal of Visualized Experiments*. 49 (2791): 1-5.
- Inoue, E., & E. F. Akomo-Okoue. (2015). "Application of DNA barcoding techniques to mammal inventories in the African rain forest: droppings may inform us of the owners". *Tropics*. 23(4):137-150.
- Mazlan, N., M. R. A. Rahman., R.C.T. Tingga., M. T. Abdullah., & F.A.A. Khan. (2019). "Population Genetics Analyses of the Endangered Proboscis Monkey from Malaysian Borneo". *Folia Primatol.* 90:139–152.
- Meijaard, E. & V. Nijman. (2000). "Distribution and conservation of the proboscis monkey (*Nasalis larvatus*) in Kalimantan, Indonesia." *Biological Conservation*. 92: 15 - 24.
- Meijaard, E. & V. Nijman (2000). "The local extinction of the proboscis monkey *Nasalis 20 larvatus* in Pulau Kaget Nature Reserve, Indonesia." *Oryx*. 34(1): 66-70.
- Meijaard, E., Nijman, V. & Supriatna, J. (2008). *Nasalis larvatus*. The IUCN Red List of Threatened Species.
- Muangkram, Y., W. Wajjwalku, *et al.* (2016). "The novel primers for mammal species identification-based mitochondrial cytochrome b sequence: implication for reserved wild animals in Thailand and endangered mammal species in Southeast Asia." *Mitochondrial DNA Part A*. 29(1): 62-72.
- Nayasilana, I.N., S.S.U. Atmoko., Firman. (2010). "Teknik Analisis Non-Invasif Mitokondria DNA (MtDNA) BILOU (*Hylobates klossii*, Miller 1903) Melalui Polymerase Chain Reaction". *Jurnal Primatologi Indonesia*. 7(1): 27-33.
- Nijman, V. (2016). "Genetic Differentiation in Proboscis Monkeys—A Reanalysis." *Zoo Biology*. 35: 1–3.
- Ruiz-García, M., C. Vásquez., E. Camargo., L. F. Castellanos-Mora., H. Gálvez., N. Leguizamón., and J. M. Shostell. (2013). "Molecular Genetics Analysis of mtDNA COII Gene Sequences Shows Illegal Traffic of Night Monkeys (*Aotus*, *Platyrrhini*, Primates) in Colombia". *Journal of Primatology*. 2(1): 1-9.
- Srivathsan, A., A.Ang., A.P. Volger., R. Meier. (2016). "Fecal metagenomics for the simultaneous assessment of diet, parasites, and population genetics of an understudied primate". *Frontiers in Zoology*. 13 (17): 1-13
- Zhanga, Z. M., D. M. Xiaob, *et al.* (2015). "An efficient protocol for genomic DNA extraction from the endangered species *Rhinopithecus brelichi*." *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 29 (3): 530-535.