

**IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI GEN COI
GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus sumatranus*) BETINA
DARI PUSAT LATIHAN GAJAH TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS**

Skripsi

**Oleh
Elsa Virnarenata**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI GEN COI GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus sumatranus*) BETINA DARI PUSAT LATIHAN GAJAH TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS

Oleh

ELSA VIRNARENATA

Gajah sumatera adalah subspecies gajah asia endemik di Pulau Sumatera dan termasuk dalam daftar merah *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) dengan status kritis (*critically endangered*). Pembangunan Pusat Latihan Gajah (PLG) di Taman Nasional Way Kambas (TNWK) merupakan salah satu upaya konservasi gajah sumatera. Ukuran populasi yang kecil dan tertutup menyebabkan peningkatan risiko perkawinan silang dalam yang memicu penurunan variasi genetik dan viabilitas serta meningkatkan risiko kepunahan. Pola filogenetik gajah sumatera di Indonesia telah menunjukkan keragaman genetik antar populasi yang rendah. Informasi keragaman genetik sangat diperlukan untuk mendukung arah kebijakan konservasi gajah sumatera. Isolasi DNA gajah sumatera di PLG, TNWK telah dilakukan sebagai langkah awal untuk menelusuri variasi genetiknya. Langkah lanjutan dari isolasi DNA yaitu penggunaan gen *cytochrome oxidase* subunit I (COI) untuk identifikasi karakteristik genetik pada gajah sumatera. Gen COI adalah salah satu dari gen pada genom mitokondria dan dalam studi molekuler digunakan sebagai penanda genetik untuk mempelajari karakteristik genetik antar spesies maupun individu. Identifikasi dan karakterisasi dilakukan dengan proses sekuensing dan analisis data berupa elektroforegram dengan menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolution Genetics Analysis* (MEGA) versi 6.0. untuk melihat keragaman genetik tingkat populasi gajah sumatera betina di PLG, TNWK. Berdasarkan hasil analisis ditunjukkan bahwa jarak genetik dari 24 individu gajah sumatera betina dari PLG TNWK yaitu 0,000 dengan nilai homologi 100%, diperkuat dengan konstruksi pohon kekerabatan. Ketiadaan jarak genetik menunjukkan hubungan genetik yang dekat, sehingga dapat disimpulkan seluruh individu gajah sumatera betina di PLG TNWK berasal dari satu kelompok populasi yang sama.

Kata kunci: gajah sumatera, gen COI, jarak genetik, homologi, pohon kekerabatan, filogenetik, TNWK

**IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI GEN COI
GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus sumatranus*) BETINA
DARI PUSAT LATIHAN GAJAH TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS**

Oleh

Elsa Virnarenata

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2019

Judul Skripsi : **Identifikasi dan Karakterisasi Gen COI Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Betina dari Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas**

Nama Mahasiswa : **Elsa Virnarenata**

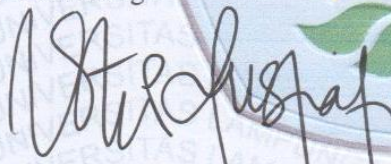
Nomor Pokok Mahasiswa : **1517021110**

Jurusan : **Biologi**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

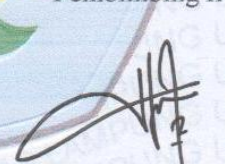


Pembimbing I


Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc.

NIP. 19631014 198902 2001

Pembimbing II


Priyambodo, M.Sc.

NIP. 19861114 201504 1003

2. **Ketua Jurusan Biologi FMIPA**



Drs. M. Kanedi, M.Si.

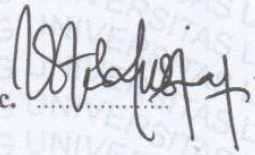
NIP. 19610112 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

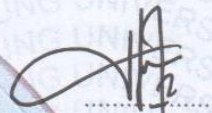
Ketua

: **Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc.**



Sekretaris

: **Priyambodo, M.Sc.**



Penguji

Bukan Pembimbing : **drh. Eko Agus Srihanto, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Drs. Suratman, M.Sc.

NIP. 19640604 199003 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **13 Desember 2019**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Elsa Virnarenata
NPM : 1517021110
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Identifikasi dan Karakterisasi Gen COI Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Betina dari Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas”

adalah **benar** karya saya sendiri yang saya susun di bawah penelitian Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc. dengan judul “Konstruksi Peta Filogenetis Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) di Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas Berdasarkan Analisis Sitologis dan Molekuler” melalui Kontrak Penelitian Strategis Nasional Institutu Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi, Tahun Anggaran 2018 dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku dan saya memastikan bahwa tingkat similaritas skripsi ini tidak lebih dari 20%.

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana, maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 13 Desember 2019



Elsa Virnarenata
NPM. 1517021110

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 28 Oktober 1997 di Kelurahan Sidodadi, Kecamatan Kedaton, Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara pasangan Bapak Murdiyanto dan Ibu Eva Dwiyan Palupi.

Penulis mengawali pendidikannya di Taman Kanak-Kanak Dharma Wanita Persatuan Universitas Lampung pada tahun 2002, dilanjutkan ke Sekolah Dasar Negeri 1 Candimas, Kecamatan Natar, Kabupaten Lampung Selatan pada tahun 2003. Setelah menamatkan pendidikan dasar, penulis menempuh pendidikan di Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Natar pada tahun 2009 dan dilanjutkan ke Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Natar pada tahun 2012. Penulis melanjutkan pendidikan strata 1 di Perguruan Tinggi Negeri pada tahun 2015 dan terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung (Unila).

Selama menempuh pendidikan di jenjang perkuliahan penulis juga tergabung di lembaga kemahasiswaan yakni Badan Eksekutif Mahasiswa Universitas (BEM U) Keluarga Besar Mahasiswa Unila sebagai anggota Korps Muda BEM U XI dan staf magang Kementerian Luar Negeri periode 2015/2016, serta staf ahli Kementerian Koordinator Eksternal periode 2016/2017, penulis juga tergabung dalam Himpunan Mahasiswa Biologi FMIPA Unila sebagai anggota Bidang Sains dan Teknologi periode 2015/2016 dan anggota Bidang Komunikasi, Informasi dan

Hubungan Masyarakat periode 2016/2017, serta unit kegiatan mahasiswa Biology English Club sebagai Ketua pada tahun 2018. Penulis juga pernah menjadi asisten dosen mata kuliah Bahasa Inggris di Jurusan Biologi dan Jurusan Ilmu Komputer, FMIPA Unila serta Jurusan Teknik Informatika, Fakultas Teknik Unila, asisten praktikum mata kuliah Ekologi, Ekologi Hewan, Ekologi Hidupan Liar, Biokonservasi, dan Perilaku Hewan di Jurusan Biologi FMIPA Unila serta menjadi mentor bahasa Inggris di Balai Bahasa Universitas Lampung dan Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung.

Penulis pernah melaksanakan Kerja Praktik (KP) di Laboratorium DNA Forensik, Pusat Kedokteran dan Kesehatan, Kepolisian Negara Republik Indonesia pada tahun 2018 dan magang di Laboratorium Bioteknologi, Balai Veteriner Lampung pada tahun 2019. Penulis juga berpartisipasi sebagai peserta pada Kuliah Kerja Nyata Kebangsaan 2018 dan program pertukaran mahasiswa Universitas Lampung-University of Malaya, Malaysia sebagai asisten lapangan. Penulis bertugas sebagai manajer program Tropical Forest Conservation Action for Sumatera Konsorsium Universitas Lampung – Aliansi Lestari Rimba Terpadu untuk periode 2019-2021.

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan mengucap rasa syukur kepada Allah SWT yang atas nikmat
dan kasih sayang-Nya telah memberikanku kekuatan,
membekaliku dengan ilmu serta kesabaran
Kupersembahkan karya tugas akhir ini:

Bagi ibu, ayah dan adikku yang selalu kebersamai di kala dekat
dan senantiasa mendoakan di waktu jauh

Bapak dan Ibu Dosen Pembimbing yang telah menuntun jejak langkah menjadi
manusia yang berilmu dan bermanfaat

Sahabat-sahabatku seperjuangan yang memberikan pengalaman
berharga, motivasi dan dukungan sepanjang waktu

Serta almamaterku tercinta

MOTTO

“Terbentur, terbentur, terbentur, terbentuk.”

(Tan Malaka)

“Barangsiapa ingin mutiara, harus berani terjun di lautan yang dalam.”

(Soekarno)

“Hidup yang tidak dipertaruhkan, tidak akan pernah dimenangkan.”

(Sutan Sjahrir)

“Hanya ada satu negara yang pantas menjadi negaraku. Ia tumbuh dengan perbuatan dan perbuatan itu adalah perbuatanku.”

(Mohammad Hatta)

SANWACANA

Puji syukur Penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan salah satu syarat dalam menempuh Pendidikan Sarjana dalam bidang sains yaitu skripsi yang berjudul **“Identifikasi dan Karakterisasi Gen COI Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Betina dari Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas.”**

Penulis menyadari bahwa proses penelitian hingga penulisan skripsi ini tidak akan dapat terselesaikan tanpa doa, bimbingan, dukungan serta masukan dari berbagai pihak, maka dengan setulus hati penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc., selaku Pembimbing I atas bimbingan akademik, serta dukungan moril maupun materiil selama tahap penelitian hingga penuntasan penyusunan skripsi. Terima kasih telah berkenan menjadi lebih dari sekadar dosen, melainkan juga guru dan orang tua kedua.
2. Bapak Priyambodo, M.Sc., selaku Pembimbing II atas arahan dan motivasi selama tahap penelitian hingga penuntasan penyusunan skripsi.
3. Bapak drh. Eko Agus Srihanto, M.Sc., selaku Pembahas atas saran dan tuntunan selama tahap penelitian di hingga penuntasan penyusunan skripsi.
4. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Lampung.
5. Bapak Drs. Suratman, M.Sc., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
6. Bapak Tugiyono, Ph.D. selaku Pembimbing Akademik.
7. Bapak dan ibu dosen Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu dan pelajaran berharga selama masa perkuliahan.
8. Bapak Subakir SH., MH., selaku Kepala Balai Taman Nasional Way Kambas.
9. Bapak drh. Nasirudin, M.Sc., selaku Kepala Balai Veteriner Lampung.
10. Ibu Elisabeth Devi Krismurniati, S.Si., ME., selaku Koordinator Pusat Latihan Gajah, Taman Nasional Way Kambas.

11. Ibu drh. Liza Angeliya, M.Sc., selaku Koordinator Laboratorium Bioteknologi, Balai Veteriner Lampung.
12. Bapak Kombes Pol. Drs. Putut Tjahjo Widodo, DFM., M.Si., selaku pembimbing lapangan kerja praktik yang telah mengajarkan dasar-dasar DNA forensik dan kecintaan akan bidang yang berperan untuk kepentingan masyarakat luas.
13. Dian Neli Pratiwi, S.Si., senior dan kakak yang mendampingi selama tahap penelitian hingga penuntasan penyusunan skripsi.
14. Bapak Murdiyanto dan Ibu Eva Dwiyani Palupi, orang tua yang telah memberikan dukungan dan doa hingga terselesaikannya tugas akhir ini.
15. Sahabatku Edelyn Stephani Salim yang senantiasa menemani selama masa perkuliahan.
16. Sahabat seperjuangan Darlina, Nada Risa Zain dan Tria Larasati yang selalu kebersamaan selama penelitian hingga penyelesaian tugas akhir.
17. Teman-teman Biologi angkatan 2015.
18. Semua pihak yang telah memberikannya selama masa perkuliahan hingga penyelesaian tugas akhir dan tidak dapat disebutkan satu persatu.
19. Almamater tercinta Universitas Lampung.

Akhir kata, penulis menyadari skripsi ini jauh dari kesempurnaan dan masih banyak kekurangan dalam penyusunannya, akan tetapi penulis berharap karya ini dapat memberi manfaat bagi banyak pihak.

Bandar Lampung, 13 Desember 2019
Penulis

Elsa Virnarenata

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
1.5. Kerangka Pikir	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Gajah	7
2.1.1. Gajah sumatera (<i>Elephas maximus sumatranus</i>)	8
2.1.2. Habitat dan Perilaku	8
2.1.3. Status Ekologi dan Klasifikasi	10
2.2. Taman Nasional Way Kambas	12
2.2.1. Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas ..	13
2.3. Identifikasi Keragaman Genetik	15
2.3.1. Karakteristik DNA	16
2.3.2. Teknik Analisis DNA	17
a. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	17
b. Elektroforesis	19

c. Sekuensing.....	19
d. Pensejajaran Runutan Nukleotida (Aligenment).....	20
e. Analisis Filogenetik.....	21
2.4. Gen <i>Cytochrome Oxidase</i> Subunit I (COI)	21
III. METODE PENELITIAN.....	22
3.1. Waktu dan Tempat.....	22
3.2. Alat dan Bahan	22
3.2.1. Alat	22
3.2.2. Bahan.....	23
3.3. Prosedur Penelitian	24
3.3.1. Tahap Pendahuluan.....	24
3.3.2. Ekstraksi	27
3.3.3. Amplifikasi	27
3.3.4. Elektroforesis Gel Agarosa.....	28
3.3.5. Purifikasi.....	29
3.3.6. Sekuensing.....	29
3.4. Analisis Data.....	30
3.4.1. Merunut urutan basa nukleotida	30
3.4.2. Melakukan analisis jarak genetik dan homologi	39
3.4.3. Membuat konstruksi pohon kekerabatan	44
3.5. Diagram Alir Penelitian.....	46
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	47
4.1. Hasil.....	47
4.2. Pembahasan	72
V. KESIMPULAN DAN SARAN	77
5.1. Kesimpulan.....	77
5.2. Saran	77
DAFTAR PUSTAKA.....	78

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kode sampel dan nama gajah sumatera betina dari PLG.....	25
Tabel 2. Sekuens primer COI.....	27
Tabel 3. Hasil uji kualitatif DNA hasil ekstraksi gajah sumatera	48
Tabel 4. Hasil analisis urutan nukleotida urutan 1-75.....	67
Tabel 5. Hasil analisis urutan nukleotida urutan 76-150.....	68
Tabel 6. Hasil analisis urutan nukleotida urutan 151-218.....	69
Tabel 7. Nilai jarak genetik dan homologi gajah sumatera betina.....	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Individu gajah sumatera (<i>Elephas maximus sumatranus</i>).....	9
Gambar 2. Taman Nasional Way Kambas, Lampung Timur.....	12
Gambar 3. Kabupaten Lampung Timur	26
Gambar 4. Langkah pertama merunut basa nukleotida.....	31
Gambar 5. Langkah kedua merunut basa nukleotida	31
Gambar 6. Langkah ketiga merunut basa nukleotida.....	32
Gambar 7. Langkah keempat merunut basa nukleotida	32
Gambar 8. Langkah kelima merunut basa nukleotida.....	33
Gambar 9. Langkah keenam merunut basa nukleotida	34
Gambar 10. Langkah ketujuh merunut basa nukleotida.....	34
Gambar 11. Langkah kedelapan merunut basa nukleotida	35
Gambar 12. Langkah kesembilan merunut basa nukleotida	35
Gambar 13. Langkah kesepuluh merunut basa nukleotida	36
Gambar 14. Langkah kesebelas merunut basa nukleotida	36
Gambar 15. Langkah duabelas merunut basa nukleotida.....	37
Gambar 16. Langkah ketigabelas merunut basa nukleotida.....	37
Gambar 17. Langkah keempatbelas merunut basa nukleotida.....	38
Gambar 18. Langkah pertama analisis jarak genetik	38
Gambar 19. Langkah kedua analisis jarak genetik.....	39
Gambar 20. Langkah ketiga analisis jarak genetik	39
Gambar 21. Langkah keempat analisis jarak genetik.....	40
Gambar 22. Langkah kelima analisis jarak genetik	40
Gambar 23. Langkah keenam analisis jarak genetik.....	41
Gambar 24. Langkah ketujuh analisis jarak genetik	41
Gambar 25. Langkah kedelapan analisis jarak genetik.....	42
Gambar 26. Langkah kesembilan analisis jarak genetik	42
Gambar 27. Langkah kesepuluh analisis jarak genetik.....	43
Gambar 28. Langkah pertama konstruksi pohon kekerabatan	44
Gambar 29. Langkah kedua konstruksi pohon kekerabatan	44
Gambar 30. Langkah ketiga konstruksi pohon kekerabatan	45
Gambar 31. Langkah keempat konstruksi pohon kekerabatan	45

Gambar 32. Diagram alir identifikasi dan karakterisasi gen COI.....	46
Gambar 33. Hasil uji kualitatif DNA gajah sumatera (N=13)	48
Gambar 34. Hasil uji kualitatif DNA gajah sumatera (N=12)	48
Gambar 35. Hasil uji kualitatif DNA gajah sumatera (N=4)	49
Gambar 36. Elektroforegram gen COI NI 1 <i>forward</i>	51
Gambar 37. Elektroforegram gen COI NI 1 1 <i>reverse</i>	51
Gambar 38. Elektroforegram gen COI NI 1 <i>_forward</i>	51
Gambar 39. Elektroforegram gen COI NI 1 <i>_reverse</i>	52
Gambar 40. Elektroforegram gen COI NI 3 <i>forward</i>	52
Gambar 41. Elektroforegram gen COI NI 3 <i>reverse</i>	52
Gambar 42. Elektroforegram gen COI NI 3 <i>_forward</i>	53
Gambar 43. Elektroforegram gen COI NI 3 <i>_reverse</i>	53
Gambar 44. Elektroforegram gen COI NI 3A <i>forward</i>	53
Gambar 45. Elektroforegram gen COI NI 3A <i>reverse</i>	54
Gambar 46. Elektroforegram gen COI NI 4 <i>forward</i>	54
Gambar 47. Elektroforegram gen COI NI 4 <i>reverse</i>	54
Gambar 48. Elektroforegram gen COI NI 4A <i>forward</i>	55
Gambar 49. Elektroforegram gen COI NI 4A <i>reverse</i>	55
Gambar 50. Elektroforegram gen COI NI 5 <i>forward</i>	55
Gambar 51. Elektroforegram gen COI NI 5 <i>reverse</i>	56
Gambar 52. Elektroforegram gen COI NI 8 <i>forward</i>	56
Gambar 53. Elektroforegram gen COI NI 8 <i>reverse</i>	56
Gambar 54. Elektroforegram gen COI NI 8A <i>forward</i>	57
Gambar 55. Elektroforegram gen COI NI 8A <i>reverse</i>	57
Gambar 56. Elektroforegram gen COI NI 11 <i>_forward</i>	57
Gambar 57. Elektroforegram gen COI NI 11 <i>_reverse</i>	58
Gambar 58. Elektroforegram gen COI NI 12 <i>forward</i>	58
Gambar 59. Elektroforegram gen COI NI 12 <i>reverse</i>	58
Gambar 60. Elektroforegram gen COI NI 13 <i>_forward</i>	59
Gambar 61. Elektroforegram gen COI NI 13 <i>_reverse</i>	59
Gambar 62. Elektroforegram gen COI NI 14 <i>_forward</i>	59
Gambar 63. Elektroforegram gen COI NI 14 <i>_reverse</i>	60
Gambar 64. Elektroforegram gen COI NI 15 <i>forward</i>	60
Gambar 65. Elektroforegram gen COI NI 15 <i>reverse</i>	60
Gambar 66. Elektroforegram gen COI NI 24 <i>forward</i>	61
Gambar 67. Elektroforegram gen COI NI 24 <i>reverse</i>	61
Gambar 68. Elektroforegram gen COI NI 27 <i>forward</i>	61
Gambar 69. Elektroforegram gen COI NI 27 <i>reverse</i>	62
Gambar 70. Elektroforegram gen COI NI 28 <i>forward</i>	62
Gambar 71. Elektroforegram gen COI NI 28 <i>reverse</i>	62
Gambar 72. Elektroforegram gen COI NI 28 <i>_forward</i>	63
Gambar 73. Elektroforegram gen COI NI 28 <i>_reverse</i>	63

Gambar 74. Elektroforegram gen COI NI 29 <i>forward</i>	63
Gambar 75. Elektroforegram gen COI NI 29 <i>reverse</i>	64
Gambar 76. Elektroforegram gen COI NI 30 <i>forward</i>	64
Gambar 77. Elektroforegram gen COI NI 30 <i>reverse</i>	64
Gambar 78. Elektroforegram gen COI NI 32 <i>forward</i>	65
Gambar 79. Elektroforegram gen COI NI 32 <i>reverse</i>	65
Gambar 80. Elektroforegram gen COI NI 34 <i>forward</i>	65
Gambar 81. Elektroforegram gen COI NI 34 <i>reverse</i>	66
Gambar 82. Elektroforegram gen COI NI 36 <i>forward</i>	66
Gambar 83. Elektroforegram gen COI NI 36 <i>reverse</i>	66
Gambar 84. Konstruksi pohon kekerabatan hasil sekuensing gen COI..	70

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Gajah sumatera merupakan subspecies dari gajah asia (*Elephas maximus*) dan diperkenalkan oleh Temminck dengan nama ilmiah *Elephas maximus sumatranus* Temminck, 1847. Gajah sumatera dapat hidup pada berbagai tipe habitat, di antaranya hutan rawa, hutan rawa gambut, hutan dataran rendah, serta hutan hujan pegunungan rendah (Nuri dkk., 2013). Saat ini gajah sumatera dapat ditemukan pada tujuh provinsi di Pulau Sumatera yaitu Nanggroe Aceh Darussalam (NAD), Sumatera Utara, Riau, Jambi, Bengkulu, Sumatera Selatan, dan Lampung (Sulandari dan Zein, 2012).

Gajah sumatera adalah subspecies gajah asia yang endemik di Pulau Sumatera. Spesies ini juga termasuk dalam daftar merah *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) dengan status kritis (*critically endangered*). Gajah sumatera berciri sebagai mamalia darat dengan pola hidup berkelompok yang dipimpin oleh betina dewasa (matrilineal) (Vidya dan Sukumar, 2005). Sehubungan dengan statusnya, maka menangkap gajah secara ilegal di habitat aslinya, memelihara tanpa izin dan memperjualbelikannya merupakan tindakan yang melanggar hukum. Individu gajah yang mengganggu lahan pertanian dan pemukiman penduduk dapat ditangkap oleh aparat berwenang. Gajah hasil tangkapan kemudian dibawa ke Pusat Latihan Gajah (PLG) untuk dilakukan upaya perlindungan (Alikodra, 1990).

Pembangunan Pusat Latihan Gajah (PLG) di Taman Nasional Way Kambas (TNWK) merupakan salah satu upaya penyelamatan gajah sumatera yang dilakukan untuk pengelolaan gajah sumatera yang pernah terlibat konflik dengan masyarakat. Ukuran populasi gajah sumatera di PLG, TNWK tahun 2016 menunjukkan jumlah sebanyak 66 ekor dengan jumlah gajah jantan sebanyak 36 ekor, sedangkan gajah betina sebanyak 30 ekor (Rustiati dkk., 2017). Saat ini dengan kelahiran dua anak gajah maka jumlah total individu gajah sumatera menjadi 68 individu (Rustiati, 2019). Ukuran populasi yang kecil dan tertutup menyebabkan peningkatan risiko perkawinan silang dalam. Perkawinan silang dalam memicu penurunan variasi genetik yang kelak menimbulkan risiko penurunan viabilitas dan meningkatkan risiko kepunahan. Informasi mengenai keragaman genetik sangat diperlukan untuk mendukung upaya konservasi gajah sumatera. Informasi mengenai kondisi populasi gajah sumatera dapat diketahui dengan menggunakan metode penelusuran genetik, salah satunya analisis berdasarkan pada cetak biru molekular pada makhluk hidup yang disebut *deoxyribonucleic acid* (DNA). Data genetik yang diperoleh dari metode tersebut memberikan informasi mengenai jumlah individu, variasi genetik, dan mekanisme evolusi di dalam populasi tersebut (Frankham dkk., 2002).

Pola kekerabatan pada gajah sumatera mulai banyak diteliti, terutama terkait hubungan filogenik gajah asia yang ada di Indonesia, Nepal, India dan gajah dari benua Afrika. Gajah asia memiliki jumlah kromosom $2n=56$. Profil kromosom dapat pula memperlihatkan pengaruh domestikasi pada populasi gajah di penangkaran. Profil kromosom ini dapat terlihat dengan metode pembuatan karyotipe dari masing-masing individu. Profil kromosom individu gajah sumatera selanjutnya dapat disusun sebagai profil sitologis individu yang mendukung peta filogenetis gajah sumatera (Priyambodo dan Rustiati, 2017).

Pada penentuan strategi pengelolaan dan upaya konservasi gajah sumatera, informasi mengenai keragaman genetik tingkat populasi sangat dibutuhkan dalam menentukan arah kebijakan. Pendekatan analisis genetika molekuler salah satunya dilakukan dengan uji sekuensing dalam menentukan urutan basa nukleotida setiap individu sehingga dapat diketahui keragaman genetik pada spesies target. Uji sekuensing dapat dilakukan pada DNA hasil ekstraksi berkualitas baik. Pengujian kualitas DNA hasil ekstraksi dengan teknik sederhana menggunakan elektroforesis gel agarosa 1% dan molekul DNA yang memiliki kualitas baik menunjukkan pendaran pita yang dapat dilihat dari *digi doc* menggunakan sinar UV (Rustiati dkk., 2018). Setelah dilakukan pengujian kualitas hasil ekstraksi DNA, maka dilakukan proses sekuensing dan analisis data hasil sekuensing berupa elektroforegram dengan menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolution Genetics Analysis* (MEGA) versi 6.0. untuk membaca variasi genetik gajah sumatera di PLG, TNWK berdasarkan susunan asam nukleatnya untuk mengetahui jarak genetik dan homologinya.

Gen *cytochrome oxidase* subunit I (COI) adalah salah satu dari gen yang terdapat di genom mitokondria. Pada studi molekuler, gen COI digunakan sebagai penanda genetik dalam mempelajari karakteristik genetik antar spesies maupun antar individu. Gen COI juga dapat digunakan sebagai *DNA barcoding* karena hanya memiliki sedikit sekali delesi, insersi dan variasi dalam sekuennya (Hebert dkk., 2003). Selain itu COI juga dapat diaplikasikan dalam merekonstruksi filogenetik pada cabang evolusi tingkat spesies (Palumbi, 1996) dan telah berhasil melakukan serta membedakan berbagai spesies dari invertebrata dan vertebrata, dari Lepidoptera sampai burung pada bentang geografi yang berbeda (Hajibabaei dkk., 2007). Pola filogenetis gajah sumatera di Indonesia, khususnya antar populasi gajah sumatera yang berada di Lampung, Sumatera Selatan, dan

Bengkulu telah menunjukkan adanya keragaman genetik antar populasi yang rendah (Sulandari dan Zein, 2012).

Keragaman genetik turut menentukan keberhasilan upaya konservasi pada populasi suatu spesies. Perkawinan silang dalam dapat mengakibatkan terjadinya penurunan keragaman genetik. Adanya hal tersebut tersebut mempengaruhi kemampuan adaptasi gajah sumatera pada perubahan lingkungan (Frankham dkk., 2002). Probabilitas perkawinan silang dalam yang tinggi di dalam populasi tertutup seperti PLG, TNWK dapat memberikan dampak menumpuknya alel-alel resesif sehingga dapat menurunkan viabilitas individu di dalam populasi.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah bagaimana identifikasi dan karakterisasi gen *cytochrome oxidase* subunit I (COI) dapat mendukung penelusuran keragaman genetik pada tingkat populasi gajah sumatera betina di PLG, TNWK.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melakukan identifikasi dan karakterisasi gen *cytochrome oxidase* subunit I (COI) untuk menelusuri keragaman genetik gajah sumatera betina pada tingkat populasi di PLG, TNWK.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai sumber informasi mengenai keragaman genetik gajah sumatera betina dalam populasi di PLG, TNWK sebagai data profil molekuler dalam bentuk konstruksi peta filogenetik.

1.5. Kerangka Pikir

Upaya konservasi gajah sumatera salah satunya dilakukan di PLG, TNWK yang merupakan bagian dari kawasan yang merupakan salah satu habitat alami gajah sumatera. PLG berperan penting dalam langkah-langkah konservasi, salah satunya dalam penanganan gajah sumatera yang terdampak oleh fragmentasi habitat, perburuan liar, maupun terlibat konflik dengan masyarakat desa penyangga taman nasional.

Gajah sumatera sebagai satwa berstatus kritis sangat bergantung pada kemampuannya untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya, sementara dalam populasi tertutup seperti PLG meningkatkan peluang terjadinya perkawinan silang dalam, di antaranya karena tidak adanya data pendukung yang menjelaskan silsilah keragaman genetik dari populasi gajah yang ada di dalamnya.

Keragaman genetik gajah sumatera dalam populasi berpengaruh pada kemampuannya dalam beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang terus berubah. Penurunan keragaman genetik meningkatkan potensi kepunahan. Gajah sumatera sebagai spesies payung dengan berbagai tantangan bagi keberlangsungan hidupnya; termasuk rendahnya keragaman genetik harus diselamatkan dari ancaman tersebut.

Informasi mengenai keragaman genetik dari populasi gajah sumatera di PLG, TNWK sangat dibutuhkan dalam menentukan arah kebijakan, pengelolaan dan strategi upaya konservasi gajah sumatera. Pendekatan analisis genetika molekuler dilakukan dengan uji sekuensing untuk menganalisis keragaman genetik pada tingkat populasi. Gen COI sebagai salah satu penanda genetik digunakan untuk mempelajari karakteristik genetik gajah sumatera betina di PLG, TNWK.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Gajah

Terdapat dua jenis gajah di dunia yakni gajah asia (*Elephas maximus*) dan gajah afrika (*Loxodonta africana*). Gajah afrika dibagi menjadi dua subspecies yaitu gajah savana (*Loxodonta africana africana*) dan gajah hutan (*Loxodonta africana cyclotis*) (Eggert dkk., 2003). Gajah asia dikelompokkan dalam empat subspecies yaitu gajah india (*Elephas maximus indicus*), gajah srilanka (*Elephas maximus maximus*), gajah kalimantan (*Elephas maximus borneensis*), dan gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) (Sukumar, 2003).

Secara umum, terdapat perbedaan morfologi antara gajah asia dan afrika. Gajah asia berukuran lebih kecil dibandingkan gajah afrika. Gajah asia memiliki telinga lebih kecil yang berbentuk segitiga, sementara gajah afrika memiliki telinga berbentuk cekung terbalik. Gajah asia memiliki punggung berbentuk cembung, sedangkan pada gajah afrika berbentuk cekung. Terdapat dua bonggol di kepala gajah asia, sedangkan gajah afrika hanya memiliki satu bonggol saja. Pada gajah asia hanya individu jantan yang memiliki gading yang terlihat, sedangkan pada gajah betina tidak terlihat. Gajah afrika jantan dan betina memiliki gading yang terlihat pada kedua jenis kelamin. Bobot gajah asia dapat mencapai 5000 kg dengan tinggi sekitar 3 m sementara berat gajah afrika mencapai 7000 kg dengan tinggi 4 m (Lekagul dan McNeely, 1977).

2.1.1. Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*)

Gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) merupakan satwa yang termasuk ke dalam Ordo Proboscidea (Gambar 1). Penyebaran gajah sumatera di Indonesia meliputi Provinsi Aceh, Sumatera Utara, Riau, Jambi, Sumatera Selatan, Bengkulu dan Lampung (Tarmizi, 2008). Gajah sumatera banyak ditemui hidup di kawasan hutan hujan tropis Pulau Sumatera baik di daratan tinggi maupun rendah (Soehartono, 2007).



Gambar 1. Individu gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) betina dewasa bernama Pleno, anakan dan *mahout*-nya, Sugiyono

2.1.2. Habitat dan Perilaku

Habitat gajah sumatera tercakup pada beragam tipe hutan yaitu hutan rawa, hutan gambut, hutan hujan dataran rendah, dan hutan hujan pegunungan rendah. Gajah sumatera di Provinsi

Lampung berada di Taman Nasional Bukit Barisan Selatan (TNBBS) dan Taman Nasional Way Kambas (TNWK).

Gajah sumatera hidup dengan pola matriarkal, yakni hidup berkelompok dan dipimpin oleh gajah sumatera betina dewasa dengan ikatan sosial yang kuat (Sukumar 1989 dalam Soehartono dkk., 2007). Gajah jantan umumnya hidup secara soliter atau bergabung dengan jantan lainnya membentuk kelompok jantan. Kelompok gajah menjelajah dari satu wilayah ke wilayah yang lain, dan memiliki daerah jelajah. Luasan daerah jelajah dapat berbeda-beda bergantung pada ketersediaan pakan, tempat berlindung, dan berkembang biak (Soehartono dkk., 2007).

Pada umumnya usia aktif reproduksi gajah berkisar antara 10 - 12 tahun. Kondisi lingkungan, ketersediaan pakan, dan faktor ekologi seperti kepadatan populasi mempengaruhi usia aktif reproduksi gajah (McKay 1973; Sukumar, 1989; Ishwaran, 1993; Soehartono dkk., 2007). Sukumar (2003) menyatakan masa gestasi gajah berkisar antara 18 - 23 bulan dengan rerata sekitar 21 bulan serta jarak antar kehamilan pada betina sekitar 4 tahun. Pada kurun waktu 1 - 4 minggu dalam 3 - 5 bulan sekali gajah jantan mengalami fase peningkatan sifat agresivitas seperti perilaku menyerang yang sering disebut dengan *musth*. Perilaku tersebut dapat ditandai dengan sekresi kelenjar temporal di antara mata dan telinga serta memiliki aroma khas yang menyengat (Shosani dan Eisenberg, 1982).

2.1.3. Status Ekologi dan Klasifikasi

Gajah sumatera merupakan subspecies gajah asia yang keberadaannya di alam saat ini dalam kondisi kritis. Selain akibat dari adanya perburuan liar, kehilangan habitat alami akibat konversi area hutan menjadi lahan pertanian atau kawasan pembangunan di sekitar hutan TNWK mengancam keberlangsungan populasi gajah sumatera karena memicu terjadinya konflik gajah dengan manusia (Kumar dkk., 2010; Rood dkk., 2010).

Gajah sumatera berperan penting dalam menjaga keseimbangan ekosistem, ekonomi, maupun sosial budaya. Gajah sebagai penjaga keseimbangan ekosistem dapat berperan sebagai pengendali pertumbuhan flora dan agen penyebaran biji. Gajah juga bernilai ekonomi pada pemanfaatannya sebagai daya tarik wisata di kebun binatang, taman safari, taman marga satwa, dan juga taman nasional seperti TNWK (Alikodra, 2002).

Gajah sumatera di Indonesia dinyatakan dilindungi berdasarkan Undang-Undang No. 5 Tahun 1990 tentang Konservasi Sumber Daya Alam Hayati dan Ekosistemnya dan diatur dalam peraturan pemerintah PP 7/1999 tentang Pengawetan Jenis Tumbuhan dan Satwa. *International Union for Conservation of Nature* (IUCN, 2012), juga memasukkan gajah sumatera ke dalam daftar *Red List Data Book* sebagai satwa kritis (*critically endangered*) karena menghadapi risiko kepunahan tinggi di alam liar. Selain itu, gajah sumatera juga termasuk dalam *Appendix I* atau spesies yang dilarang dalam segala bentuk perdagangan internasional pada *Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (CITES)

yaitu satwa yang dilindungi dari berbagai bentuk perdagangan ilegal (CITES, 2012).

Terjadinya konflik antara gajah sumatera dengan manusia di kawasan TNWK di antaranya disebabkan oleh konversi habitat gajah sumatera menjadi lahan perkebunan, pertanian, dan pemukiman. Pada umumnya, bentuk konflik di sekitar kawasan hutan TNWK adalah penyerangan tanaman budidaya lahan pertanian masyarakat desa penyangga. Gajah yang terlibat dalam konflik ditangkap dan dibina atau bahkan dibunuh (Perrera, 2009).

Pendirian fasilitas PLG di TNWK, selain sebagai upaya konservasi juga merupakan salah satu langkah mitigasi konflik yang dilakukan dalam rangka penanggulangan konflik gajah dengan manusia. Gajah sumatera terdampak konflik dibina di PLG untuk kemudian diberdayakan dalam membantu patroli penggiringan gajah sumatera liar yang keluar dari habitatnya dan memasuki lahan pertanian maupun pemukiman warga desa penyangga di perbatasan kawasan TNWK.

Gajah sumatera memiliki klasifikasi sebagai berikut :

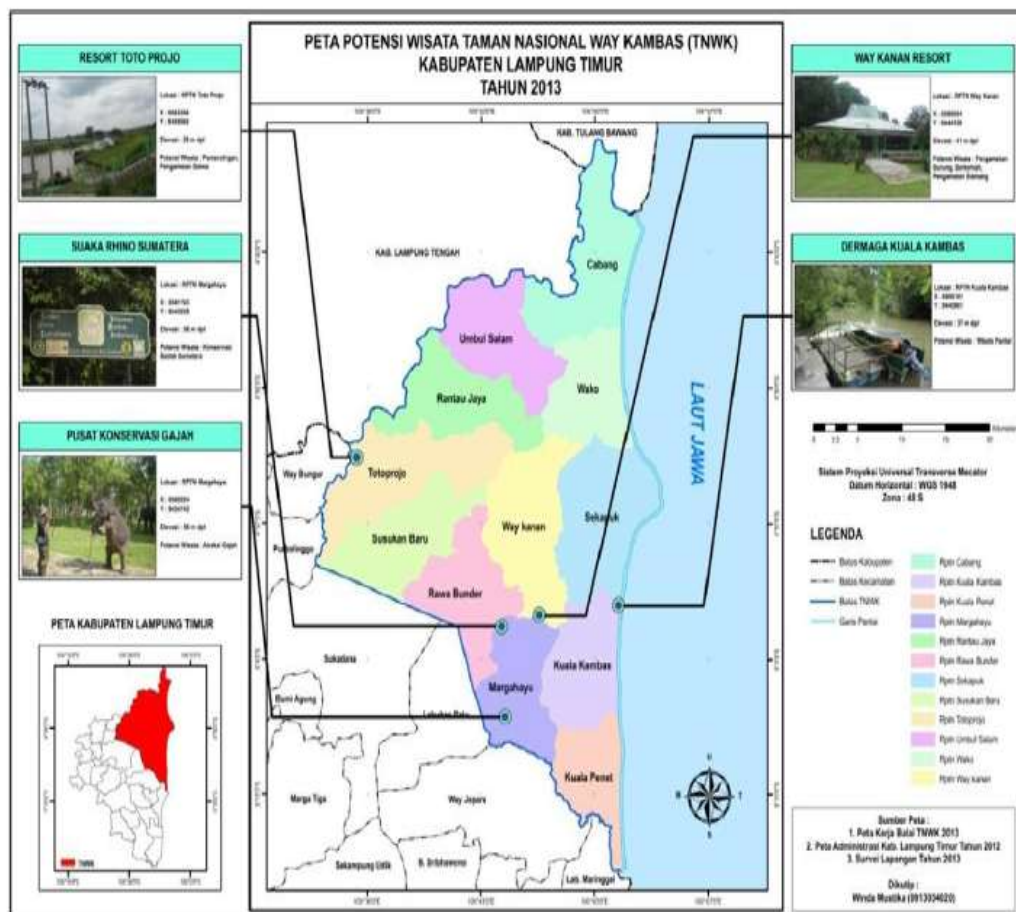
Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Bangsa	: Proboscidea
Suku	: Elephantidae
Marga	: <i>Elephas</i>
Spesies	: <i>Elephas maximus</i>
Subspesies	: <i>Elephas maximus sumatranus</i>

(Lekagul dan McNeely, 1977)

2.2. Taman Nasional Way Kambas

Taman Nasional Way Kambas (TNWK) secara geografis terletak antara $40^{\circ}37' - 50^{\circ}16'$ Lintang Selatan dan antara $105^{\circ}33' - 105^{\circ}54'$ Bujur Timur, serta berada di bagian tenggara Pulau Sumatera di wilayah Provinsi Lampung (Hudiyono, 2008).

Taman Nasional Way Kambas sebagai salah satu kawasan konservasi memiliki luas area 125.631,31 Ha (Gambar 2). Kawasan tersebut ditetapkan sebagai taman nasional pada tanggal 26 Agustus 1999 melalui Surat Keputusan Menteri Kehutanan No. 670 /Kpts-II/1999 (Kementerian Kehutanan Republik Indonesia, 2011).



Gambar 2. Taman Nasional Way Kambas, Lampung Timur (Mustika dkk., 2014)

Kawasan TNWK terletak di Kecamatan Labuhan Ratu, Kabupaten Lampung Timur dan berbatasan dengan 37 desa dari 10 kecamatan yang terletak bersebelahan langsung dengan kawasan konservasi di Kabupaten Lampung Timur (Balai Taman Nasional Way Kambas, 2006). Kawasan TNWK memiliki *Camp Resort* yang terletak di Jagawana Way Kanan dan Pusat Latihan Gajah. *Camp Resort* Jagawana Way Kanan terletak 13 kilometer dari pintu masuk utama yang memiliki area pusat konservasi badak sumatera atau yang disebut *Suaka Rhino Sumatera* (SRS) yang merupakan program penelitian dalam penyelamatan badak sumatera. Pusat Latihan Gajah (PLG) terletak 9 kilometer dari pintu gerbang utama yang merupakan area konservasi gajah sumatera binaan.

2.2.1. Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas

Menurut Alikodra (2010), TNWK telah melakukan pelatihan gajah sumatera sejak berdirinya PLG pada tahun 1985. Gajah sumatera binaan saat ini berada di PLG dan *Elephant Response Unit* (ERU). Lokasi ERU terdapat pada empat lokasi di TNWK yaitu Tegal Yoso, Way Bungur, Margahayu dan Braja Harjosari. Kawasan TNWK memiliki peranan dalam menjaga keberlangsungan hidup gajah sumatera di habitat alaminya, membina terhadap gajah liar yang terlibat konflik gajah manusia dan juga anakan gajah yang dilahirkan dari hasil domestikasi gajah liar di PLG.

Pusat Latihan Gajah (PLG) sebagai upaya konservasi yang terdapat di TNWK berperan dalam membantu mitigasi konflik antara gajah dengan manusia (Mukhtar, 2004). Konservasi gajah sumatera di PLG, TNWK terus ditingkatkan dan upaya dalam menjaga kesehatan gajah sumatera terus dilakukan. Rumah Sakit

Gajah (RSG) Prof. Dr. Ir. H. Rubini Atmawidjaja didirikan tahun 2015. RSG ini menjadi rumah sakit gajah pertama di Indonesia. PLG, TNWK diharapkan menjadi pusat latihan gajah yang mampu menjadi pusat konservasi gajah (Febriyanto, 2011).

Sejak PLG TNWK didirikan dengan luas lahan sekitar 400 ha dan beroperasi sejak 27 Agustus 1985 sebagai salah satu upaya konservasi gajah Sumatera, aktivitas dalam rangkaian kegiatan di dalamnya di antaranya yaitu pemenuhan kebutuhan berupa pemberian pakan tambahan, penggembalaan, penyediaan air, perkembangbiakan, dan perawatan medis. Drs. Widodo Ramono, Kepala Balai Konservasi Sumber Daya Alam II Tanjung Karang saat itu adalah pendiri PLG di TNWK sebagai Pusat Latihan Gajah yang pertama dikembangkan di Indonesia. Konsep pengelolaan gajah tangkapan yang diaplikasikan oleh pemerintah yakni tiga liman; Tata Liman, Bina Liman, dan Guna Liman (Soehartono dkk., 2007).

Tata liman yaitu penataan populasi gajah yang habitatnya terfragmentasi sebagai akibat dari kegiatan pembangunan melalui jalan traslokasi menuju kawasan khusus yang telah disediakan. Bina liman adalah upaya pembinaan, pelatihan maupun penjinakan untuk mengangkat harkat hidup gajah agar tidak diidentikkan sebagai satwa perusak, adapun salah satu bentuk upaya yang dilakukan yaitu melalui pendirian PLG. Guna liman adalah pemberdayaan potensi gajah untuk membantu manusia setelah dilakukan pembinaan (Gumilang dkk., 2015).

Salah satu tantangan yang dihadapi oleh PLG, TNWK adalah belum tersedianya informasi mengenai karakteristik genetik dan tingkat keragaman dalam populasi di dalamnya. Hal tersebut salah satunya akan berdampak pada tingginya kemungkinan

peristiwa perkawinan silang dalam yang menurunkan viabilitas individu di dalamnya. Identifikasi secara molekuler dari setiap individu gajah sumatera di PLG, TNWK diperlukan untuk mengetahui hubungan kekerabatan gajah sumatera di PLG, TNWK pada tingkat populasi. Salah satu langkah awal yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan analisis hasil sekuensing DNA gajah sumatera betina di PLG TNWK.

2.3. Identifikasi Keragaman Genetik

Fragmentasi habitat berdampak pada putusnya aliran gen (*gene flow*), meningkatnya hanyutan gen (*genetic drift*) serta menjadi faktor terjadinya perkawinan silang dalam pada suatu populasi. Ukuran populasi gajah sumatera yang semakin mengecil sangat rentan terhadap berbagai efek genetik yang merugikan, seperti penurunan keragaman yang disebabkan oleh terjadinya perkawinan silang dalam. Perkawinan silang dalam berisiko mengakibatkan terfiksasinya alel tertentu dalam populasi sehingga hewan tersebut menjadi monomorf dan menurun kemampuannya dalam beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang berubah (Frankham dkk., 2002).

Informasi yang tersedia mengenai keragaman genetik individu gajah sumatera binaan di PLG, TNWK diperlukan untuk mendukung langkah konservasi ke depan. Identifikasi sifat genetik berperan penting dalam upaya konservasi sumber daya hayati khususnya satwa yang terancam punah. Informasi tingkat kelangkaan suatu spesies dapat teridentifikasi melalui sifat-sifat genetik dengan melihat derajat polimorfisme. Identifikasi genetik juga dapat memberikan informasi tambahan untuk memetakan filogenetik suatu spesies dan kekebalannya terhadap suatu jenis penyakit. Selain itu, aplikasi hasil identifikasi genetik ini adalah

untuk mengurangi peluang terjadinya perkawinan silang dalam (Mas'yud, 1992).

Analisis filogenetik (kekerabatan) gajah sumatera di PLG, TNWK dapat dijadikan referensi pendukung untuk arah kebijakan upaya konservasi gajah sumatera di penangkaran. Keekerabatan tingkat populasi di PLG dapat ketahu dengan menganalisis *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) gajah sumatera. *Deoxyribo Nucleic Acid* adalah asam nukleat yang disimpan dalam inti sel dan mitokondria, berisi materi genetik dan sifatnya dapat diturunkan (herediter) (Faatih, 2009). Informasi genetik gajah sumatera di PLG, TNWK dapat diperoleh dengan proses sekuensing dan analisis data hasil sekuensing berupa elektroforegram dengan menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolution Genetics Analysis* (MEGA) versi 6.0. untuk membaca variasi genetik dan menyusunnya dalam konstruksi peta filogenetis gajah sumatera di PLG, TNWK, setelah sebelumnya dilakukan pengujian kualitas hasil ekstraksi DNA.

2.3.1. Karakteristik DNA

Molekul DNA adalah asam nukleat berisi materi genetik yang berfungsi mengatur perkembangan seluruh kehidupan secara biologis. Molekul DNA berstruktur pilinan utas ganda dari komponen gula pentosa (deoksiribosa), gugus fosfat dan pasangan basa. Pasangan basa DNA terdiri dari basa pirin dan pirimidin. Basa pirin terdiri atas adenin (A) dan guanin (G) berbentuk cincin ganda sedangkan basa pirimidin terdiri atas sitosin (C) dan timin (T) dalam struktur cincin tunggal. Adenin selalu berpasangan dengan timin, sebagaimana sitosin dengan guanin. Kedua basa pada masing-masing pasangan terhubung

oleh ikatan hidrogen. Kedua rantai berjalan memilin satu dengan lainnya pada rantai heliks ganda.

Molekul DNA yang berperan membawa keterangan genetik dalam sel mempunyai unit esensial berupa kodon yaitu triplet urutan basa di mana masing-masing triplet akan menunjukkan kode sebuah asam amino tertentu dan kode genetik akan menentukan struktur protein primer. Protein ini terdiri atas komponen struktural makromolekul atau enzim yang mengendalikan sintesis non protein. Di dalam setiap sel berinti terdapat dua jenis DNA yaitu *nuclear* DNA (n-DNA) yang terdapat di dalam inti sel dan mitokondria DNA (mt-DNA) yang terdapat pada organel mitokondria. Setiap sel dalam tubuh akan memiliki rangkaian DNA identik. Rangkaian DNA setiap sel disebut kromosom, dan setiap kromosom dibagi menjadi lokus-lokus yang menandai posisi gen pada kromosom. Gen yang terdapat pada lokus-lokus ini disebut dengan alel. Alel disebut homozigot jika gen pada satu lokus sama dengan lokus pada kromosom pasangannya, sedangkan jika berbeda disebut heterozigot. Pada lokasi tertentu dalam kromosom terdapat alel-alel yang sangat spesifik pada setiap individu dan akan diturunkan kepada anak dalam proses pembuahan sehingga anak mewarisi alel-alel ini dalam kromosomnya (Roberts dan Pembrey, 1995).

2.3.2. Teknik Analisis DNA

a. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu metode untuk memperbanyak fragmen DNA tertentu secara *in vitro* dengan dukungan enzim polimerase DNA. Teknik ini secara spesifik hanya memperbanyak segmen tertentu dari sampel

dengan tingkat akurasi tinggi, sehingga dapat diperoleh informasi dari sampel meskipun hanya berjumlah sedikit atau mulai terdegradasi.

Proses yang terjadi pada teknik PCR hampir mirip dengan mekanisme DNA dalam memperbanyak jumlahnya di dalam sel. Ada tiga tahap yang dilakukan di laboratorium. Pertama, proses denaturasi yaitu pemisahan segmen atau urutan DNA rantai ganda menjadi dua rantai tunggal dengan cara memanaskan. Kedua, proses penempelan, di mana setiap rantai tunggal diikatkan dengan DNA primer. Molekul DNA primer adalah DNA pendek buatan yang menunjukkan urutan DNA target yang akan diperbanyak. Proses ketiga yakni pemanjangan berupa penambahan enzim DNA polimerase bersama dengan sejumlah basa bebas dari keempat jenis basa DNA yang dilanjutkan dengan proses replikasi (Rudin dan Inman, 2002).

Reaksi amplifikasi dengan metode PCR bertujuan agar molekul kecil khususnya asam nukleat menjadi jumlah yang lebih banyak dalam mikrogram. Setiap urutan dalam metode PCR melibatkan tiga tahapan seperti denaturasi, penempelan dan pemanjangan yang akan diulangi dalam selang waktu tertentu. Proses pengulangan berfungsi dalam memperbanyak DNA dengan pengaturan suhu yang berbeda. Jumlah DNA target dapat disalin dua kali pada setiap siklus (2^n), sehingga dalam 20 siklus PCR dapat tersalin jutaan DNA target (Mannheim, 2006).

b. Elektroforesis

Elektroforesis merupakan suatu cara analisis kimiawi yang mengadopsi prinsip pergerakan molekul-molekul protein yang bermuatan pada medan listrik. Arus listrik dialirkan pada suatu medium penyangga yang diisi protein plasma sehingga komponen-komponen protein bermigrasi dari kutub negatif ke kutub positif (Ricardson dkk., 1986).

Gel agarosa umumnya digunakan untuk analisis DNA dan RNA pada elektroforesis, sedangkan gel poliakrilamida diaplikasikan pada protein. Penempatan sampel disesuaikan dengan peta untuk mempermudah proses analisis hasil visualisasinya. Proses elektroforesis menggunakan kekuatan (volt) dan waktu tertentu yang disesuaikan. Alat bantu seperti *digi doc* digunakan dalam visualisasi hasil elektroforesis sebelum hasil dianalisis. Hasil visualisasi dari gel elektroforesis berupa noda atau pita (Nei, 1977; Brown dan Weir, 1983).

c. Sekuensing

Pembacaan sekuen DNA sebagai produk PCR menjadi penentu utama dalam biologi molekuler untuk mengetahui komposisi nukleotida dan asam amino suatu gen, juga menganalisis kekerabatan dan jalur evolusinya (Albert dkk., 1994). Produk PCR gen COI penelitian berupa pita tunggal yang berukuran 229 bp. Produk hasil PCR dilakukan sekuensing di PT Genetika Science Indonesia secara lengkap, baik dengan primer *forward* maupun *reverse*, untuk memperoleh urutan DNA yang sesuai bagi pembacaan.

Sekuensing DNA didasari oleh kerja metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Molekul DNA yang akan ditentukan urutan basanya (A,C,G,T) akan berperan sebagai cetakan (*template*). DNA lalu diamplifikasi menggunakan enzim dan bahan-bahan serupa reaksi PCR, namun ada penambahan beberapa pereaksi tertentu, sehingga proses ini dinamakan *cycle sequencing*. Enzim polimerase akan membuat rantai baru DNA salinan dari *template* dengan penambahan dNTP-dNTP sesuai urutan DNA cetaknya pada tahap ekstensi, sedangkan apabila ddNTP tertempel, maka proses polimerisasi akan terhenti karena ddNTP tidak memiliki gugus 3'-OH yang seharusnya bereaksi dengan gugus 5'-P dNTP berikutnya membentuk ikatan fosfodiester.

Pada akhir *cycle sequencing*, dihasilkan fragmen-fragmen DNA yang bervariasi panjangnya. Ketika dipisahkan dengan elektroforesis, dapat terlihat berjarak antar fragmennya satu basa-satu basa. Urutan basa DNA dapat ditentukan dengan proses pemisahan fragmen pada gel elektroforesis dalam satu lajur, menggunakan label *fluorescent* dengan empat warna yang berbeda untuk setiap reaksi *cycle sequencing* (Applied Biosystems, 2012).

d. Pensejajaran Runutan Nukleotida (*Alignment*)

Runutan nukleotida gen COI gajah sumatera betina dengan primer *forward* dan *reverse* dianalisis untuk mendapatkan sekuens DNA dari gen COI. Pensejajaran runutan nukleotida dilakukan dengan menggunakan program Clustal W yang terdapat pada aplikasi MEGA (Tamura dkk., 2007). Runutan nukleotida gen COI gajah sumatera betina disejajarkan dengan *ingroup* (Famili Elephantidae) yaitu

Elephas maximus indicus. Pensejajaran berganda dilakukan hanya pada nukleotida, sehingga dapat diketahui apakah ada perbedaan nukleotida pada gajah sumatera betina yang diuji.

e. Analisis Filogenetik

Analisis filogenetik gajah sumatera betina dikonstruksi antara gen COI hasil penelitian ini dengan basis data gen COI *Elephas maximus indicus*. Analisis filogenetik menggunakan perangkat lunak MEGA (Tamura dkk., 2007) versi 6.0 untuk mendapatkan data jarak genetik, homologi dan konstruksi pohon filogenetiknya, dilihat dari susunan asam nukleat dan asam aminonya.

2.4. Gen *Cytochrome Oxidase Subunit I* (COI)

Gen *cytochrome oxidase* subunit I (COI) merupakan salah satu gen yang terdapat dalam genom mitokondria yang biasa digunakan sebagai penanda genetik dalam studi molekuler untuk mempelajari karakteristik genetik antar spesies maupun antar individu, serta dapat digunakan sebagai *DNA barcoding* karena sedikit sekali delesi, insersi dan variasi dalam sekuennya (Hebert dkk., 2003). Ketepatan pemilihan gen sebagai penanda genetik didasari oleh beberapa kriteria, di antaranya gen terdapat pada semua organisme, memiliki cara kerja yang sama, serta mampu menjadi pembeda antar spesies. Karakteristik utama penanda genetik terdapat pada laju substitusi nukleotida maupun asam amino pada daerah-daerah tertentu. Salah satu kelebihan gen COI sebagai penanda analisis filogenetik adalah asam amino pada fragmennya jarang mengalami substitusi. (Lynch dan Jarrell, 1993).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian tentang “Identifikasi dan Karakterisasi Gen COI Gajah Sumatera (*Elephas maximus suamtranus*) Betina di Pusat Latihan Gajah, Taman Nasional Way Kambas” telah dilakukan pada bulan Januari 2019 bekerja sama dengan Taman Nasional Way Kambas dalam pengambilan sampel darah dan Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung pada analisis kualitas DNA, di bawah penelitian **Dra. Elly L. Rustiati, M.Sc.** dengan judul “**Konstruksi Peta Filogenetis Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) di Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas Berdasarkan Analisis Sitologis dan Molekuler**” tahun penelitian kedua melalui Kontrak Penelitian Strategis Nasional Institusi Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi, Tahun Anggaran 2018.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Adapun peralatan yang digunakan dalam amplifikasi DNA yakni tabung mikro 0,2 µl, *Laminar Air Flow* (LAF) untuk preparasi bahan agar tidak terkontaminasi dengan udara luar, vortex untuk homogenisasi larutan, mikropipet dan mikrotip untuk mengambil

sampel DNA dan Veriti *Thermal Cycler* untuk proses amplifikasi dengan suhu serta waktu dengan jumlah siklus tertentu. Proses elektroforesis dilakukan dengan satu set alat elektroforesis horizontal untuk melakukan uji kualitatif DNA (*chamber*, cetakan gel, sisir, *power supply*), *Digital Documents (digi doc)* untuk visualisasi hasil elektroforesis, dan kamera Canon sebagai alat dokumentasi. Proses purifikasi peralatan dilakukan dengan *QIAquick column* sebagai medium presipitasi, *spin column* dan *centrifuge* untuk menghomogenkan supernatan serta *microtube* untuk menampung hasil purifikasi. Pada proses sekuensing peralatan yang digunakan adalah mesin *sequencer* tipe 3130 *Applied Biosystem*. Sedangkan pada proses analisis data hasil sekuensing berupa elektroforegram digunakan komputer dengan aplikasi *Molecular Evolution Genetics Analysis (MEGA) 6.0* serta *BioEdit Sequence Alignment Editor*.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam amplifikasi adalah DNA hasil ekstraksi sampel darah gajah sumatera betina yang diperoleh dari Taman Nasional Way Kambas dan *mix master* yang terdiri dari MyTaq™ HS Red Mix, *nuclease-free water* sebagai pelarut primer serta primer *forward* dan *reverse* gen *cytochrome oxidase* subunit I (COI) untuk mengenali urutan asam nukleat yang akan diamplifikasi. Bahan untuk proses elektroforesis adalah DNA teramplifikasi, gel agarosa sebagai fase diam, larutan penyangga *Tris-Acetate-EDTA (TAE)* sebagai fase gerak dan pelarut agarosa, *SYBR safe* sebagai pewarna untuk melihat DNA hasil ekstraksi setelah dilakukan elektroforesis, serta *marker* 100 bp sebagai penanda. Bahan untuk proses purifikasi adalah isopropanol untuk membantu presipitasi dan *buffer* QIAGEN

sebagai pencuci pellet yang terbentuk setelah sentrifugasi. Bahan untuk proses sekuensing adalah reagen yang terdiri dari *BigDye Xterminator mix* dan *reaction buffer* sebagai pereaksi, *nuclease-free water* sebagai pelarut primer serta primer *forward* dan *reverse* gen *cytochrome oxidase* subunit I (COI) untuk mengenali urutan asam nukleat yang akan diamplifikasi serta DNA hasil purifikasi.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Tahap Pendahuluan

Teknik pengambilan sampel darah dan profil gajah sumatera binaan telah dilakukan tim medis yang bertugas di RSG Prof. Dr. Ir. H. Rubini Atmawidjaja PLG, TNWK, dipimpin oleh drh. Diah Esti Anggraini dan drh. Dedi Chandra, M.Si. Pengambilan sampel darah gajah juga melibatkan mahasiswa peneliti Siti Asiyah, S.Si., paramedis veteriner, dan *mahout* dari masing-masing gajah. Proses pengambilan sampel darah juga didampingi oleh koordinator PLG TNWK, Elisabeth Devi Krismuniarti, S.Si., M.E. pada tahun 2018 dengan dukungan Surat Keputusan Direktur Jenderal Konservasi Sumber Daya Alam Ekosistem (No. SK.247/KSDAE/SET/KSA.2/6/ 2018) tentang Izin Mengambil dan Mengedarkan Sampel Feses, Urin, Darah, Garutan Gading, dan Rambut Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk Kepentingan Penelitian Atas Nama Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc. dan Priyambodo, M.Sc. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah sampel darah gajah sumatera betina dari PLG, TNWK (Tabel 1). Sampel darah gajah sumatera diambil dari Rumah Sakit Gajah (RSG) Prof. Dr. Ir. H. Rubini Atmawidjaja di PLG

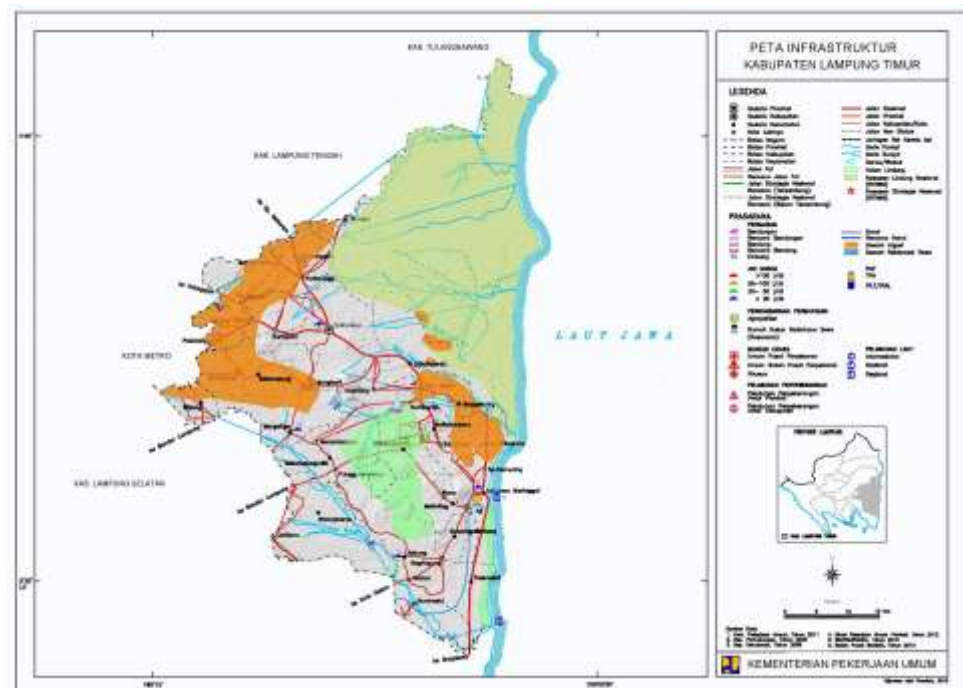
dan *Elephant Response Unit* (ERU) TNWK (Rustiati dkk., 2018).

Tabel 1. Kode sampel dan nama gajah sumatera betina dari PLG, TNWK

No.	Nama gajah	Nomor isolasi	Asal
1.	Alma	34	Purbolinggo
2.	Bunga	27	Purbolinggo
3.	Karmila	13_	Purbolinggo
4.	Lingling	11_	Purbolinggo
5.	Mega	8	Purbolinggo
6.	Meli	32	Purbolinggo
7.	Dita	3	Susukan Baru
8.	Kartijah	15	Susukan Baru
9.	Pepi	1	Susukan Baru
10.	Poniyem	4a	Susukan Baru
11.	Rahmi	3a	Susukan Baru
12.	Riska	30	Susukan Baru
13.	Amalia	14_	PLG
14.	Queen	1_	PLG
15.	Wulan	4	PLG
16.	Yulia	8a	PLG
17.	Gunturia	5	Palembang
18.	Mela	28_	Palembang
19.	Sulli	3_	Palembang
20.	Arni	28	Padang Cermin
21.	Heli	36	Padang Cermin
22.	Pleno	12	Jakarta
23.	Yeti	24	Braja Yekti
24.	Dona	29	Lampung Utara

Penentuan dua puluh empat sampel DNA hasil ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan dengan teknik *purposive sampling*, yaitu menentukan sampel berdasarkan pertimbangan tertentu (Sugiyono, 2001), yaitu berdasarkan pada jenis kelamin betina, hal ini juga terkait dengan penggunaan primer *cytochrome oxidase* subunit I.

Gajah sumatera betina binaan di PLG, TNWK, Lampung Timur (Gambar 3) berasal dari delapan wilayah yang berbeda, dalam hal ini enam ekor gajah sumatera betina berasal dari Purbolinggo, Lampung Timur, enam ekor dari Susukan Baru, Lampung Timur, empat ekor dari PLG, tiga ekor dari Palembang, Sumatera Selatan, dua ekor dari Padang Cermin, satu ekor dari Jakarta, Braja Yekti dan Lampung Utara.



Gambar 3. Kabupaten Lampung Timur

3.3.2. Ekstraksi

Ekstraksi DNA mengacu pada protokol ekstraksi *DNeasyR Blood & Tissue Kit* dari QIAGEN. Pada proses ekstraksi DNA gajah sumatera diperlukan tiga tahapan untuk mendapatkan isolat DNA yang baik yaitu melalui tahap lisis, isolasi dari pengotor, dan presipitasi (Rustiati dkk., 2018). Tahap ekstraksi sampel darah gajah sumatera telah dilakukan oleh tim peneliti Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc., Priyambodo, M.Sc., Siti Asiyah, S.Si., Dian Neli Pratiwi, S.Si. didampingi oleh paramedic veteriner yang bertugas di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner yaitu drh. Liza Angeliya, M.Sc. dan drh. Eko Agus Srihanto, M.Sc (Pratiwi, 2018).

3.3.3. Amplifikasi

Uji deteksi DNA hasil ekstraksi menggunakan PCR dimulai dengan pembuatan *master mix* yaitu dengan menghomogenkan MyTaq™ HS Red Mix ditambahkan primer *reverse* dan *forward cytochrome oxidase subunit I (COI)* Cat No. 10336022 dari Invitrogen (Tabel 2) dan *nuclease free water (NFW)*. Sebanyak 30 µl dari *master mix* dihomogenkan dengan 5 µl DNA hasil ekstraksi.

Tabel 2. Sekuens primer COI untuk gajah sumatera

Primer	Sekuens
<i>Forward</i>	5' GTGTCATTGTCACAGCACAC '3
<i>Reverse</i>	5'CTGCCAGAGGAGGATATCG '3

Langkah awal yang dilakukan untuk menentukan suhu yang digunakan pada tahap amplifikasi yaitu optimasi suhu, suhu optimal yang menunjukkan pendaran pita DNA pada hasil uji

elektroforesis gel agarosa yaitu suhu 50°C. Pada tahap predenaturasi digunakan suhu 95°C dengan waktu 5 menit. Tahap predenaturasi dilakukan untuk memastikan rantai ganda DNA genom dapat terpisah menjadi untai tunggal. Tahap kedua yaitu tahap denaturasi digunakan suhu 94°C dengan waktu 20 detik. Tahap denaturasi merupakan proses awal untuk memisahkan untai ganda DNA menjadi dua untai tunggal. Pada tahap ketiga yaitu tahap penempelan digunakan suhu 50°C dengan waktu 45 detik. Tahap ini digunakan sebagai pengenalan suatu primer terhadap DNA target yang memiliki pasangan basa yang unik pada suatu organisme. Tahap keempat yaitu tahap pemanjangan digunakan suhu 72°C dengan waktu 1 menit. Tahap pemanjangan merupakan tahap pemanjangan untai baru DNA. Tahap kelima yaitu tahap post-ekstensi menggunakan suhu 72°C selama 7 menit dan suhu 12°C untuk menyempurnakan tahap terakhir. Tahap satu dengan tahap lima berulang 1 kali, sedangkan tahap dua, tiga dan empat berulang sebanyak 39 kali.

3.3.4. Elektroforesis gel agarosa

Hasil PCR selanjutnya divisualisasi dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1,5% pada tegangan 100 volt selama 30 menit. Hasil elektroforesis dilihat dengan *digi doc*. Tahap elektroforesis gel agarosa 1,5% dilakukan dengan mencampurkan bubuk agarosa 1,5 mg yang dilarutkan dalam *buffer* TAE 100 ml dan dipanaskan menggunakan *microwave* selama 3 menit lalu ditambahkan *SYBR safe* 1,5 µl. Larutan gel agarosa yang telah ditambahkan *SYBR safe* 1,5 µl diletakkan dalam cetakan gel yang telah diberi sisir pembuat sumuran gel. Larutan gel agarosa yang telah padat dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah ditambahkan *buffer* TAE hingga agarosa terendam. Larutan DNA hasil amplifikasi sebanyak 5 µl

dimasukkan ke dalam sumuran gel agarosa. Elektroda kemudian dihubungkan dengan *power supply* selama 30 menit dengan tegangan 100 volt. Setelah selesai, gel dipindahkan ke dalam *digi doc* untuk divisualisasi.

3.3.5. Purifikasi

Purifikasi gel dilakukan untuk mendapatkan fragmen DNA sampel hasil elektroforesis. Metode purifikasi gel sesuai dengan prosedur kerja *kit* yang dipakai (QIAGEN). Fragmen DNA pada gel agarose dipotong, kemudian potongan gel dimasukkan ke dalam tube dan ditambah dengan 3 kali volume *buffer* QIAGEN. Suspensi diinkubasi selama 10 menit pada suhu 50°C dan divortek setiap 2-3 menit agar terlarut sempurna. Larutan ditambah 1 kali volume *isopropanol* dan divortex, lalu suspensi dipindahkan ke dalam *spin column* dan dilakukan setrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 13.000 rpm, kemudian supernatan ditambahkan 500µl *buffer* QIAGEN dan disentrifugasi kembali. Pencucian isolat dilakukan dengan *buffer* BE sebanyak 750 µl lalu dilakukan sentrifugasi ulang selama 1 menit. Supernatan dipindahkan ke *microtube* 1,5 ml. Pelarutan DNA dilakukan dengan menambahkan 50 µl *buffer* EB lalu supernatan kembali disentrifugasi selama 1 menit (Srihanto, 2013).

3.3.6. Sekuensing

Proses sekuensing dilakukan dengan mesin *sequencer* tipe 3130 *Applied Biosystem*. Reagen untuk sekuensing dimasukkan ke dalam lubang mikroplate. Reagen tersebut terdiri dari *BigDye Xterminator mix*, 5 kali *reaction buffer*, satu macam primer spesifik *forward* atau *reverse*, *Nuclease-free water* dan DNA

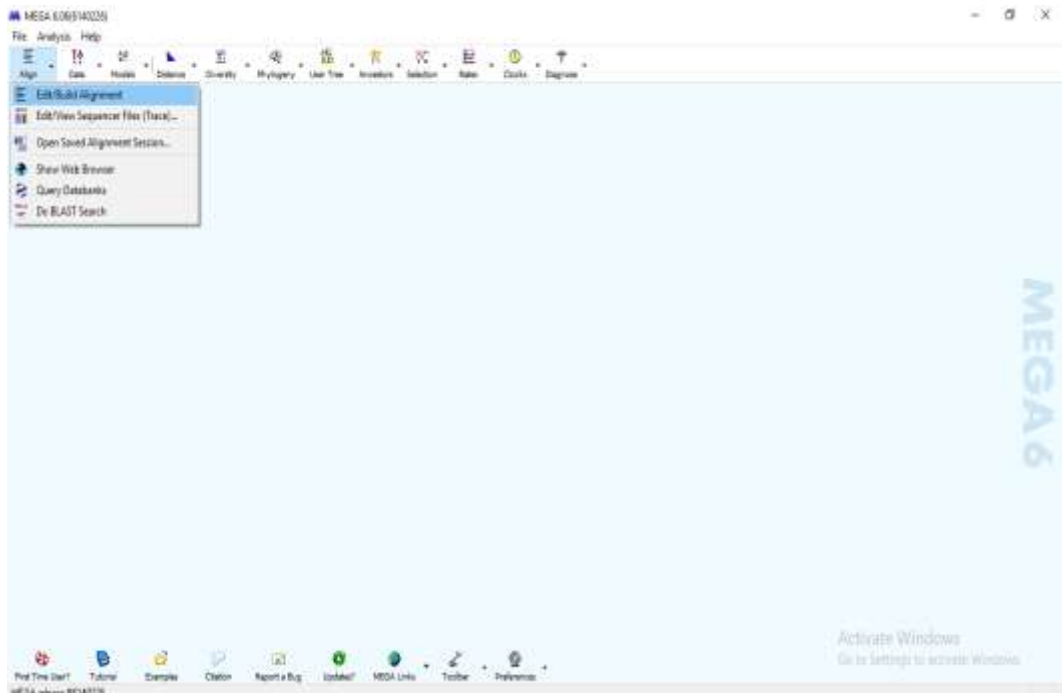
yang sudah dipurifikasi. Proses dengan *sequencer* berlangsung sebanyak 25 siklus dengan tahap predenaturasi, denaturasi, penempelan dan pemanjangan. Data hasil sekuensing berbentuk elektroforegram dan AB1 file (Srihanto, 2013).

3.4. Analisis data

Analisis data hasil sekuensing menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolution Genetics Analysis* (MEGA) versi 6.0. untuk mendapatkan runutan basa nukleotida, tabel jarak genetik dan homologi, serta pohon kekerabatan dari hasil sekuensing gen COI dari 24 ekor gajah sumatera betina di PLG, TNWK.

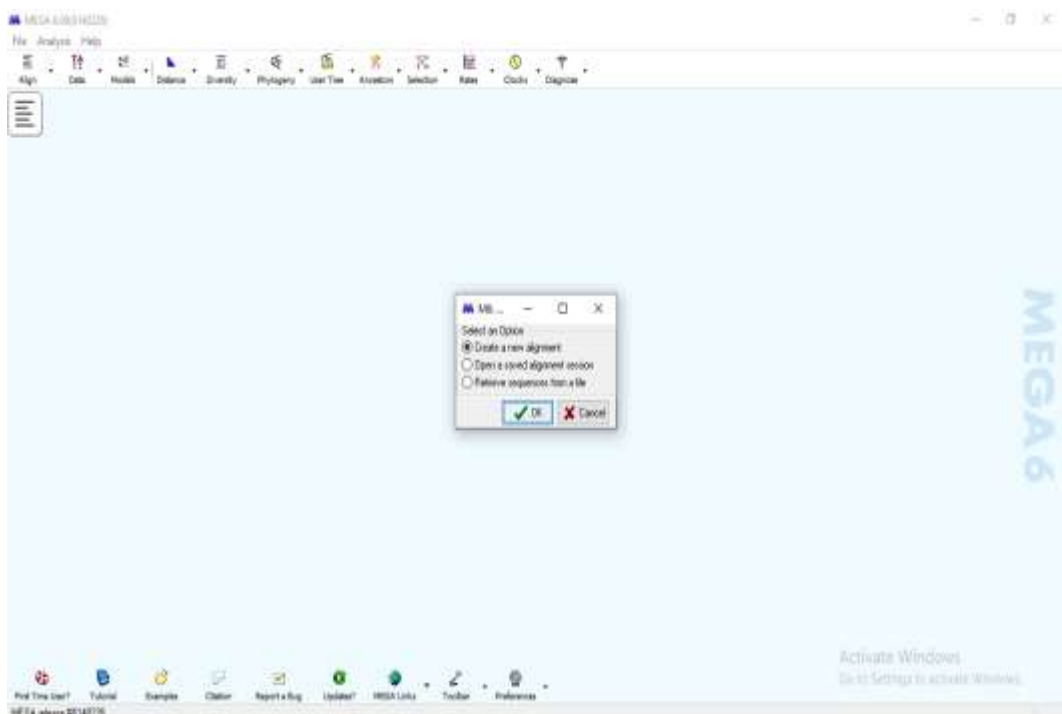
3.4.1. Merunut urutan basa nukleotida

Pada tahapan ini data hasil sekuensing berupa elektroforegram dalam bentuk AB1 *file* diubah menjadi bentuk *fasta file* (.txt) yang berisi susunan asam nukleat. Tahap pertama yaitu membuka aplikasi MEGA 6.0 lalu memilih opsi “Edit/Build Alignment” pada menu Align (Gambar 4).



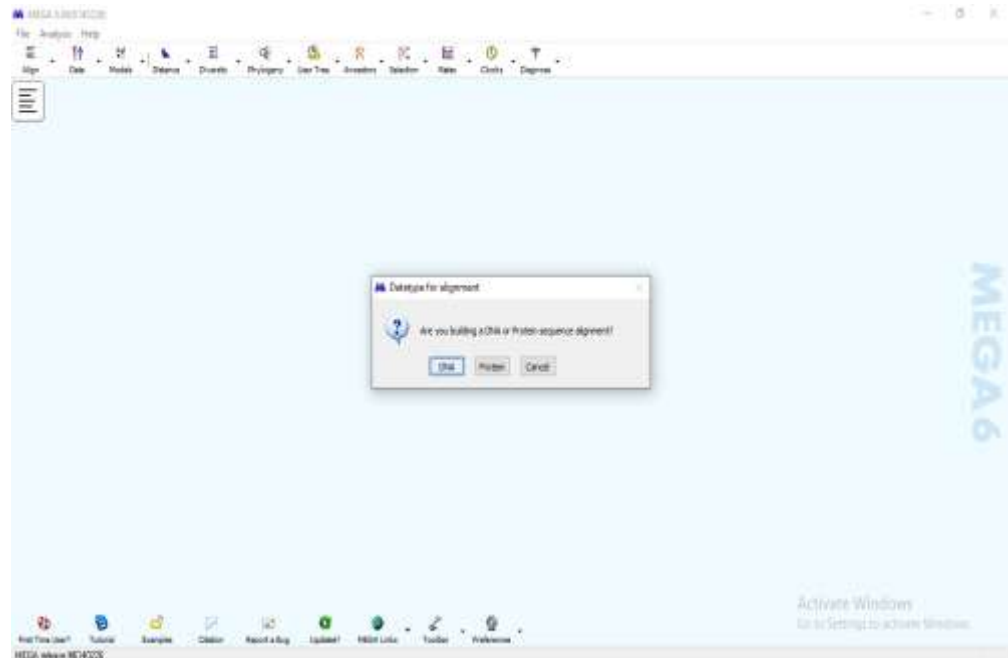
Gambar 4. Langkah pertama merunut basa nukleotida

Selanjutnya yaitu memilih opsi “Create a new alignment” pada jendela menu Select an Option (Gambar 5).



Gambar 5. Langkah kedua merunut basa nukleotida

Kemudian memilih opsi “DNA” pada jendela menu yang muncul di layar yang menunjukkan jenis sequence alignment yang dikehendaki (Gambar 6).



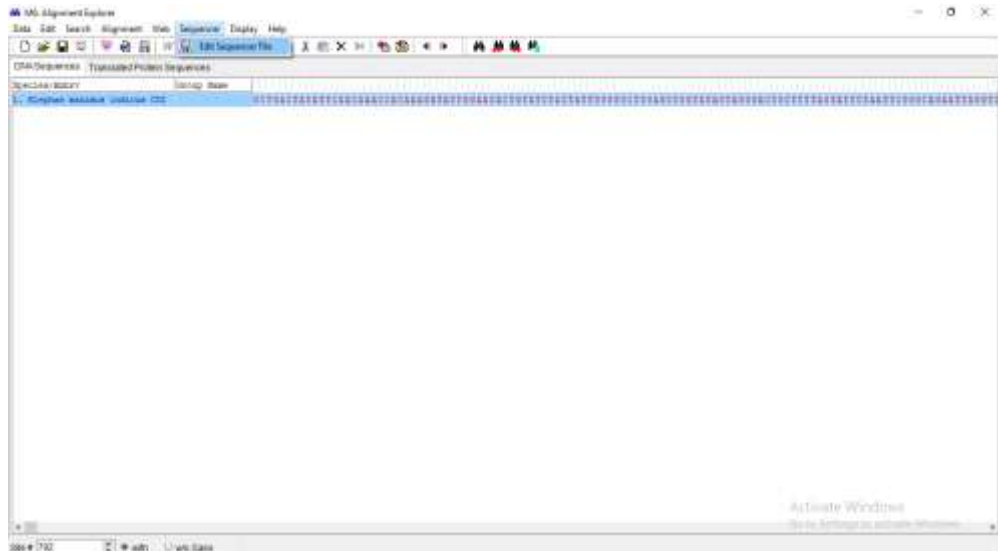
Gambar 6. Langkah ketiga merunut basa nukleotida

Tahap selanjutnya yaitu memilih opsi “Insert Sequence From File” pada menu Edit yang muncul pada jendela menu Alignment Explorer atau dapat juga menggunakan langkah pintas Ctrl+I (Gambar 7).



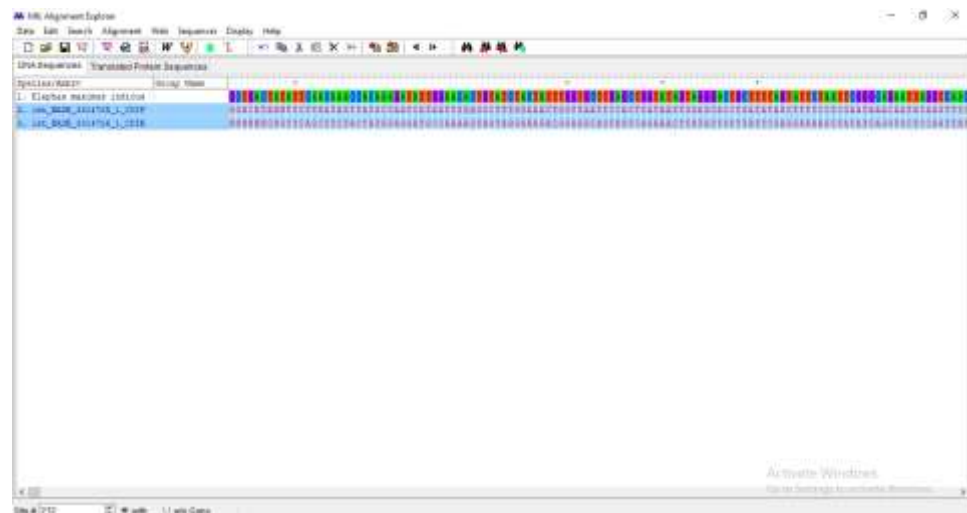
Gambar 7. Langkah keempat merunut basa nukleotida

Data dilakukan uji *basic local alignment search tools* (BLAST) untuk memastikan bahwa sekuens tersebut sudah sesuai dengan target gen yang dianalisis, dalam hal ini yaitu gen COI. Sekuens COI pembanding yang digunakan yaitu *Elephas maximus indicus*. Langkah selanjutnya yaitu memasukkan *file* BLAST *Elephas maximus indicus* COI dalam bentuk *fasta file* (.txt) (Gambar 8).



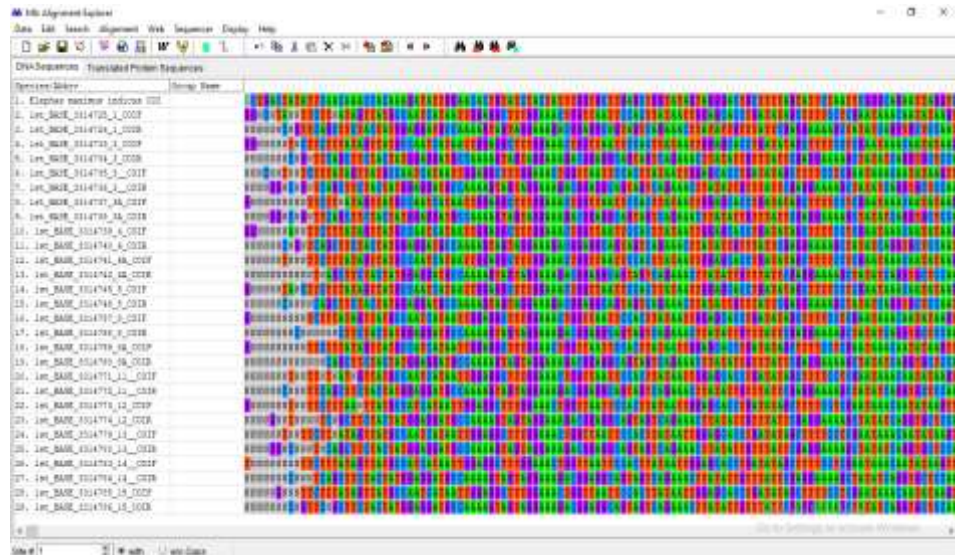
Gambar 8. Langkah kelima merunut basa nukleotida

Tahap selanjutnya yaitu memasukkan pasangan sekuens *forward* dan *reverse* gen COI gajah sumatera betina (*Elephas maximus sumatranus*) dari PLG, TNWK (Gambar 9).



Gambar 9. Langkah keenam merunut basa nukleotida

Tahap selanjutnya yaitu memasukkan 24 sekuens *forward* dan *reverse* gen COI gajah sumatera betina (*Elephas maximus sumatranus*) dari PLG, TNWK. Hasilnya akan muncul runutan basa nukleotida sampel pada layar aplikasi MEGA 6.0 (Gambar 10).



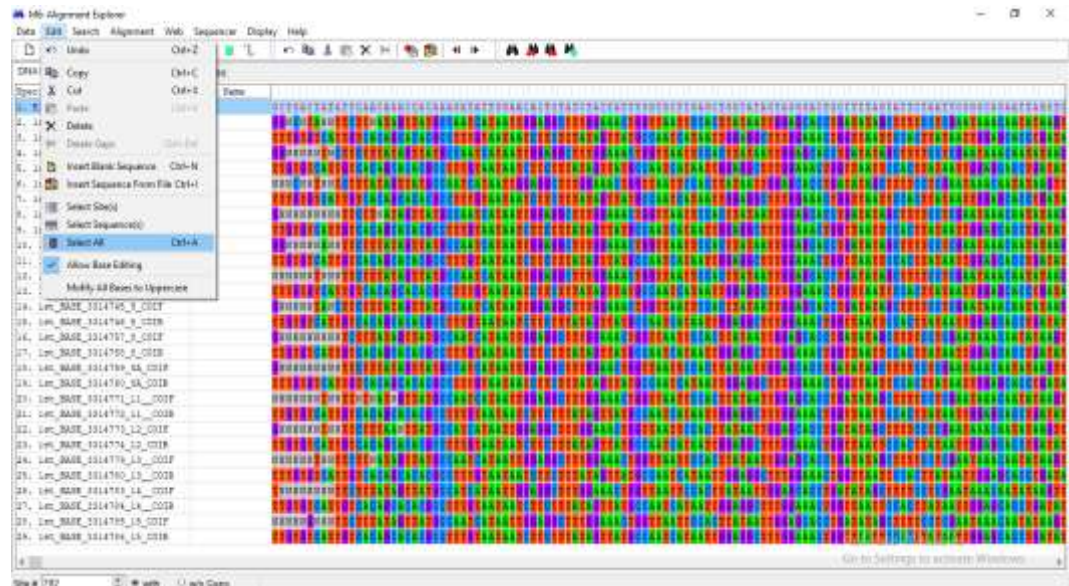
Gambar 10. Langkah ketujuh merunut basa nukleotida

Selanjutnya memilih baris sekuens *reverse* kemudian memilih opsi “Reverse Complement” pada menu Data, lalu melakukan hal yang sama untuk 23 baris sekuens *reverse* selanjutnya (Gambar 11).



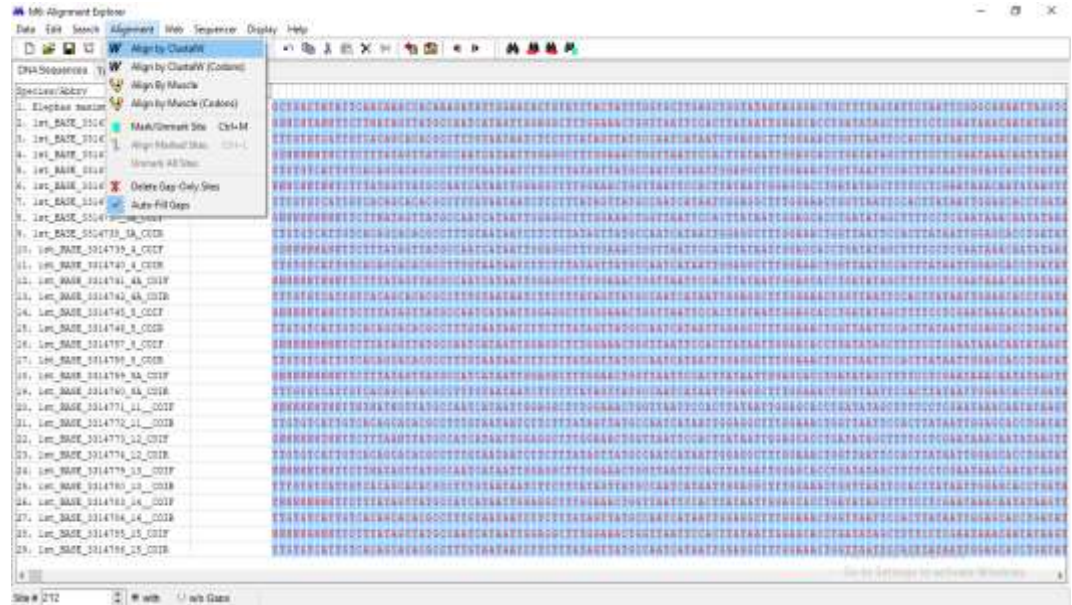
Gambar 11. Langkah kedelapan merunut basa nukleotida

Setelah dilakukan langkah *reverse complement* pada 24 sekuens *reverse*, kemudian memilih opsi “Select All” atau langkah pintas Ctrl+A (Gambar 12).



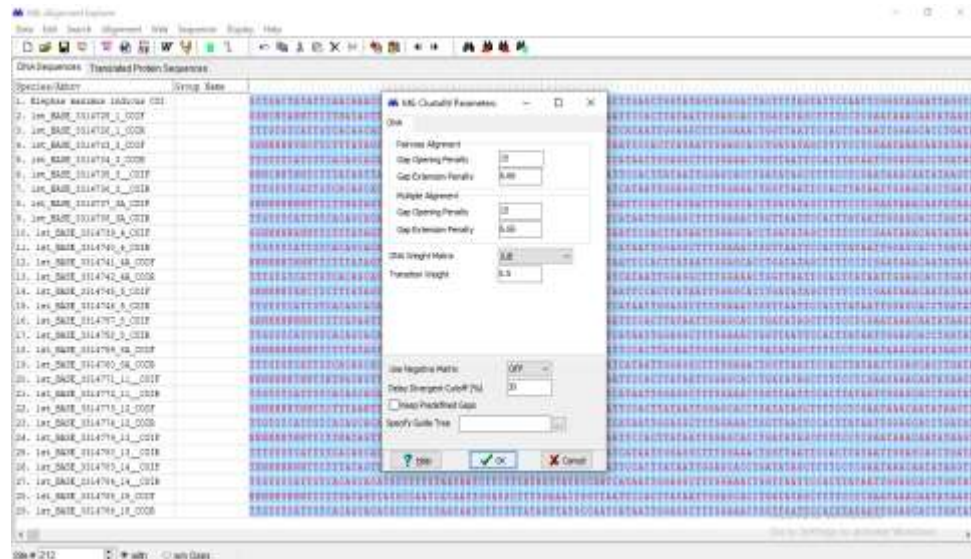
Gambar 12. Langkah kesembilan merunut basa nukleotida

Proses *assembly* hasil analisis sekuens menggunakan perangkat lunak *Bioedit Sequence Alignment Editor*. Data yang diperoleh setelah dilakukan *multiple alignment* dengan *clustal W* diubah ke bentuk *mas.file*. Analisis data *mas.file* akan menunjukkan nilai jarak genetik dan homologi. Langkah berikutnya yaitu memilih opsi “Align by ClustalW” pada menu Alignment (Gambar 13).



Gambar 13. Langkah kesepuluh merunut basa nukleotida

Selanjutnya memilih tombol “OK” pada jendela menu ClustalW Parameters yang muncul, tanpa mengubah pengaturan *default* (Gambar 14).

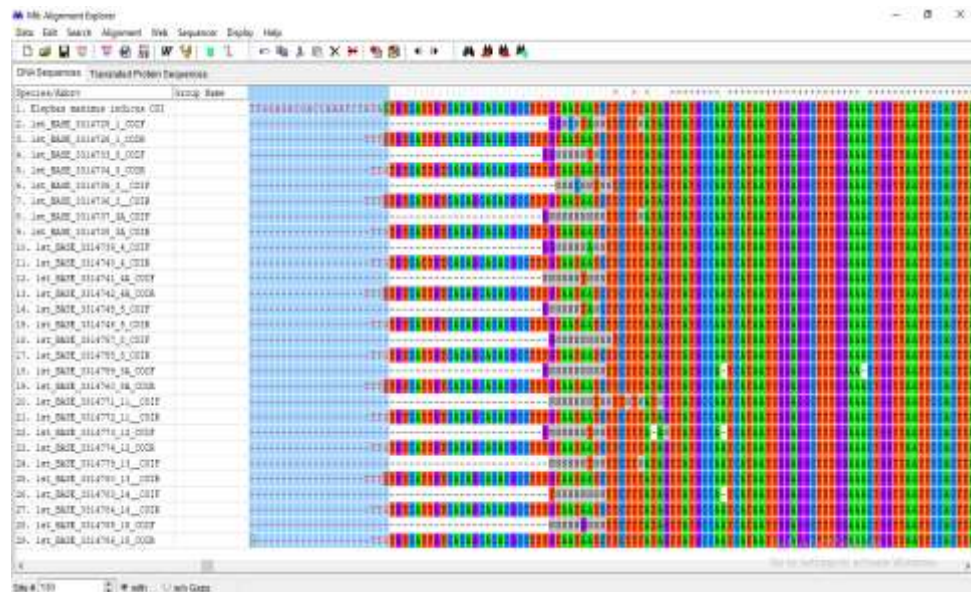


Gambar 14. Langkah kesebelas merunut basa nukleotida

Hasilnya akan muncul runutan basa nukleotida 24 pasang sekuens *forward* dan *reverse* gen COI gajah sumatera betina di PLG, TNWK.

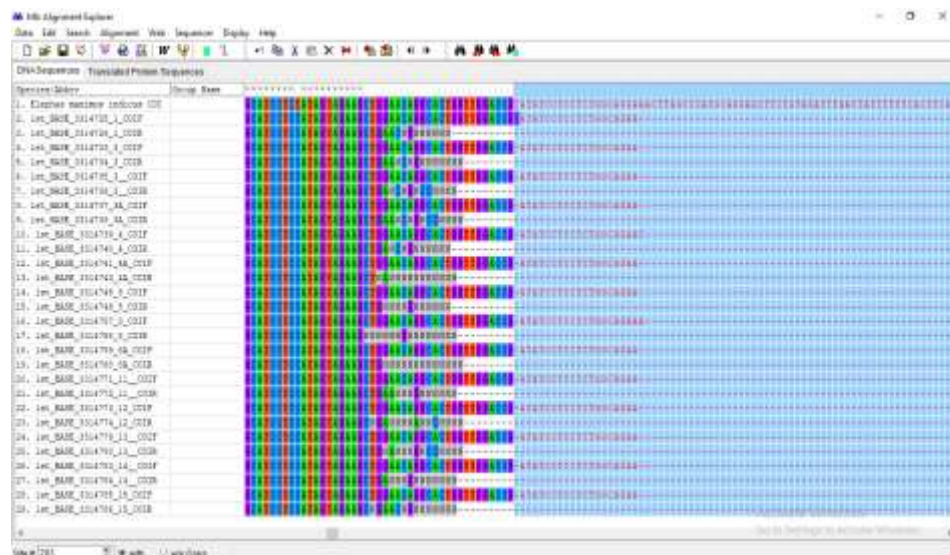
Langkah selanjutnya yaitu menghapus deretan kosong pada hail

runutan dari *site* pertama hingga *site* yang menunjukkan kesamaan basa nukleotida yang muncul dengan deret di bawahnya (Gambar 15).



Gambar 15. Langkah kedua belas merunut basa nukleotida

Selanjutnya, dilakukan hal yang sama pada ujung runutan basa nukleotida yaitu menghapus deretan kosong pada hail runutan dari *site* pertama hingga *site* yang menunjukkan kesamaan basa nukleotida yang muncul dengan deret di bawahnya (Gambar 16).



Gambar 16. Langkah ketigabelas merunut basa nukleotida

Setelah dilakukan penghapusan *site* kosong, selanjutnya mengisi seluruh *site* yang menunjukkan simbol “-“ atau “N” dengan basa nukleotida yang sama dengan deret atas dan bawahnya, setelah selesai runutan disimpan pada aplikasi Notepad dengan format “nama gajah > runutan basa nukleotida” (Gambar 17).



Gambar 17. Langkah keempatbelas merunut basa nukleotida

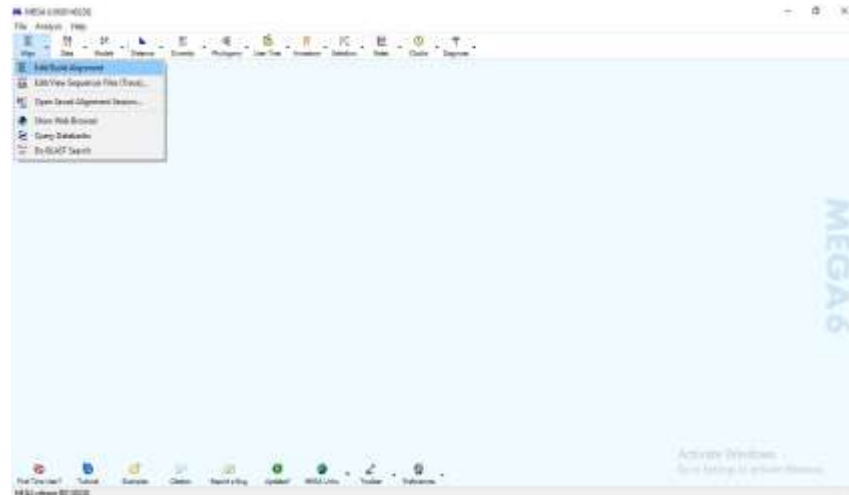
Hasilnya akan muncul hasil perunutan basa nukleotida 24 pasang sekuens *forward* dan *reverse* gen COI gajah sumatera betina di PLG, TNWK (Gambar 18).



Gambar 18. Langkah kelimabelas merunut basa nukleotida

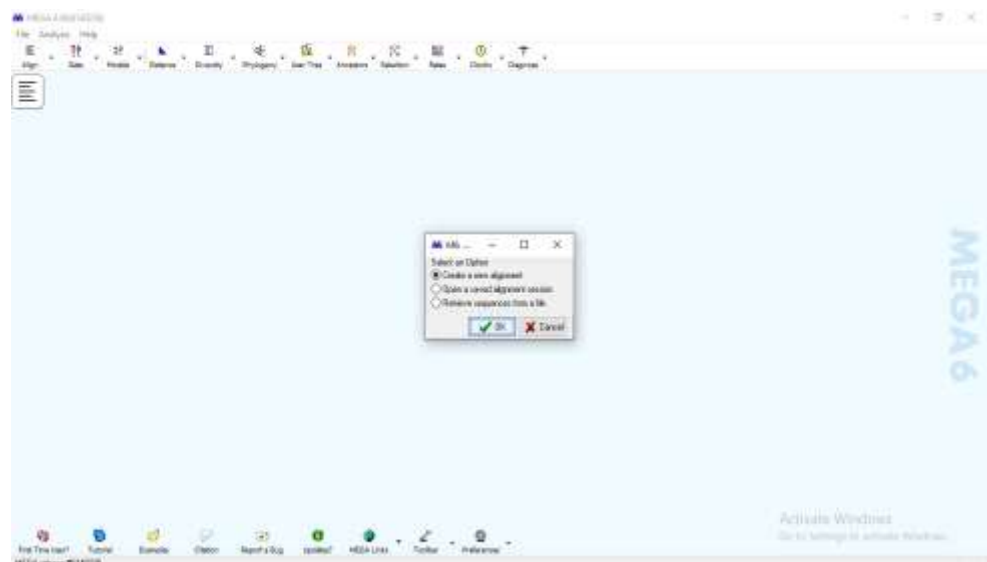
3.4.2. Melakukan analisis jarak genetik dan homologi

Pada tahapan ini dilakukan analisis jarak genetik dan homologi dari hasil runutan basa nukleotida 24 pasang sekuens *forward* dan *reverse* gen COI gajah sumatera betina di PLG, TNWK. Tahap pertama yaitu membuka aplikasi MEGA 6.0 lalu memilih opsi “Edit/Build Alignment” pada menu Align (Gambar 19).



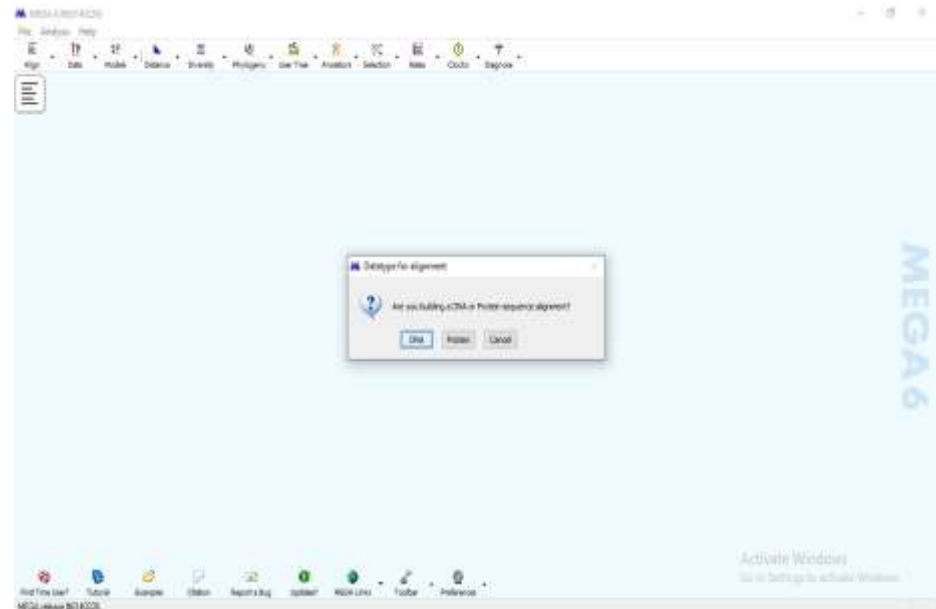
Gambar 19. Langkah pertama analisis jarak genetik

Selanjutnya yaitu memilih opsi “Create a new alignment” pada jendela menu Select an Option (Gambar 20).



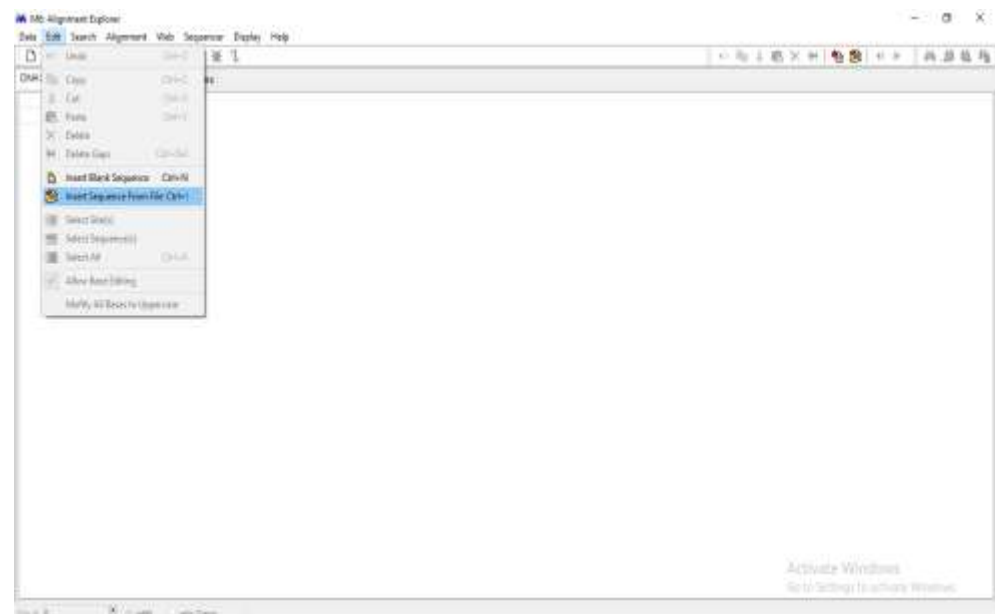
Gambar 20. Langkah kedua analisis jarak genetik

Kemudian memilih opsi “DNA” pada jendela menu yang muncul di layar yang menunjukkan jenis sequence alignment yang dikehendaki (Gambar 21).



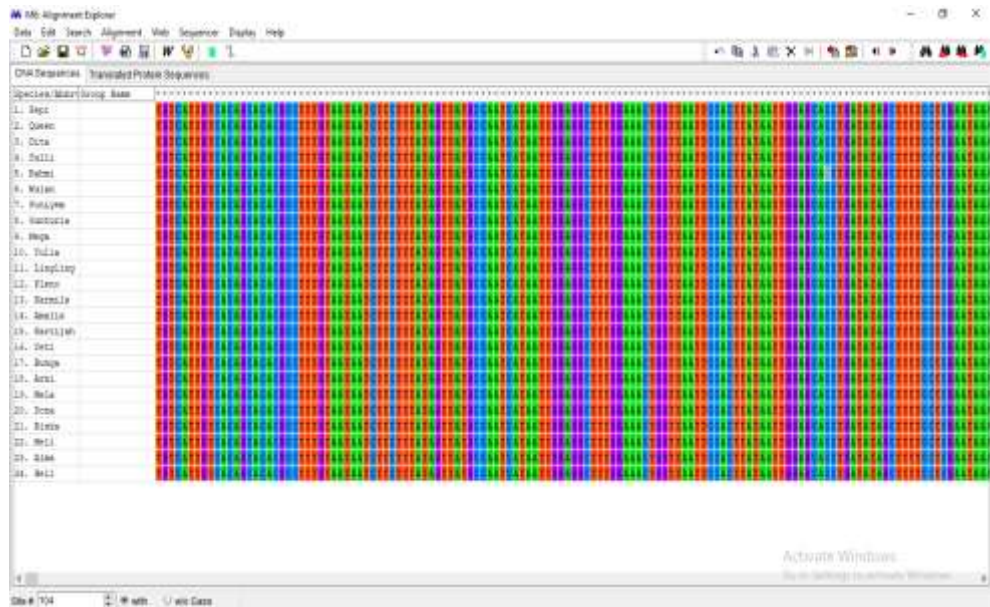
Gambar 21. Langkah ketiga analisis jarak genetik

Tahap selanjutnya yaitu memilih opsi “Insert Sequence From File” pada menu Edit atau dapat juga menggunakan langkah pintas Ctrl+I (Gambar 22).



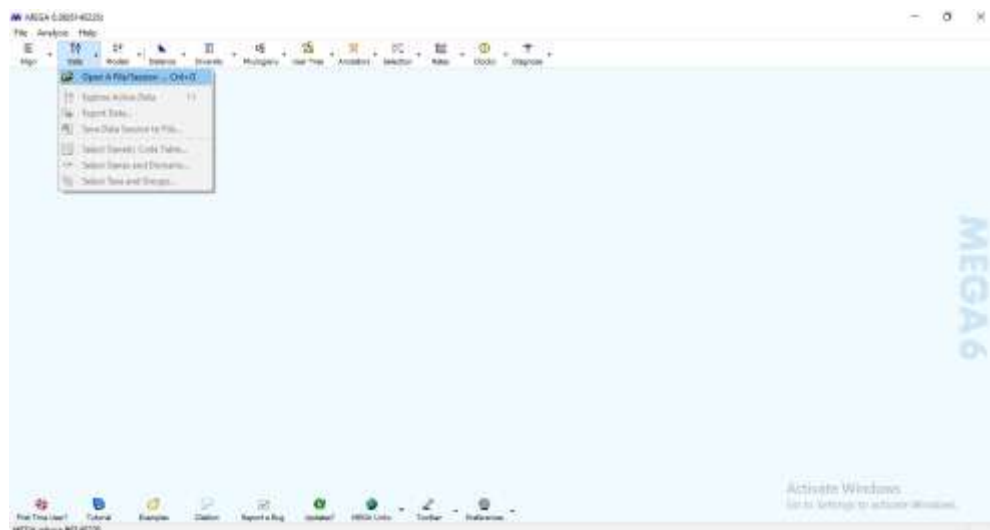
Gambar 22. Langkah keempat analisis jarak genetik

Hasil runutan yang telah disimpan pada aplikasi Notepad sebagai *fasta file* (.txt) kemudian dimasukkan, hasilnya akan muncul pada jendela Alignment Explorer (Gambar 23).



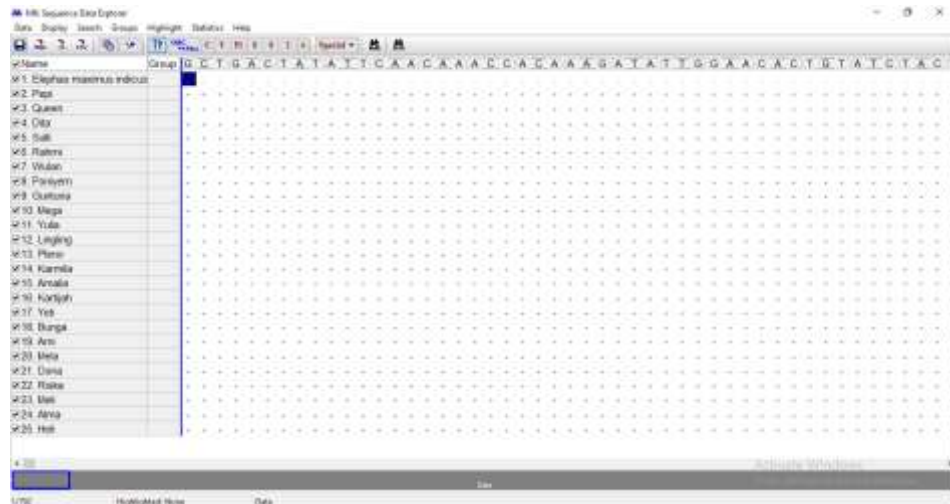
Gambar 23. Langkah kelima analisis jarak genetik

Tahap berikutnya, pada jendela utama aplikasi dipilih opsi “Open A File/Session” pada menu Data atau dapat juga menggunakan langkah pintas Ctrl+O, lalu memilih sesi *file* yang dirunut pada Alignment Explorer (Gambar 24).



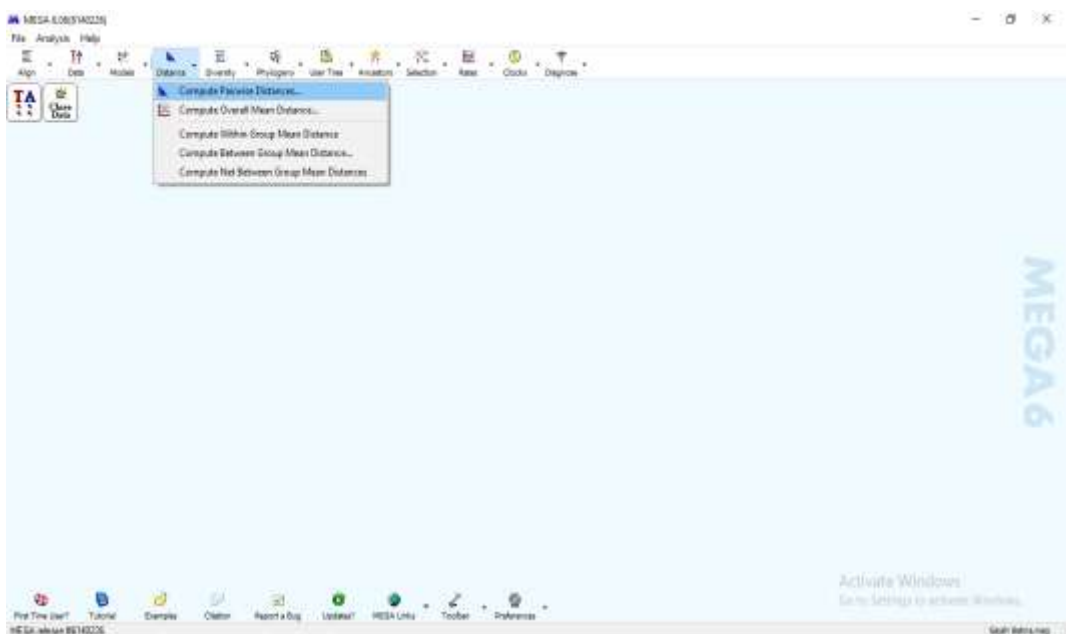
Gambar 24. Langkah keenam analisis jarak genetik

Hasilnya akan muncul runutan basa yang akan muncul pada jendela Sequence Data Explorer. Simbol titik menunjukkan kesamaan basa nukleotida antar individu (Gambar 25).



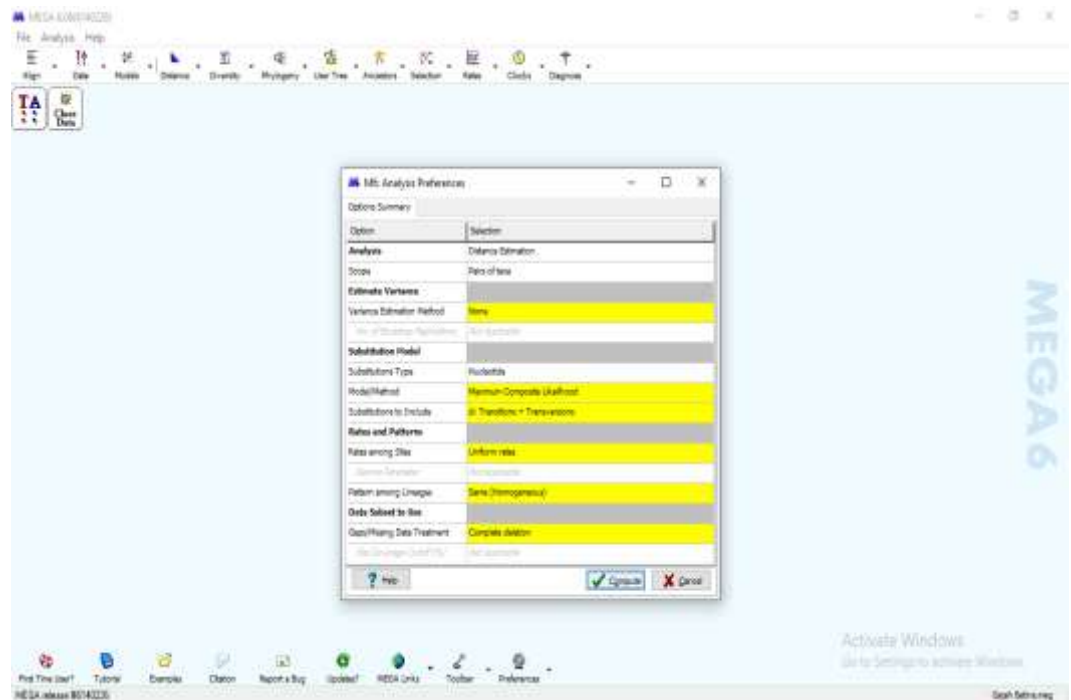
Gambar 25. Langkah ketujuh analisis jarak genetik

Tahap selanjutnya yaitu memilih opsi “Compute Pairwise Distance” pada menu Distance di jendela utama aplikasi (Gambar 26).



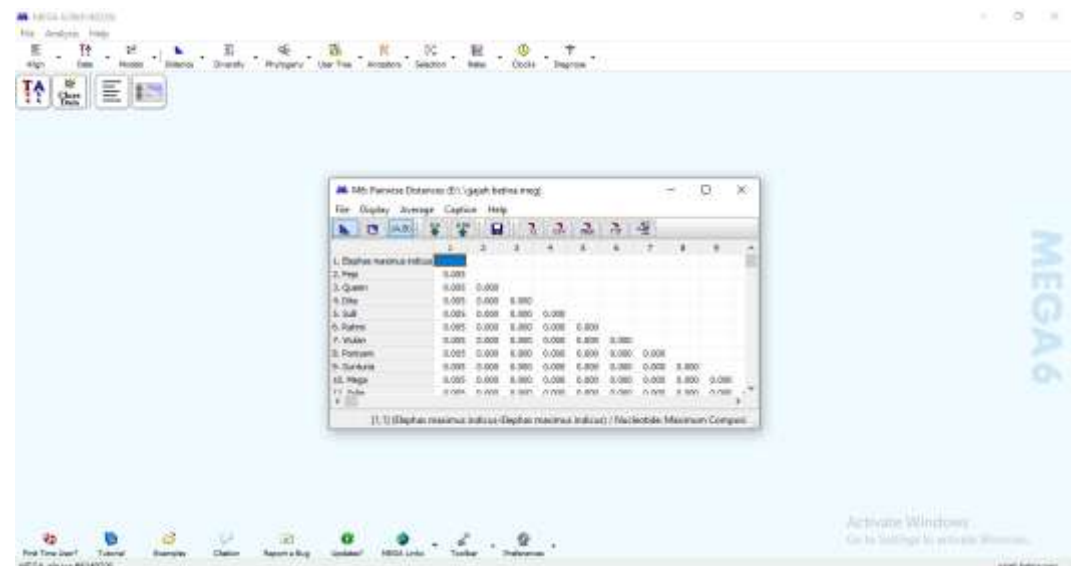
Gambar 26. Langkah kedelapan analisis jarak genetik

Kemudian memilih opsi “Compute” pada jendela Analysis Preferences tanpa mengubah peraturan default (Gambar 27).



Gambar 27. Langkah kesembilan analisis jarak genetik

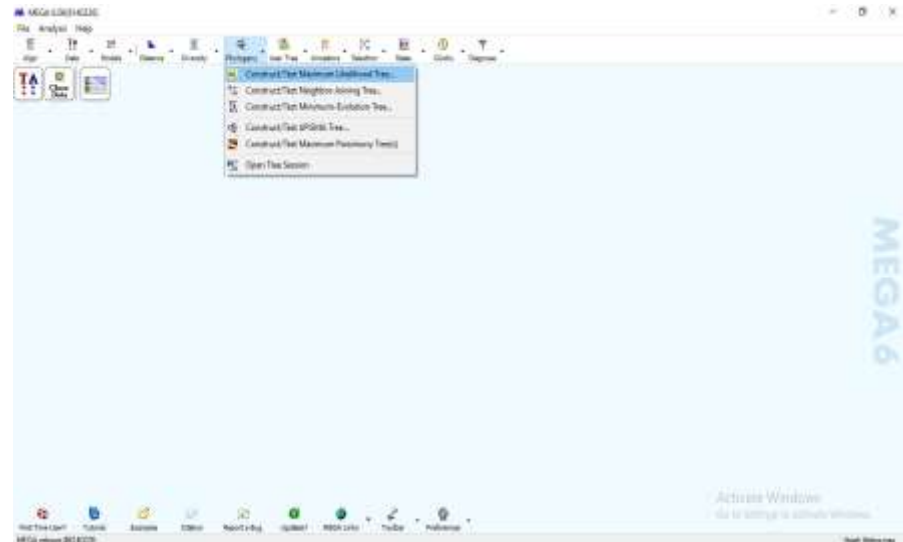
Hasilnya akan muncul jarak genetik seluruh sampel gajah sumatera betina dari PLG, TNWK (Gambar 28).



Gambar 28. Langkah kesepuluh analisis jarak genetik

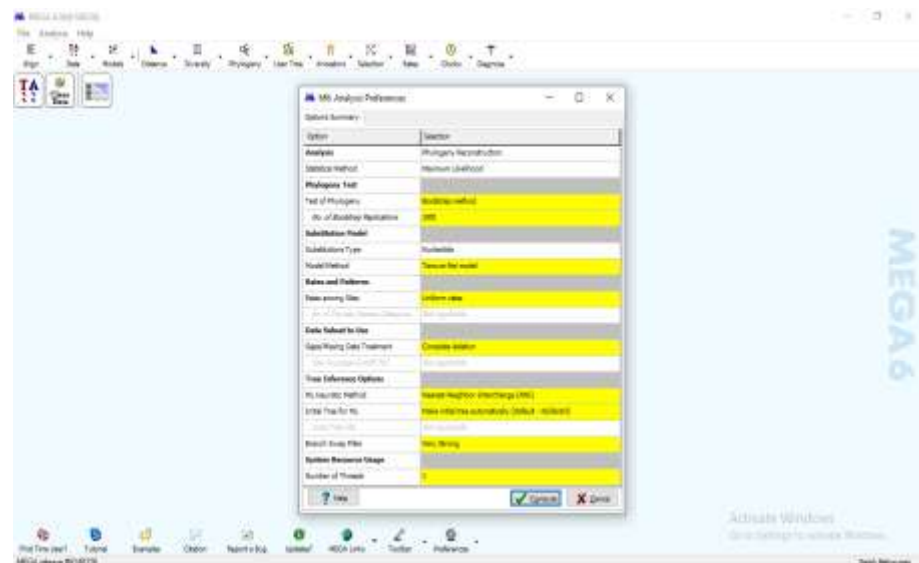
3.4.3 Membuat konstruksi pohon kekerabatan

Tahap awal yang harus dilakukan yaitu membuka aplikasi MEGA 6.0 dan memilih opsi “Construct/Test Maximum Likelihood Tree” pada menu Phylogeny (Gambar 29).



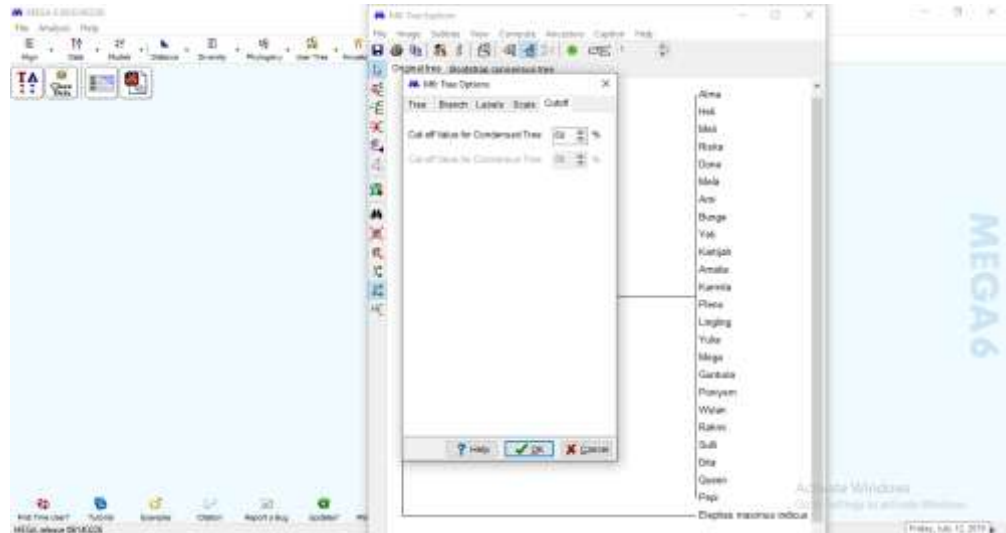
Gambar 29. Langkah pertama konstruksi pohon kekerabatan

Selanjutnya memilih opsi “Compute” pada jendela menu Analysis Preferences tanpa mengubah pengaturan default (Gambar 30).



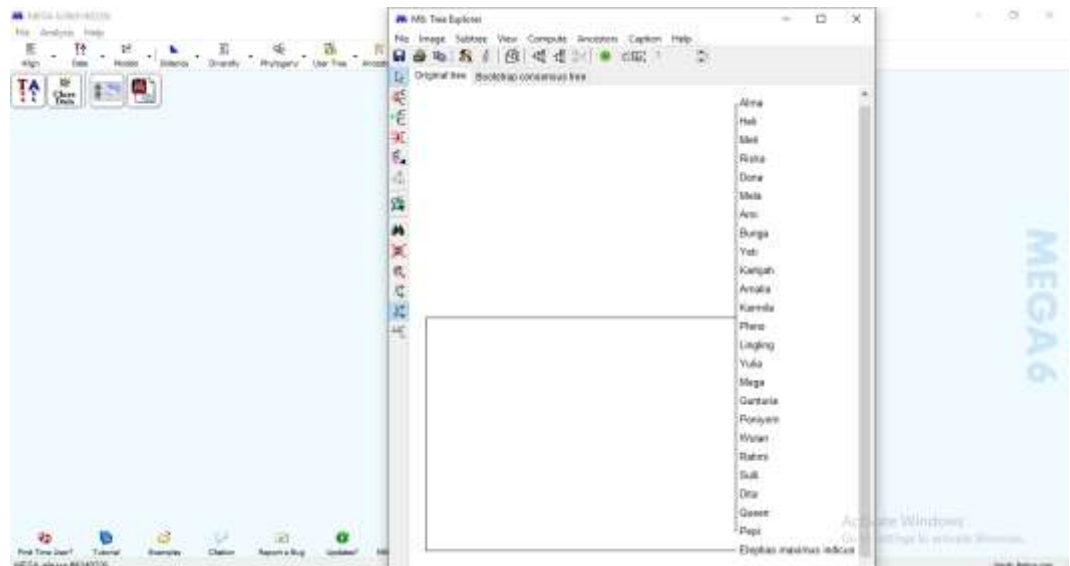
Gambar 30. Langkah kedua konstruksi pohon kekerabatan

Hasilnya akan muncul konstruksi pohon kekerabatan seluruh sampel gajah sumatera betina dari PLG, TNWK pada jendela Tree Explorer (Gambar 31).



Gambar 31. Langkah ketiga konstruksi pohon kekerabatan

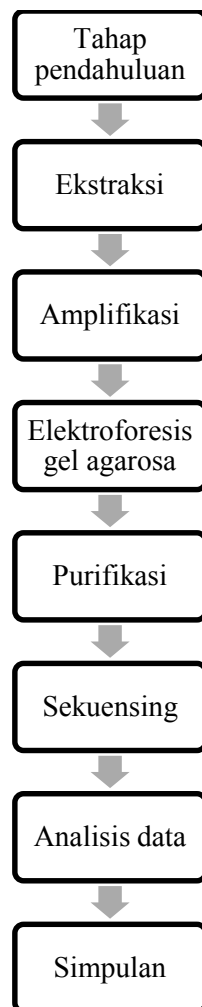
Hasil konstruksi pohon kekerabatan seluruh sampel gajah sumatera betina dari PLG, TNWK pada jendela Tree Explorer (Gambar 32).



Gambar 32. Langkah keempat konstruksi pohon kekerabatan

3.5. Diagram Alir Penelitian

Tahapan yang telah dilakukan dalam penelitian ini digambarkan dalam diagram alir (Gambar 33) sebagai berikut:



Gambar 33. Diagram alir identifikasi dan karakterisasi gen COI gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) betina dari Pusat Latihan Gajah, Taman Nasional Way Kambas

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Ketiadaan jarak genetik menunjukkan hubungan genetik yang dekat, sehingga dapat disimpulkan seluruh individu gajah sumatera betina di PLG, TNWK berasal dari satu kelompok populasi yang sama.
2. Jarak genetik dari 24 individu gajah sumatera betina dari PLG, TNWK yaitu 0,000 dengan nilai homologi 100%, diperkuat dengan konstruksi pohon kekerabatan.

5.2 Saran

Kondisi sampel sangat menentukan keberhasilan dari tahapan isolasi dan mempengaruhi kualitas isolat DNA yang akan dilakukan sekuensing sehingga teknik dan keterampilan dalam pengambilan sampel sangat diperlukan. Analisis paternitas perlu dilakukan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar individu gajah sumatera di PLG, TNWK.

DAFTAR PUSTAKA

- Albert J., Wahlberg J., Leitner T., Escamilla D., Uhlen M. 1994. Analysis of a rape case by direct sequencing of the human immunodeficiency virus type 1 pol and gag genes. *J. Virol* 68: 5018-24.
- Alikodra, H.S. 1990. *Pengelolaan Satwa Liar*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Anatar Universitas Ilmu Hayat Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Alikodra, H.S. 2002. *Pengelolaan Satwa Liar Jilid 1*. Penerbit IPB Press. Bogor.
- Alikodra, H.S. 2010. *Teknik Pengelolaan Satwa Liar dalam Rangka Mempertahankan Keanekaragaman Hayati Indonesia*. Penerbit IPB Press. Bogor.
- Applied Biosystems. 2012. DNA sequencing and fragment analysis by capillary electrophoresis. <http://www.appliedbiosystems.com>. Diakses pada 31 Oktober 2018.
- Brown, A.H.D dan B.S. Weir .1983. Measuring Variability in Plant Population. In. S.D. Tanksley and T. J. Orton (eds.). *Isozymes in plant Genetics and Breeding. Part A. Elsevier Science Publisers*. Amsterdam. 219.
- Convention on International Trade in Endangered Spesies [CITES]. 2000. *Elephas maximus sumatranus*. <http://www.cites.org/eng/results.php?cites=Elephas+maximus+sumatranus>. Diakses pada 31 Oktober 2018.
- Eggert, L.S., J.A. Eggert., dan D.S. Woodruff. 2003. Estimating population sizes for elusive animals: the forest elephants of Kakum National Park. Ghana. *Molecular Ecology*. 12. 1389-1402.
- Faatih, Mukhlissul. 2009. Isolasi dan digesti DNA kromosom. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. Vol. 10.
- Frankham, R.J.D. Ballou dan D.A Briscoe. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press. Cambridge.

- Febriyanto. 2011. Analisis Gap Harapan Dan Kinerja Berdasarkan Persepsi Pengunjung Taman Nasional Way Kambas Di Lampung Timur. *Jurnal Manajemen dan Bisnis*. 2 (1). 53-68.
- Gumilang, H., Tb. Unu N. dan Abdul R.R. 2015. Pengembangan Kegiatan Ekowisata di Taman Nasional Way Kambas Provinsi Lampung. *Journal Nusa Sylva Vol. 13 (2)*:19-32.
- Hajibabaei, M.G., Gregory A.C.S., Elizabeth L.C. dan Paul D.N.H. 2007. Design and Applicability of DNA Arrays and DNA Barcodes in Biodiversity Monitoring. *Bio Med Centre Biol* 5:24-30.
- Hebert P.D.N., Ratnasingham S. dan De Waard J.R. 2003. Barcoding Animal Life: Cytochrome C Oxidase Subunit 1 Divergences Among Closely Related Species. *Proc R Soc* 270: 96-99.
- Hudiyono, M.Z. 2008. *Sekilas Informasi Taman Nasional Way Kambas*. Balai Taman Nasional Way Kambas. Lampung Timur.
- Ishwaran, N. 1993. Ecology of the Asian elephant in lowland dry zone habitat of the Mahaweli River Basin. Sri Lanka. *Journal of Tropical Ecology*, 9:169-182.
- IUCN. 2012. IUCN Red List Of Threatened Species. Version 2013.2. www.iucnredlist.org. Diakses pada 31 Oktober 2018.
- Kementerian Kehutanan. 2011. Balai Konservasi Sumber Daya Alam Sumatera Selatan: *Laporan Tahunan 2011*. Brigade Pengendalian Kebakaran Hutan Manggala Agni Sumatera Selatan.
- Khosravinia, H., H.N.N. Murthy, D.T. Parasad, dan N. Piraniy. 2007. Optimizing factors influencing dna extraction from fresh whole avian blood. *African Journal of Biotechnology*. 6 (4).
- Kumar, M.A., D. Mudappa, dan T.R.S. Raman. 2010. Asian elephant (*Elephas maximus*) habitat use and ranging in fragmented rainforest and plantations in the Anamalia Hills, India. *Tropic Conserv Sci* 3
- Lekagul, B dan J.A. McNeely, 1977. *Mammals of Thailand*. Sahakarnbhat Co. Bangkok.
- Lynch M dan Jarrel P.E. 1993. A method for calibrating molecular clocks and its application to animal mitochondrial DNA. *Genetics* 135: 1197-1208.
- Mannheim. 2006. *PCR Applications Manual 3 rd edition*. Roche Applied Science 68298 Mannheim. Germany. 9-15.
- Mannheim. 2006. *PCR Applications Manual 3 rd edition*. Roche Applied Science

68298 Mannheim. Germany. 9-15.

- Masy'ud, B. 1992. Identifikasi Sifat Genetik Satwa Dilindungi: Sisi Penting Kegiatan Konservasi Keanekaragaman Hayati. *Media Konservasi* 3(4) : 41-46.
- McKay, G.M. 1973. Behavior and ecology of the Asiatic elephant in southeastern Ceylon. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 125: 1-113.
- Mustika W., Yarmaidi., dan Lusi I.N. 2014. Potensi Wisata Taman Nasional Way Kambas Kecamatan Labuhan Ratu Kabupaten Lampung Timur. *Jurnal Penelitian Geografi*. 2 (3).4.
- Nei, M.. 1977. F-Statistic and Analysis of Gen Diversity in Subdivided Populations. *Ann. Hum. Genet.* 41.
- Nuri D.Y., I Gede S. dan Srikayati W. 2013. Tingkah Laku Harian Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) di Bali Safari and Marine Park, Gianyar. *Indonesia Medicus Veterinus* 2 (4): 461-468.
- Palumbi S.R. 1996. *Nucleic Acids II: The Polymerase Chain Reaction*. Molecular Systematic. Ed. ke-2. Edited by Hillis D.M., Moritz C., Mable B.K. Sinauer. Massachusetts.
- Pemerintah Kabupaten Lampung Timur. 2017. Letak Geografis. <http://lampungtimurkab.go.id/informasi/geografis>. Diakses pada 10 Juli 2019.
- Perrera, B.M.A.O. 2009. The human elephant conflict: A review of current status and mitigation methods. *Gajah* 30.
- Priyambodo dan Rustiati, E.L. 2017. Comparative Cytogenetic Study on Male and Female Captive Sumatran Elephant in Elephant Training Center, Way Kambas National Park. *International Journal Tropical Vet. Biomedics* 3 (1): 4-6.
- Pratiwi, D.N. 2018. Uji Komparasi Hasil Ekstraksi Sampel Darah Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Jantan di Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas Menggunakan Metode Sederhana dan Molekuler (skripsi). Jurusan Biologi, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Lampung.
- Richardson, B. J., P. R. Baverstock and M. Adams. 1986. *Allozyme Electrophoresis. A Handbook for Animal Systematics and Population Studies*. Academic Press, Inc. San Diego. pp. 410.
- Roberts, John .A.F. dan Marcus A. Pembrey. 1995. *Pengantar genetika kedokteran*. EGC. Jakarta.

- Rood, E., Ganie, A.A., dan Nijman, V. 2010. Using presence-only modeling to predict Asian elephant habitat use in tropical forest landscape implications for conservation. *Divers Distrib* 16.
- Rudin, Norah dan Keith Inman. 2002. *An introduction to forensic DNA analysis*, 2nd ed. CRC Press. Boca Raton.
- Rustiati, E. L., Priyambodo dan Nuning N. 2017. *Konstruksi Pita Filogenetis di Pusat Latihan Gajah, Taman Nasional Way Kambas Berdasarkan Analisis Sitologis dan Molekuler*. (Laporan Penelitian Produk Terapan). Universitas Lampung. Lampung.
- Rustiati, E. L., Priyambodo dan Yanti Y. 2018. *Konstruksi Pita Filogenetis di Pusat Latihan Gajah, Taman Nasional Way Kambas Berdasarkan Analisis Sitologis dan Molekuler*. (Laporan Penelitian Produk Terapan). Universitas Lampung. Lampung.
- Rustiati, E. L., Priyambodo dan Yanti Y. 2019. *Konstruksi Pita Filogenetis di Pusat Latihan Gajah, Taman Nasional Way Kambas Berdasarkan Analisis Sitologis dan Molekuler*. (Laporan Penelitian Produk Terapan). Universitas Lampung. Lampung.
- Rustiati, E.L., Priyambodo, Siti A., Dedi C., Diah E.A., Elizabeth D.K., Eko A.S., Liza A., Nuning N. dan Enny S. 2018. DNA Isolation on Captive Sumatran Elephant in Elephant Training Center, Way Kambas National Park: A First Step towards Its ID Card. *Int. J. Trop. Vet. Biomed. Res.* Vol. 3 (1) : 1-3.
- Soehartono, T., Herry, D.S., Arnold, R.S., Donny, G., Elisabet, M.P., Wahdi, A., Nurchalis, F., dan Christopher, F. 2007. *Strategi dan Rencana Aksi Konservasi Gajah Sumatera dan Gajah Kalimantan 2007-2017*. Direktorat Jenderal Perlindungan Hutan dan Konservasi Alam. Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Shoshani, J. dan J.F. Eisenberg, 1982. *Elephas maximus*. The American Society of Mammalogists.
- Srihanto, E.A. 2013. Analisis Genetik Gen Hemaglutinin Virus Avian Influenza Subtipe H5N1 Isolat Lampung Tahun 2008-2013. (Tesis). S2 Sain Veteriner UGM. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Sukumar, R.. 1989. *The Asian Elephant: Ecology and Management*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Sukumar, R.. 2003. *The Living Elephants*. Oxford University Press. Oxford.

- Sulandari S. dan Zein M.S.A. 2012. Mitochondrial DNA Variation of The Sumatran Elephant Populations in Sumatra, Indonesia. *Biotrop* 19: 92-102.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA 4: Molecular evolutionary genetics analysis software version 4. *J Mol Biol Evol* 24: 1596-1599.
- Tarmizi. 2008. Pemilihan Habitat Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) di Cagar Alam Jantho Kabupaten Aceh Besar. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- Vidya T.N.C. dan Sukumar R. 2005. Social Organization of The Asian Elephant (*Elephas maximus*) in Southern India Inferred from Microsatelite DNA. *J. Ethology* 23: 205-210.