

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lutung Jawa

Lutung Jawa dalam Bahasa Inggris dikenal sebagai *Javan Langur* atau *Ebony Leaf Monkey*, dalam Bahasa Latin lutung ini dikenal sebagai *Trachypithecus auratus* yang mempunyai beberapa nama sinonim *Trachypithecus maurus* Horsfield (1823), *Trachypithecus pyrrus* Horsfield (1823), *Trachypithecus sondaicus* Robinson and Kloss (1919), *Trachypithecus kohlbruggei* Sody (1931), dan *Trachypithecus stresmanni* Pocock (1934) (IUCN, 2006). Supriatna dan Wahyono (2000) menegaskan bahwa Lutung Jawa dikenal dengan nama seperti Langur (dalam Bahasa Hindi berarti berekor panjang). Lutung (Sunda), Budeng (Jawa), Petu dan Hiredeng (Bali) (Taman Nasional Baluran, 2005).

Habitat asli Lutung Jawa berada pada hutan hujan tropis yang hanya ditemukan di Pulau Jawa, seperti Taman Nasional Alas Purwo, Taman Nasional Bromo Tengger Semeru (TNBTS), Pegunungan Hyang, Taman Nasional Baluran, Pulau Sempu, Tahura R. Soerjo, Taman Nasional Gunung Halimun (Rosa dan Harun, 2000; *Endangered Species Team*, 2003), beberapa sumber menyebutkan satwa ini juga ditemukan di Bali, Lombok (Brandon-Jones *et al.*, 2004; Roos *et al.*, 2008), Bangka, Belitung, Kepulauan Riau, Serasaan dan Sumatera Selatan (Brandon-Jones, 1998). Menurut Brandon-Jones (2006), keberadaan Lutung Jawa di Pulau Bali dan Lombok diduga karena proses introduksi dimana pada jaman Hindia-Belanda, beberapa ekor Lutung Jawa dilepasliarkan di daerah tersebut.

2.2 Morfologi dan Klasifikasi Lutung Jawa

Genus *Trachypithecus* mempunyai susunan warna utama abu-abu, gelap, warna coklat atau hitam. Bayi *Trachypithecus* khususnya di Benua Asia berwarna abu-abu atau warna coklat, pada umumnya berwarna terang. Warna pada Lutung Jawa dewasa akan berubah warna menjadi lebih gelap dan sebagian jenis mempunyai berbagai tanda kekuning-kuningan atau putih pada jambul kepala, bahu, atau lengan dan kaki. Genus *Trachypithecus* di Vietnam, mempunyai jambul panjang di atas kepala dan pinggiran kening yang lebar (Nadler *et al.*, 2002)

Lutung Jawa sebagian besar mempunyai warna hitam dan yang lain berwarna coklat kemerahan. Kulit wajah berwarna kebiru-biruan berbadan langsing dan berekor panjang. Wajah berukuran pendek dan lebar, berwarna hitam abu-abu, tampak keriput, tulang pipi wajah melengkung. Lutung Jawa mempunyai panjang kepala dan tubuh sepanjang 46-75 cm, dan ekor 61-75 cm, dengan berat rata-rata 7,1 kg (Noel, 1996).

Lutung akan mencapai usia dewasa umur 4-5 tahun. Satwa ini dapat hidup hingga 20 tahun. Ambarwati (1999), mengategorikan umur pada kelompok Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) seperti tertuang pada **Tabel 2.1**.

Tabel 2.1 Kategori tingkat umur *Trachypithecus auratus*

No	Kategori	Ciri-ciri
1	Bayi	1-5 bulan rambut pada tubuh berwarna oranye
2	Remaja 1	5-8 bulan ukuran tubuh sedang dan belum matang kelamin
3	Remaja 2	8-10 bulan warna rambut sudah berubah seperti individu dewasa, tetapi masih membutuhkan perlindungan sang induk
4	Pra dewasa	10-19 bulan ukuran tubuh lebih kecil dari dewasa dan sudah matang kelamin
5	Dewasa	19-60 bulan mempunyai ukuran tubuh paling besar dan sudah matang kelamin

Sumber: Ambarwati, tahun 1999

Adapun klasifikasi Lutung Jawa secara sistematis (Brandon-Jones *et al.*, 2004;

Taman Nasional Baluran, 2005) sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Primata
Subordo	: Antropoidea
Famili	: Cercopithecidae
Subfamili	: Colobinae
Genus	: <i>Trachypithecus</i>
Spesies	: <i>Trachypithecus auratus</i>

2.3 Warna Rambut Lutung Jawa

Warna rambut Lutung Jawa berwarna lebih terang dan berjambul, seiring dengan perkembangan usia menjadi lebih gelap, dan wilayah telapak tangan dan kaki menjadi pucat sampai hitam kelam (Supriatna dan Wahyono, 2000).

Terdapat dua tipe rambut *Trachypithecus auratus*, yaitu tipe melanik (rambut hitam), dan tipe *erythristic* (rambut kuning) (Nijman, 2001). *Trachypithecus auratus* tipe melanik banyak ditemui di daerah persebarannya yaitu Jawa, Bangka, Belitung, Kepulauan Riau, Kalimantan Timur, Kalimantan Selatan, Sumatera Selatan, Bali dan Lombok, mempunyai warna hitam mengkilap memanjang pada lengan atas, kaki, kepala, panggul, dan kadang-kadang punggung. Tipe rambut yang kedua adalah jenis yang berwarna kuning, namun jarang ditemukan kecuali di daerah tertentu, warna kuning akan menjadi kekuning-kuningan pada bagian rambut di sekitar telinga dan *ventrum*. Sisi yang ada di belakang rambut mempunyai sedikit warna, kulit wajah, telapak tangan dan tapak kaki berwarna hitam (Brandon-Jones *et al.*, 2004).

Lutung Jawa mempunyai warna rambut yang berbeda pada beberapa tingkatan umurnya. Warna rambutnya mengalami perubahan warna bersamaan dengan pertambahan umurnya, terutama individu Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*) tersebut berada pada fase umur bayi hingga individu muda.



Gambar 2.1 Induk dan Bayi Lutung Jawa
(Sumber: Kurniawan, 2011)

Keterangan : Semua bayi Lutung Jawa yang baru dilahirkan memiliki warna yang sama. Perubahan warna rambut akan terjadi secara bertahap.

Lutung Jawa sub-spesies Jawa bagian timur mempunyai pola perubahan yang berbeda dengan Lutung Jawa sub-spesies Jawa bagian barat. Pada Lutung Jawa sub-spesies bagian timur juga dibedakan menjadi dua bentuk warna rambut yang berbeda berdasarkan kronologis perubahan rambut pada Lutung Jawa (Kurniawan, 2011), yaitu:

1. Individu dengan warna rambut matang hitam keputihan.

Individu ini pada saat baru lahir mempunyai warna rambut oranye terang dengan tekstur halus dan lembut. Secara berangsur-angsur, warna rambut pada setiap bulannya mengalami perubahan. Pada bulan ke-3 warna rambut oranye mulai bercampur dengan warna kehitaman, merata di seluruh bagian tubuhnya mulai dari kepala, badan hingga kedua tangan dan kakinya. Pada bulan ke-4 terlihat warna keputihan di seluruh bagian tubuhnya, terutama pada bagian wajah di samping kanan dan kiri. Pada bulan ke-7 warna oranye tidak tampak jelas terlihat, bahkan hingga bulan ke-12 (satu tahun) secara keseluruhan warna rambut terlihat seperti

keabu-abuan bercampur dengan gerutan-gerutan kehitaman. Pada umur satu tahun lebih, ini juga terlihat ada gradasi warna jelas pada lengan dan kaki, terutama pada punggung telapak tangan dan punggung telapak kaki yang tampak kehitaman (lebih gelap). Memasuki umur satu tahun 10 bulan, warna rambut sudah sempurna, artinya sudah mencapai tahap kematangan warna pekat hitam keputihan. Warna hitam keputihan ini akan berlangsung hingga dewasa dan tua. Selanjutnya yang berkembang adalah panjang dan arah tumbuh rambut, terutama pada bagian kepala, yang bentuknya tergantung pada masing-masing individu mengikuti fase (bentuk lekukan) wajahnya.

2. Individu dengan warna rambut matang oranye

Individu ini pada saat baru lahir mempunyai warna rambut oranye terang dengan tekstur halus dan lembut. Bahkan jika disejajarkan dengan individu yang dibahas pertama di atas, warna oranye individu ini terlihat lebih terang. Berbeda dengan individu sebelumnya, warna rambut pada perkembangan selanjutnya tidak mengalami perubahan warna yang berarti. Warna oranye terang akan sedikit berubah menjadi oranye matang yang lebih gelap. Tekstur rambut yang lebih kasar dan tebal.

Individu berwarna rambut hitam keputihan biasanya sudah dapat diprediksi sejak baru lahir/bayi. Semua bayi Lutung Jawa berwarna oranye jika diamati pada bagian ekornya, jika pada ujung ekornya terdapat sedikit warna kehitaman maka pada saat muda dan dewasa nanti bayi Lutung Jawa tersebut akan berkembang menjadi individu yang berambut hitam keputihan. Sebaliknya jika pada ujung ekornya rata dengan warna oranye terang dan tidak ada warna kehitaman, maka

pada saat muda dan dewasa nanti bayi lutung tersebut akan menjadi individu berambut oranye.

Di habitatnya, lutung dengan warna oranye bukan merupakan jenis lutung lain, tetapi masih termasuk jenis Lutung Jawa (*Trachypithecus auratus*). Beberapa catatan perjumpaan di alam menyebutkan bahwa di sebagian kelompok Lutung Jawa yang teramati di Jawa bagian timur terdapat 1-4 individu dewasa yang berwarna oranye. Mereka membentuk suatu kelompok dengan individu berwarna hitam keputihan. Bahkan ada satu kelompok yang pemimpinnya adalah individu oranye sedangkan anggota keluarganya berwarna hitam keputihan semuanya. Lutung Jawa oranye bukan merupakan albino, mereka memiliki penglihatan, kulit dan keadaan fisik maupun fisiologi lain yang normal seperti halnya Lutung Jawa berwarna hitam keputihan. Dugaan sementara adalah terletak pada variasi warna rambut yang terbagi menjadi dua, yakni oranye dan hitam keputihan (Kurniawan, 2011).



Gambar 2.2 Perbedaan Warna Rambut pada Individu Dewasa Lutung Jawa (Sumber: Kurniawan, 2011)

Keterangan : Seiring pertambahan usia, Lutung Jawa akan mengalami perubahan warna dari oranye menjadi hitam atau tetap oranye pada saat dewasa. Warna rambut akan sempurna pada usia 22 bulan.

2.4 Gen *Melanocortin-1 Receptor* (MC1R)

Gen *Melanocortin-1 Receptor* memberikan instruksi untuk membuat sebuah protein yang dinamakan *melanocortin-1 receptor*. Reseptor ini memainkan sebuah peran penting dalam pigmentasi. Reseptor berlokasi di permukaan melanosit, yang khusus memproduksi pigmen melanin. Melanin merupakan bahan yang memberikan warna pada kulit, rambut dan mata (Genetic Home Reference, 2007).

Melanosit membuat dua bentuk melanin, yaitu eumelanin dan feomelanin. Secara relatif, jumlah dari dua pigmen tersebut membantu dalam menentukan warna rambut dan warna kulit. Individu yang memproduksi banyak eumelanin cenderung memiliki warna rambut coklat atau hitam dan kulit yang gelap yang mudah berwarna hitam. Eumelanin juga melindungi (fotoprotektif) kulit dari kerusakan akibat radiasi ultraviolet (UV) akibat pancaran sinar matahari. Individu yang memproduksi banyak feomelanin cenderung memiliki rambut berwarna oranye atau pirang, bintik-bintik muka dan kulit cerah. Feomelanin tidak dapat melindungi (fotosensitif) kulit dari radiasi UV sehingga individu yang lebih banyak feomelanin memiliki resiko kerusakan kulit lebih tinggi akibat paparan sinar matahari (Genetic Home Reference, 2007).

Melanocortin-1 Receptor mengontrol tipe melanin yang diproduksi oleh melanosit. Ketika reseptor diaktifkan, reseptor tersebut memicu rangkaian reaksi kimia di dalam melanosit untuk menstimulasi sel-sel melanin untuk membuat eumelanin. Jika reseptor tersebut tidak diaktifkan atau diblok, melanosit membuat feomelanin bukan eumelanin (Genetic Home Reference, 2007).

Perbedaan warna kulit/rambut pada mamalia disebabkan oleh pigmen yang dipengaruhi oleh gen *Melanocortin-1 Receptor* (MC1R) yang diekspresikan pada permukaan melanosit. Bervariasinya warna rambut pada Lutung Jawa kemungkinan disebabkan oleh gen *Melanocortin-1 Receptor* (MC1R). Gen ini berperan penting juga dalam pembentukan pigmentasi warna rambut pada ternak. Garcia-Barron *et al.* (2005) menyatakan bahwa melanin adalah biopolimer *polymorphous* dan multifungsi yang mencakup eumelanin (coklat-hitam), feomelanin (merah-kuning), campuran melanin (Eumelanin dan Feomelanin) dan Neuromelanin.

Beberapa variasi polimorfik pada gen MC1R umumnya diasosiasi dengan perbedaan pada warna rambut dan kulit. Variasi genetik umumnya sangat banyak pada individu dengan warna rambut merah, kulit yang cerah, bintik-bintik di kulit dan sensitivitas paparan sinar matahari. Sifat polimorfik di gen *melanocortin-1 receptor* inilah yang menurunkan kemampuan MC1R untuk menstimulasi produksi eumelanin, mengakibatkan melanosit membuat sangat banyak feomelanin. Meskipun MC1R adalah gen kunci dalam pigmentasi normal, beberapa peneliti percaya bahwa terdapat efek terhadap gen lainnya selain berkontribusi pewarnaan rambut dan kulit. (Genetic Home Reference, 2007). Dalam NCBI (2003), *Coding DNA Sequence* (CDS) gen MC1R pada *Trachypithecus auratus* dimulai dari 1 hingga 954 dengan data *GeneBank*: AY205110.1.

2. 5 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Reaksi polimerase berantai atau dikenal sebagai *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu proses sintesis enzimatik untuk mengamplifikasi

nukleotida secara *in vitro* menggunakan enzim *Taq Polymerase*. Metode PCR dapat meningkatkan jumlah urutan DNA ribuan bahkan jutaan kali dari jumlah semula, yaitu 10^6 - 10^7 kali. Setiap urutan basa nukleotida yang diamplifikasi akan menjadi dua kali jumlahnya. Pada setiap n siklus PCR akan diperoleh 2^n kali banyaknya DNA target. Kunci utama pengembangan PCR adalah menemukan bagaimana cara amplifikasi hanya pada urutan DNA target dan meminimalkan amplifikasi urutan non-target (Fatchiyah, 2008).

Penggunaan PCR telah berkembang secara cepat seiring dengan perkembangan biologi molekuler. Teknik ini digunakan untuk identifikasi penyakit genetik, infeksi oleh virus, diagnosis dini penyakit seperti AIDS, *Genetic profiling in forensic, legal and bio-diversity applications*, biologi evolusi, *Site-directed mutagenesis of genes* dan *mRNA quantitation* di sel ataupun jaringan (Fatchiyah, 2008).

2.5.1 Teknik Dasar Amplifikasi PCR

Dasar siklus PCR ada 30-35 siklus meliputi:

- Denaturation (95 °C), 30 detik
- Annealing (55–60 °C), 30 detik
- *Extension* (72 °C), waktu tergantung panjang pendeknya ukuran

DNA yang diinginkan sebagai produk amplifikasi. Peningkatan jumlah siklus PCR diatas 35 siklus tidak memberikan efek yang positif.

2.5.1.1 Denaturasi untai ganda DNA

Selama proses denaturasi, DNA untai ganda akan membuka menjadi dua untai tunggal (Gaffar, 2007). Suhu denaturasi dipengaruhi oleh sekuen target. Jika sekuen

target kaya akan Guanin-Sitosin (G-C) maka diperlukan suhu yang lebih tinggi. Suhu denaturasi yang terlalu tinggi dan waktu denaturasi yang terlalu lama mengakibatkan hilangnya atau berkurangnya aktivitas enzim *taq polymerase*. Waktu paruh aktivitas enzim *taq polymerase* adalah > 2 jam pada suhu 92,5°C, 40 menit pada suhu 95°C dan lima menit pada suhu 97,5°C (Sulistyaningsih, 2007).

2.5.1.2 Primer Annealing

Primer Annealing atau disebut pengenalan (*annealing*) suatu primer terhadap DNA target tergantung pada panjang untai, banyaknya kandungan G-C, dan konsentrasi primer itu sendiri. Optimalisasi temperatur *annealing* dimulai dengan menghitung *Melting Temperature* (T_m) dari ikatan primer dan DNA *template*. Cara termudah menghitung untuk mendapatkan *melting-temperature* yang tepat menggunakan rumus $T_m = \{(G+C) \times 4\} + \{(A+T) \times 2\}$. Sedangkan temperatur *annealing* biasanya 5°C dibawah T_m primer yang sebenarnya. Secara praktis, T_m ini dipengaruhi oleh komponen *buffer*, konsentrasi primer dan DNA *template* (Fatchiyah, 2008).

2.5.1.3 DNA Polymerase Extension

Pada tahap *extension* ini terjadi proses pemanjangan untai baru DNA, dimulai dari posisi primer yang telah menempel di urutan basa nukleotida DNA target akan bergerak dari ujung 5' menuju ujung 3' dari untai tunggal DNA. Proses pemanjangan atau pembacaan informasi DNA yang diinginkan sesuai dengan panjang urutan basa nukleotida yang ditargetkan. Pada setiap satu *kilobase* (1000 bp) yang akan diamplifikasi memerlukan waktu 1 menit. Sedangkan bila kurang dari 500bp hanya 30 detik dan pada kisaran 500 tapi kurang dari 1kb perlu waktu 45

detik, namun apabila lebih dari 1kb akan memerlukan waktu 2 menit di setiap siklusnya. Adapun temperatur ekstensi berkisar antara 70-72°C (Fatchiyah, 2008). Suhu *extension* yang rendah bersamaan dengan konsentrasi dioksi-nukleotida trifosfat (dNTPs) yang tinggi mengakibatkan *mixtension* primer dan perpanjangan nukleotida yang salah, sebaliknya kombinasi antara suhu *annealing/extension* yang tinggi dengan dNTPs yang rendah akan menghasilkan ketepatan produk akhir PCR yang tinggi. Lamanya waktu *extension* tergantung pada panjang sekuen target, konsentrasi sekuen target, dan suhu *extension* (Sulistyaningsih, 2007).

2.6 Sekuensing DNA

Sekuensing DNA adalah proses pembacaan urutan nukleotida dari satu fragmen DNA tertentu (Star and Taggart, 2004). Proses sekuensing diawali oleh proses *cycle sequencing*. *Cycle sequencing* adalah proses amplifikasi dengan metode PCR untuk mendapatkan DNA untai tunggal yang akan digunakan sebagai cetakan (*template*) untuk proses sekuensing (Sambrook and Russel, 2001).

Dua macam metode sekuensing yang awalnya dikembangkan adalah metode Maxam Gilbert dan metode Sanger. Metode *Automated DNA sequencing* merupakan pengembangan dari metode Sanger. Metode tersebut berdasarkan pada penggunaan di-dioksi-nukleotida trifosfat (ddNTPs). Di-dioksi-nukleotida trifosfat akan menghentikan proses polimerasi apabila melekat pada ujung 3' untai DNA. Pewarna yang terdapat pada ddNTP dapat dideteksi oleh sensor pada mesin *sequencer*. Penggunaan metode tersebut memungkinkan pembacaan urutan DNA dengan mesin dan akan terdokumentasikan secara otomatis pada komputer (Klug and Cummings, 2003).

Menurut Fatchiyah (2015), hasil sekuensing urutan DNA atau protein dapat dilanjutkan secara *online* dan sederhana dengan BLAST. *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) adalah sebuah algoritma untuk membandingkan informasi urutan biologis primer, seperti nukleotida urutan DNA materi genetik yang sudah ada dalam *Database*. Ketika melakukan BLAST NCBI hasilnya diberikan dalam format grafis, tabel, dan data skor.