

Variasi Genetika Kelelawar Genus *Aethalops* (Chiroptera: Pteropodidae) di Indonesia: Tinjauan dari Gen 12SrRNA pada DNA Mitokondria

Maharadatunkamsi & M. Syamsul Arifin Zein

Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI

Jl. Raya Jakarta Bogor Km. 46, Cibinong, Bogor 16911

Email: datun_mzb@yahoo.com

ABSTRACT

Genetic Variation of Bat in the Genus *Aethalops* (Chiroptera: Pteropodidae) from Indonesia: Analysis of 12SrRNA Gene of Mitochondrial DNA. We report a genetic variation on 12SrRNA gene to investigate haplotype and nucleotide diversity, as well as population structure of bats in the genus *Aethalops*. Samples consisted of 21 individuals from 7 populations of 5 islands (Sumatra, Jawa, Kalimantan, Bali and Lombok) covering all islands distribution of this genus in Indonesia. Total DNA was extracted from liver tissues. Fragment 12SrRNA gene region of the mitochondrial DNA were amplified by Polymerase Chain Reaction using primers of L 1091 and H 1478. Nucleotide sequences were determined to investigate genetic variation of this genus. Results indicated that from 294 bp nucleotide sequences, 33 polymorphic sites with 13 haplotypes were found among 7 populations.

Key Words: Variation, Bat, *Aethalops*, Chiroptera, Indonesia, 12SrRNA mitochondrial.

PENDAHULUAN

Kelelawar anggota genus *Aethalops* berukuran kecil, mempunyai dua anggota yaitu *A. alecto* (Thomas, 1923) dan *A. aequalis* Allen, 1938. Genus ini bertubuh kecil, tidak berekor dengan panjang lengan bawah sayap (FA) 42-53 mm dan panjang betis (Tibia) 16,6-20,6 mm (Payne *et al.* 1985; Corbet & Hill 1992; Suyanto 2001). Genus *Aethalops* dikenal mempunyai daerah sebaran yang sangat terbatas hanya pada beberapa lokasi dataran tinggi/pegunungan dengan ketinggian 900-2700 m dpl di

Semenanjung Malaysia, Sarawak, Sabah, Sumatra, Kalimantan, Jawa, Bali, dan Lombok (Payne *et al.* 1985; Kitchener *et al.* 1993).

Jenis kelelawar kecil pegunungan ini sangat menarik untuk diamati lebih lanjut. Beberapa penelitian sebelumnya mencatat adanya variasi morfologi yang membedakannya menjadi beberapa anak jenis. Berdasarkan ciri morfologi, spesimen dari Kalimantan yang dikenal sebagai *aequalis* sampai saat ini statusnya masih dalam perdebatan karena bentuk dan ukurannya mirip dengan *alecto*. Beberapa peneliti (Hill

1983; Boedi & Hill 1986; Van Strien 1986; Koopman 1989) berpendapat bahwa spesimen asal Kalimantan merupakan sub spesies dari *A. alecto* dan diberi nama *A. a. aequalis* Allen, 1938. Sementara itu penelitian lain mengangkat *A. aequalis* sebagai spesies tersendiri (Kitchener *et al.* 1990 & 1993). Adapun sub spesies lainnya adalah sebagai berikut: *A. a. alecto* (Thomas, 1923) (Semenanjung Malaysia dan Sumatra); *A. a. ocypete* Boedi & Hill, 1986 (Jawa); dan *A. a. boedii* Kitchener *et al.* 1993 (Bali dan Lombok).

Berdasarkan studi allozyme, Kitchener *et al.* (1993) melaporkan bahwa di antara populasi *A. alecto* di Jawa, Bali, dan Lombok menunjukkan adanya aliran gen. Fenomena ini sangat menarik karena sebelumnya ada asumsi bahwa terisolasinya kelelawar ini pada daerah pegunungan akan menyebabkan rendahnya aliran gen antar populasi yang ditandai dengan adanya variasi genetika yang tinggi antar populasi dan struktur populasi yang jelas. Namun demikian penelitian di atas hanya berdasarkan pada beberapa sampel dari beberapa pulau saja, tidak meliputi seluruh pulau-pulau penyebaran genus *Aethalops*.

Aplikasi penanda DNA memberikan kesempatan untuk lebih jelas dalam mengamati struktur populasi. Hal ini disebabkan karena analisis DNA merupakan indikator yang lebih akurat untuk melihat antara lain dinamika dan struktur populasi (Avise *et al.* 1987; Hisheh *et al.* 1998). Genus *Aethalops* mempunyai sebaran sangat spesifik hanya di hutan pegunungan saja sehingga sangat rentan terhadap

perubahan lingkungan. Penelitian ini dilaksanakan untuk mengamati lebih jauh lagi aspek keragaman genetika dari kelelawar genus *Aethalops* dengan sampel yang mewakili pulau-pulau yang mencakup seluruh penyebarannya di Indonesia.

BAHAN DAN CARA KERJA

Spesimen kelelawar *Aethalops* spp. ditangkap dengan menggunakan jaring kabut berkantung 4, ukuran 9x3 meter, terbuat dari benang nilon yang lembut dan kuat dengan diagonal lubang jaring (mesh) 30–36 mm. Ijin pengambilan sampel diperoleh dari Direktorat Jenderal Perlindungan Hutan dan Pelestarian Alam, Departemen Kehutanan. Penangkapan kelelawar dilakukan dengan pertimbangan yang matang agar tidak mengganggu populasinya dan pada titik-titik tertentu saja dengan jumlah sampel yang secukupnya. Spesimen yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 21 individu yang berasal dari Sumatra, Kalimantan, Jawa, Bali, dan Lombok (Tabel 1). Kelelawar yang tertangkap diberi overdosis kloroform. Ekstraksi DNA total berasal dari jaringan hati kelelawar.

Ekstraksi dan purifikasi DNA dilakukan dengan mengikuti standard prosedur dari Sambrook *et al.* (1989) dengan beberapa modifikasi (Sulandari & Zein 2003). Sedangkan amplifikasi fragmen 12SrRNA dilakukan dengan menggunakan primer universal (Kocher *et al.* 1989) dengan sekuen sebagai berikut:

Tabel 1. Detail asal sampel *Aethalops* spp. yang digunakan dalam penelitian ini

Pulau	Jenis	Lokalitas	Jumlah sampel
Sumatra	<i>A. alecto</i>	1. Batang Toru (BT)	1
Jawa	<i>A. alecto</i>	2. Taman Nasional Gunung Halimun (TNGH)	2
		3. Kebun Raya Cibodas (KRC)	6
		4. Tahura Raden Soeryo (TRS)	4
		5. Kebun Raya Eka karya (KREK)	1
Bali	<i>A. alecto</i>		
Lombok	<i>A. alecto</i>	6. Gunung Rinjani (GR)	2
Kalimantan	<i>A. aequalis</i>	7. Taman Nasional Bukit Baka Bukit Raya (BBBR)	5
Jumlah			21

L 1091 uni: 5"CAA ACT GGG ATT AGA TAC CCC ACT AT 3"

H 1478 uni: 5"GAG GGT GAC GGG CGG TGT GT 3"

Kondisi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah sebagai berikut: pre denaturasi 95°C selama 5 menit, kemudian denaturasi 95°C selama 30 detik, annealing pada temperatur 60°C selama 30 detik dan elongasi pada temperatur 72°C selama 60 detik. Amplifikasi dilakukan dengan campuran reaksi PCR yang dibuat dalam 25 µl dengan komposisi sebagai berikut: 40 ng sampel DNA; 1xbuffer PCR; 0,2 mM dNTP; 6,25 pmol primer L 1091; 6,25 pmol primer H 1478; 1,25 unit Taq polymerase dan 13,1 µl air deionisasi.

Sebelum dilakukan proses sekuensing, dilakukan purifikasi produk PCR dengan teknik spin column (MicroSpin^{PM} S-400HR Column, Amersham Biosciences). Sekuensing partial dari gen 12SrRNA dilakukan dengan menggunakan ALF express DNA Sequencer (Farmacia Biotech) dengan reagen

Thermo sequenase fluorescent labelled primer cycle sequencing kit (Amersham Pharmacia Biotech).

Program CLUSTALX digunakan untuk menyelaraskan hasil sekuen dengan referensi sekuen *A. alecto* dari GenBank dengan accession number AY044756. Analisis pohon filogeni dilakukan dengan metoda neighbor-joining dan kalkulasi distance matrix dengan model Kimura2-parameter (Kimura 1980) menggunakan program DNADIST dari PHYLIP (*Phylogeny Inference Package*) Versi 3.5c. Tingkat konfidensi untuk mengetahui kekerabatan dilakukan dengan konstruksi pohon filogeni menggunakan 1000 replikasi bootstrap (Felsenstein 1985).

HASIL

Analisis gen 12SrRNA dari DNA mitokondria dilakukan secara parsial adalah untuk mengetahui variasi genetika dari populasi kelelawar genus *Aethalops*. Hasil analisis tersebut

meliputi jumlah haplotipe, frekuensi haplotipe, keragaman haplotipe, keragaman nukleotida, dan konstruksi pohon filogeni.

Sekuens telah didaftarkan pada GenBank (NCBI) dengan nomor (GenBank accession numbers) DQ845076 sampai DQ845096. Penyelarasan hasil sekuen dilakukan dengan menggunakan referensi GenBank AY044756. Hasil penyelarasan dengan menggunakan program CLUSTALX menunjukkan adanya variasi situs yang sama pada 7 individu dengan referensi AY044756 (Lampiran 1). Sepanjang 294 urutan pasang basa dari 12SrRNA DNA mitokondria dihasilkan dari seluruh sampel (21 individu). Dari 33 situs polimorfik ditemukan 13 haplotipe (Tabel 2). Masing-masing haplotipe terdiri dari 1 sampai 7 individu (Lampiran 1).

Variasi Genetika

Berdasarkan dari distribusi haplotipe, maka dari 13 haplotipe yang ditemukan dapat dijelaskan sebagai berikut. Frekuensi haplotipe tertinggi ditemukan pada haplotipe A (0,33). Pola variasi dari mitokondria DNA *Aethalops* spp. memperlihatkan haplotipe A mempunyai sebaran cukup luas meliputi seluruh populasi di Pulau Jawa (Tabel 2). Sebaliknya, keberadaan haplotipe lainnya memperlihatkan pola sebaran yang terbatas mengikuti distribusi geografis tertentu saja.

Keragaman nukleotida tertinggi terdapat di Kalimantan (0,1020). Lokasi dengan keragaman nukleotida lebih rendah terdapat di Tahura Raden Soerjo

(Jawa/TRS), Lombok, Sumatra, Kebun Raya Cibodas (Jawa/KRC) dan Bali. Sedangkan Taman Nasional Gunung Halimun (Jawa/TNGH) mempunyai nilai keragaman nukleotida terendah yaitu nol.

Hubungan Kekerbatan

Berdasarkan analisis hubungan kekerabatan, memperlihatkan adanya preferensi dari genus *Aethalops* dalam hal membentuk kelompok sangat beragam (Gambar 1). Hal ini ditunjukkan dengan ditemukannya populasi Kalimantan (BBBR) yang membentuk kluster tersendiri terpisah dari pulau lainnya. Namun demikian untuk populasi Jawa, profil sebarannya tidak menunjukkan adanya pengelompokan secara jelas. Beberapa individu Jawa yang berasal dari lokasi yang sama mempunyai sebaran yang sangat beragam (Gambar 1).

Individu dari Bali (KREK1) dan Lombok (GR) membentuk kluster tersendiri dengan dua individu dari Jawa Timur (TRS 3 dan TRS4). Namun demikian dua individu Jawa Timur yang lain tersebar dalam kelompok besar Jawa, yaitu TRS2 membentuk kelompok bersama dengan Sumatra (BT1) dan Jawa Barat (KRC5). Sedangkan satu individu Jawa Timur lainnya (TRS1) membentuk kelompok besar dengan Taman Nasional Gunung Halimun (TNGH 1 dan 2) dan Kebun Raya Cibodas (KRC 1, 2, 3 dan 4).

PEMBAHASAN

Hasil penyelarasan dari 294 urutan pasang basa menunjukkan adanya 33 situs polimorfik yang menghasilkan 13

Tabel 2. Distribusi geografi dari haplotipe *Aethalops* spp. dalam 7 populasi yang diamati.

Frekuensi Hploitiipe	Sumatra (BT) (1)	Jawa (TNGH) (2)	Jawa (KRC) (6)	Jawa (TRS) (4)	Bali (KREK) (1)	Lombok (GR) (2)	Kalimantan (BBBR) (5)
A		1,00	0,66	0,25			
B			0,17				
C							
D					1,0		
E						0,50	
F						0,50	
G							
H	1,0						
I							0,20
J							0,20
K							0,20
L							0,20
M							0,20
Keragaman Haplotiipe	0	0	0,51	0,63	0	0,5	0,8
Keragaman Nukleotida	0,0019	0	0,0068	0,0204	0,0034	0,0204	0,1020

haplotipe. Sebagai referensi digunakan satu individu *A. alecto* dari GenBank dengan accession number AY044756. Situs polimorfik ini diekspresikan dalam bentuk haplotipe. Dari pola-pola tersebut di atas, maka dapat dilakukan interpretasi sebagai berikut. *A. alecto* dari Jawa dicirikan dengan adanya haplotipe A, B, D, dan G. Haplotipe A merupakan haplotipe dengan sebaran luas diduga berasal dari satu nenek moyang yang kemudian mengalami penyebaran luas ke berbagai populasi di Jawa. Sedangkan haplotipe B hanya terdeteksi di Kebun Raya Cibodas. Haplotipe A, D dan G terdapat di Tahura Raden Soeryo. Haplotipe D juga terdapat di Bali. Populasi *A. alecto* Lombok dicirikan dengan adanya haplotipe E dan F, sedangkan Sumatra terdapat satu haplotipe yaitu H. *A. aequalis* (Kalimantan) mempunyai 5 haplotipe (I, J, K, L dan M).

Walapun genus *Aethalops* hidup pada dataran tinggi saja namun diduga

jarak geografi dan dataran rendah bukan merupakan penghalang untuk migrasi, namun lebar laut merupakan penghalang penting. Hal ini dapat ditunjukkan dengan adanya haplotipe A yang tersebar di seluruh populasi Jawa. Hal ini dapat disebabkan karena haplotipe A berasal dari induk moyang (*ancestral*) yang penyebarannya cukup luas di Pulau Jawa. Sebaliknya, haplotipe tertentu mempunyai sebaran terbatas menunjukkan adanya garis keturunan dari induk moyang yang berbeda-beda. Hal ini kemudian diperkuat dengan keterikatan pada kondisi lingkungan setempat yang menyebabkan adanya individu-individu genus *Aethalops* tidak menyebar ke tempat lain (Avisé *et al.* 1987; Zein & Maharadatunkamsi 2003). Fenomena ini antara lain diduga karena laut menjadi penghalang penting bagi *Aethalops* untuk migrasi antar pulau. Hal ini dapat terlihat dari adanya haplotipe tertentu yang penyebarannya terbatas hanya di Kalimantan, Sumatra, dan Lombok.

0,51 dan Lombok 0,50. Sedangkan Sumatra, Taman Nasional Gunung Halimun dan Bali mempunyai keragaman haplotipe nol.

Parameter yang lebih akurat untuk menggambarkan variasi genetik adalah keragaman nukleotida. Unsur positif dengan menggunakan keragaman nukleotida adalah selain tidak tergantung pada besarnya sampel dan panjang DNA, juga diturunkan secara maternal (Nei 1987; Hartl & Clark 1989). Kompilasi yang dilakukan oleh Nei (1987) berdasarkan dari berbagai publikasi menunjukkan bahwa keragaman nukleotida pada DNA mitokondria mamalia bervariasi antara 0,002 sampai 0,019. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa keragaman nukleotida *A. alecto* tertinggi terdapat di Tahura Raden Soeryo (TRS) dan Lombok yaitu 0,0204 dan terendah di Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat (0). *A. aequalis* Kalimantan menunjukkan keragaman nukleotida tertinggi (0,1020). Hal ini disebabkan karena Kalimantan merupakan jenis tersendiri yang berbeda dari *A. alecto*. Variasi genetik yang tinggi pada *A. aequalis* menunjukkan adanya ukuran populasi efektif (*effective population size*) yang memadai untuk menjaga kesinambungan keragaman genetiknya. Sebaliknya *A. alecto* di Taman Nasional Gunung Halimun dan Sumatra menunjukkan penurunan ukuran populasi efektif. Rendahnya ukuran populasi efektif akan mendorong terbentuknya populasi yang homozigot (Schmitt 1978; Wirdateti *et al.* 2001). Kondisi ini merupakan isyarat ancaman bagi keberadaannya akibat populasi ini

tidak mempunyai cukup alternatif untuk menghadapi berbagai perubahan lingkungan (Maharadatunkamsi *et al.* 2000).

Konstruksi pohon filogeni genus *Aethalops* dengan menggunakan metoda Neighbor-Joining menunjukkan adanya pola pengelompokkan populasi yang beragam. Hal ini ditunjukkan dengan individu Kalimantan membentuk kluster tersendiri terpisah dari pulau lainnya (Gambar 1). Namun demikian untuk populasi Jawa, profil sebarannya tidak menunjukkan adanya pengelompokkan secara jelas. Beberapa individu Jawa yang berasal dari lokasi yang sama mempunyai keragaman genetik yang sangat beragam (Gambar 1). Hal ini diduga disebabkan karena selain berasal dari moyang yang berbeda, adanya penghalang berupa lebar laut menyebabkan populasi Kalimantan mengalami hambatan untuk berinteraksi dengan populasi di pulau-pulau lainnya. Diduga hal ini kemudian menyebabkan *aequalis* Kalimantan menjadi populasi yang terpisah di mana memungkinkan untuk timbulnya variasi yang khas dan berbeda dengan pulau lainnya baik genetika maupun morfologi (Schmitt 1978; Helgen 2005). Kondisi yang berbeda ditemukan pada populasi Jawa, Bali, dan Lombok yang membentuk suatu populasi yang besar tidak menunjukkan adanya pola pengelompokkan yang tegas dan dapat digambarkan sebagai suatu unit populasi yang luas. Fenomena ini diduga berkaitan dengan jarak laut antara Jawa, Sumatra, Bali, dan Lombok tidak terlalu lebar sehingga dapat berfungsi sebagai batu loncatan bagi *A. alecto* untuk

migrasi yang memungkinkan terjadinya aliran gen di antara pulau-pulau tersebut. Beberapa penelitian terdahulu di kawasan regional Indomalayan menunjukkan bahwa lebar laut merupakan penghalang geografi penting bagi beberapa jenis kelelawar untuk terbang dan berinteraksi dengan populasi pulau lain, yang mana hal ini turut berperan dalam pembentukan struktur populasi dan variasi genetik (Hishah *et al.* 2004). Lebar laut dapat menghalangi adanya aliran gen di antara pulau-pulau sebagaimana yang ditunjukkan pada beberapa jenis kelelawar yaitu *Cynopterus nusatenggara* (Schmitt *et al.* 1995), *Rhinolophus affinis* (Maharadatunkamsi *et al.* 2000) dan *Eonycteris spelaea* (Maharadatunkamsi *et al.* 2003).

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan adanya 2 pola sebaran genus *Aethalops* menurut variasi genetiknya. Pertama; populasi Sumatra, Jawa, Bali, dan Lombok menunjukkan adanya suatu populasi dengan sebaran luas (panmictic) yang terdiri dari beberapa anak jenis dari *A. alecto* sebagaimana telah dipertelakan sebelumnya (Boeadi & Hill 1986; Kitchener *et al.* 1993). Kedua; Kalimantan (*A. aequalis*) membentuk kelompok tersendiri dan tidak bercampur dengan lainnya. Ditemukannya penurunan variasi genetik pada populasi *A. alecto* di Taman Nasional Gunung Halimun dan Sumatra merupakan indikasi resiko kepunahan sehingga upaya konservasi merupakan suatu yang esensial untuk menjamin keberadaan

mahluk ini yang mempunyai peran penting sebagai penyerbuk dan penyebar biji.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis menghaturkan terima kasih kepada Kepala Pusat Penelitian Biologi-LIPI dan Kepala Bidang Zoologi yang telah memberikan dukungan dan kepercayaan untuk pelaksanaan penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan kepada Sri Sulandari, Wirdateti, dan Agus Kundarmasno atas segala saran, diskusi dan bantuannya dalam penelitian ini. Demikian juga kepada AJ Gorog, MH Sinaga; DJ Kitchener, Agus Kundarmasno, Nanang Suprijatna, dan Sri Sulandari atas kerjasama yang baik dalam ekspedisi di Kalimantan, Jawa, Bali, dan Lombok.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, G.M. 1938. A new pigmy bat from Borneo. *J. Mamm* 19:496-498.
- Avise, J.C., J. Arnold, R.M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J.E. Neigel, C.A. Reeb & N.C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann. Rev. Ecol. and Syst.* 18: 489-522.
- Boeadi & J.E. Hill. 1986. A new subspecies of *Aethalops alecto* (Chiroptera: Pteropodidae) from Java. *Mammalia* 50: 263-266.

- Corbet, GB. & JE. Hill. 1992. *The Mammals of the Indomalayan Region: A Systematic Review*. Oxford University Press, New York.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Hartl, DL & AG. Clark. 1989. *Principles of Population Genetics*, 2nd ed. Sinauer Associates, Massachusetts.
- Helgen, KM. 2005. Systematics of the Pacific monkey-faced bats (Chiroptera: Pteropodidae), with a new species of *Pteralopex* and a new Fijian genus. *Syst. Biodiv.* 3(4): 433-453.
- Hill, JE. 1983. Bats (Mammalia: Chiroptera) from Indo-Australia. *Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Zool.)* 45: 103 - 208.
- Hisheh, S., RA. How, A. Suyanto & LH. Schmitt. 2004. Implications of contrasting patterns of genetic variability in two vespertilionid bats from the Indonesian archipelago. *J. Linn. Soc.* 83: 421-431.
- Hisheh, S., M. Westerman, & LH. Schmitt. 1998. Biogeography of the Indonesian Archipelago: mitochondrial DNA variation in the fruit bat, *Eonycteris spelaea*. *J. Linn. Soc.* 65:329-345.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.
- Kitchener, DJ., Boeadi, L. Charlton & Maharadatunkamsi. 1990. Wild mammals of Lombok Island, Nusa Tenggara, Indonesia: systematics and natural history. *Rec. West. Aust. Mus. Suppl.* No 33: 1-129.
- Kitchener, DJ., S. Hisheh, LH. Schmitt & I. Maryanto. 1993. Morphological and genetic variation in *Aethalops alecto* (Chiroptera, Pteropodidae) from Java, Bali and Lombok Is, Indonesia. *Mammalia* 57:255-272.
- Kocher, TD, WK. Thomas, A. Meyer, SV. Edwards, S. Paabo, F.X. Villablanca & AC. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in mammals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6196-6200.
- Koopman, KF. 1989. Distributional patterns of Indo-Malayan Bats (Mammalia: Chiroptera). *Amer. Mus. Novit.* 2942: 1-19.
- Maharadatunkamsi, S. Hisheh, DJ. Kitchener & LH. Schmitt. 2000. Genetic and morphometric diversity in Wallacea: geographical patterning in horse shoe bat, *Rhinolophus affinis*. *J. Biog.* 27: 193 - 201.
- Maharadatunkamsi, S. Hisheh, DJ. Kitchener & LH. Schmitt. 2003. Relationship between morphology, genetics and geography in the Cave Fruit Bat *Eonycteris spelaea* (Dobson, 1871) from Indonesia. *J. Linn. Soc.* 78: 511 - 522.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- Payne, J., CM. Francis & K. Phillipps. 1985. *Field Guide to the Mammals of Borneo*. Sabah Society/World Wildlife Fund, Kuala Lumpur.

- Sambrook, J., EF. Fritsch & T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning, A Laboratory manual*. Ed ke-2. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
- Schmitt, LH. 1978. Genetic variation in isolated populations of the Australian bush-rat, *Rattus fuscipes*. *Evolution* 32: 1-14.
- Schmitt, LH., DJ. Kitchener & R.A. How. 1995. A genetic perspective of mammalian variation and evolution in the Indonesian archipelago: biogeographic correlates in the fruit bat genus *Cynopterus*. *Evolution* 49:399-412.
- Sulandari, S. & M.S.A. Zein. 2003. *Panduan Praktis Laboratorium DNA*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI, Bogor.
- Suyanto, A. 2001. *Kelelawar di Indonesia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI, Bogor.
- Thomas, O. 1923. On some small mammals, chiefly bats, from the East Indian Archipelago. *Ann. Mag. nat. Hist.* 11(9):250-255.
- Van Strien, N.J. 1986. *Abbreviated checklist of the Mammals of the Australian Archipelago*. School of Environmental Conservation Management, Bogor.
- Wirdateti, T. Okayama & H. Kurniati. 2001. Keragaman genetik pada Kukang (*Nycticebus coucang*) berdasarkan pada gen 12SrRNA mitokondria. *J. Biol. Indon.* 3(2):108-115.
- Zein MSA. & Maharadatunkamsi. 2003. Analisis Gen 12SrRNA dari DNA Mitochondria kelelawar pemakan buah *Chironax melanocephalus* (Chiroptera: Pteropodidae) di Taman Nasional Gunung Halimun. *Biota* 8: 17 – 26.

Lampiran 1. Penyelarasan hasil sekuen gen 12SrRNA kelelawar genus *Aethalops* dari Sumatra (BT), Jawa (TNGH, KRC, TRS), Kalimantan (BBBR), Bali (KREK) dan Lombok (GR). Individu 044756 adalah referensi dari GenBank AY044756.

		214	234	254
044756	<i>A. alecto</i>	AAAACCATGAAACATAAAAA	CGTTAGGTCAAGGTGTAGCC	CATGGGTTGAAAGAAATGG
TRS1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC4	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC3	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TNGH2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TNGH1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC5	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC6	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TRS3	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KREK1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TRS4	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
GR2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
GR1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TRS2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
BT1	<i>A. alecto</i>	-----G-----	-----	-----
BBBR2	<i>A. aequalis</i>	-----T-----	-----	T-----
BBBR3	<i>A. aequalis</i>	-----T-----	-----	T-----
BBBR4	<i>A. aequalis</i>	-----T-----	-----	T-----
BBBR5	<i>A. aequalis</i>	-----T-----	-----	T-----
BBBR1	<i>A. aequalis</i>	-----T-----	-----	T-----
		***** * *****	*****	*****
		274	294	314
044756	<i>A. alecto</i>	GCTACATTTTCTAATATAGA	ATATACACGGAAATTTTCGT	GAAACCGAAAATAGAAGGAG
TRS1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC4	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC3	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TNGH2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TNGH1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC5	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----C-----
KRC6	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TRS3	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----A-----
KREK1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----A-----
TRS4	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----A-----
GR2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----A-----
GR1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----A-----A-----
TRS2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----C-C---GT---A-----
BT1	<i>A. alecto</i>	-----	-----T-----	-----G-C---T-----
BBBR2	<i>A. aequalis</i>	-----A-----	-----C-C-T---CC-----	-----GAG-GGA-C-----
BBBR3	<i>A. aequalis</i>	-----A-----	-----C-C-T---CC-----	-----GAG-GGA-C-G-----
BBBR4	<i>A. aequalis</i>	-----A-----	-----C-C-T---CC-----	-----GAG-GCC-AG-----
BBBR5	<i>A. aequalis</i>	-----A-----	-----C-C-T---CC-----	-----GAG-GCC-AG-----
BBBR1	<i>A. aequalis</i>	-----A-----	-----C-C-T---CC-----	-----GAG-GG-A-----
		*****	* * * * *	* * * * *

		334	354	374
044756	<i>A. alecto</i>	GATTTAGTAGTAAATTAAGA	ATAGAGAGCTTAATTGAATA	AGGCCATGAAGCAC
TRS1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC4	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC3	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TNGH2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TNGH1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC5	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KRC6	<i>A. alecto</i>	-----	-----	---G-----
TRS3	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
KREK1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
TRS4	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
GR2	<i>A. alecto</i>	-----	T-----	-----
GR1	<i>A. alecto</i>	-----	TC-----C-----	-----
TRS2	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
BT1	<i>A. alecto</i>	-----	-----	-----
BBBR2	<i>A. aequalis</i>	-----	-----	---G---AG--
BBBR3	<i>A. aequalis</i>	-----	-----	---G-----
BBBR4	<i>A. aequalis</i>	-----	-----	---G-----
BBBR5	<i>A. aequalis</i>	-----	-----	---G-----
BBBR1	<i>A. aequalis</i>	-----	-----	-----
		*****	*****	*** **