

**KAJIAN DNA BERBASIS KOTORAN GAJAH SUMATERA (*Elephas
maximus sumatranus*) LIAR DI PERBATASAN TAMAN NASIONAL WAY
KAMBAS-DESA LABUHAN RATU VII BERDASARKAN GEN COI**

(Skripsi)

Oleh

**Alvin Wiwiet Susanto
NPM 1717021081**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2021**

ABSTRAK

KAJIAN DNA BERBASIS KOTORAN GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus sumatranus*) LIAR DI PERBATASAN TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS-DESA LABUHAN RATU VII BERDASARKAN GEN COI

Oleh

Alvin Wiwiet Susanto

Gajah sumatera merupakan salah satu mamalia yang tergolong dalam Order Proboscidea. Saat ini, keadaan gajah sumatera sudah kritis akibat perburuan liar untuk perdagangan gading, degradasi hutan, alih fungsi lahan, dan konflik gajah-manusia (KGM). Konflik gajah-manusia terjadi di perbatasan kawasan taman nasional dengan permukiman, seperti di perbatasan Taman Nasional Way Kambas (TNWK)-Desa Labuhan Ratu VII dan menyebabkan kerugian ekonomi bagi masyarakat serta mengancam keberadaan gajah sumatera. Oleh karena itu, upaya perlindungan harus dilakukan, salah satunya dengan mengumpulkan informasi terkait keragaman genetik sebagai acuan untuk mencegah terjadinya kawin silang dalam yang cenderung terjadi pada satwa dengan populasi kecil. Feses merupakan tanda tidak langsung yang menandakan adanya aktivitas gajah sumatera liar di perbatasan kawasan TNWK-Desa Labuhan Ratu VII. Adanya feses yang merupakan sumber materi genetik mempermudah pengumpulan data genetik secara non invasif. Gen *cytochrome oxidase subunit 1* (COI) sering dijadikan sebagai *barcode* dan dapat menjadi tanda variasi genetik setiap hewan hingga ke tingkat spesies. Sampel kotoran diambil di perbatasan TNWK-Desa Labuhan Ratu VII dan informasinya diperoleh dari tim MMP BTNWK berkoordinasi dengan tim TFCA Sumatera Konsorsium Unila-ALeRT. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil analisis *fecal DNA* dan tingkat keragaman genetik gajah sumatera liar. Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung melalui beberapa tahapan, yaitu isolasi DNA, amplifikasi DNA, elektroforesis dan visualisasi, sekuensing serta analisis hasil sekuensing dengan perangkat lunak *Molecular Evolution Genetic Analysis* (MEGA X). Hasil penelitian menyatakan bahwa keempat sampel feses berasal dari gajah sumatera. Dua sampel memiliki jarak genetik 0,000 dan homologi 100%, menunjukkan tingkat keragaman genetik yang rendah.

Kata kunci: gajah sumatera liar, gen COI, feses, TNWK, Desa Labuhan Ratu VII.

ABSTRACT

FECAL-BASED DNA STUDY ON WILD SUMATRAN ELEPHANT (*Elephas maximus sumatranus*) IN WAY KAMBAS NATIONAL PARK- LABUHAN RATU VII BORDERLINE BASED ON COI GENE

By

Alvin Wiwiet Susanto

Sumatran elephant, mammal classified as Proboscidea, is critically endangered due to illegal hunting for ivory trade, forest degradation, land use, and the ongoing human-elephant conflict. Human-elephant conflict occurs in the borderline between national park and settlement area, such as Way Kambas National Park (WKNP) and Labuhan Ratu VII and causes economical loss while endangering sumatran elephant. Hence, protection towards sumatran elephant must be done. One of them is done by collecting data regarding the genetic diversity as reference to avoid inbreeding which happens mostly in small populations. Feces is an indirect sign of wild sumatran elephant activity in WKNP-Labuhan Ratu VII borderline. The existence of feces as source of genetic material facilitates non invasive genetic data collection. Cytochrome oxidase sub unit I (COI) gene has been widely used as barcode and can be genetic marker for animals up to species level. Fecal samples were taken in WKNP-Labuhan Ratu VII borderline and the information was obtained from MMP-BTNWK coordinating with TFCA Sumatera Unila-ALeRT Consortium. This research aims to discover fecal DNA analysis result and wild sumatran elephant genetic diversity. The research has been done in Lampung Disease Investigation Center through multiple steps, namely DNA isolation, DNA amplification, electrophoresis and visualization, sequencing, and analysis of sequencing result using Molecular Evolutionary Genetic Analysis (MEGA X). The results of the study states that all fecal samples originated from sumatran elephant. Genetic distance of 0.000 and homology 100% from two fecal samples shows low level of genetic diversity.

Key words: wild sumatran elephant, COI gene, feces, WKNP, Labuhan Ratu VII

**KAJIAN DNA BERBASIS KOTORAN GAJAH SUMATERA (*Elephas
maximus sumatranus*) LIAR DI PERBATASAN TAMAN NASIONAL WAY
KAMBAS-DESA LABUHAN RATU VII BERDASARKAN GEN COI**

Oleh

Alvin Wiwiet Susanto

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2021**

Judul Skripsi : **KAJIAN DNA BERBASIS KOTORAN
GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus
sumatranus*) LIAR DI PERBATASAN
TAMAN NASIONAL WAY KAMBAS-DESA
LABUHAN RATU VII BERDASARKAN
GEN COI**

Nama Mahasiswa : **Alvin Wiwiet Susanto**
Nomor Pokok Mahasiswa : 1717021081
Jurusan/Program Studi : Biologi/S1 Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I



Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc.
NIP 19631014 198902 2 001

Pembimbing II



Priyambodo, S.Pd., M.Sc.
NIP 19861114 201504 1 003

2. Ketua Jurusan Biologi

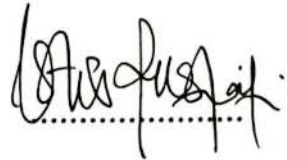


Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP 19610112 199103 1 002

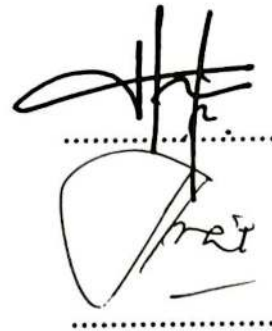
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



Sekretaris : **Priyambodo, S.Pd., M.Sc.**



Anggota : **drh. Eko Agus Srihanto, M.Sc.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eri Satripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP. 19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **9 Agustus 2021**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alvin Wiwiet Susanto
NPM : 1717021081
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul

“Kajian DNA Berbasis Kotoran Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Liar di Perbatasan Taman Nasional Way Kambas-Desa Labuhan Ratu VII Berdasarkan Gen COI”

Baik gagasan dan pembahasannya adalah karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik baik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandarlampung, 10 November 2021

Yang menyatakan,



Alvin Wiwiet Susanto
NPM. 1717021081

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandarlampung pada 2 Juli 1999 dan merupakan anak tunggal dari pasangan Bapak Widodo dan Ibu Etty Ning Laksmi Hendrayanti.

Penulis memulai pendidikan pertama di Taman Kanak-Kanak Tunas Mekar Indonesia pada tahun 2003 dan lulus pada tahun 2005. Pendidikan dilanjutkan di Sekolah Dasar Swasta Tunas Mekar Indonesia yang dimulai pada tahun 2005 hingga tahun 2011. Kemudian, pendidikan dilanjutkan lagi pada tingkat Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPN 2 Bandarlampung pada tahun 2011 – 2014 dan tingkat Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 2 Bandarlampung pada tahun 2014 – 2017. Penulis resmi diterima sebagai mahasiswa di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada tahun 2017 melalui jalur Seleksi Masuk Bersama Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan di Jurusan Biologi, penulis pernah menjadi asisten responsi mata kuliah Bahasa Inggris dan asisten praktikum pada mata kuliah Ekologi, Biokonservasi, Ekologi Hidupan Liar, dan Ekologi Hewan. Pada tahun

2018, penulis melaksanakan Karya Wisata Ilmiah (KWI) di Desa Gunungrejo, Pesawaran. Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung pada tahun 2020 dengan judul **Identifikasi Herpesviridae pada Sapi (*Bos taurus*) Dengan Metode Molekuler di Balai Veteriner Lampung** dan telah menulis artikel di Jurnal Penelitian Sains dengan judul **Herpesviridae Identification Method on Ruminants through Molecular Method in Lampung Disease Investigation Center**. Penulis juga pernah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata selama 40 hari pada Juli – Agustus 2020 di Desa Marga Agung, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan. Selain mengikuti kegiatan akademik, penulis juga pernah menjadi *Master of Ceremony* (MC) pada kegiatan *International Conference on Applied Sciences, Mathematics, and Informatics* 2018 dan 2020, panitia pada kegiatan pertukaran pelajar AirVenture! 2018: Airlangga Adventure yang diselenggarakan oleh Universitas Airlangga dan Universitas Lampung pada tahun 2018, serta panitia pada kegiatan pertukaran pelajar *University of Malaya* ke Universitas Lampung pada tahun 2019. Penulis pernah berkontribusi dalam Pekan Konservasi Sumber Daya Alam (PKSDA), acara tahunan Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO), sebagai Koordinator Olimpiade Biologi. Penulis juga aktif dalam Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) *Biology English Club* (BEC) sebagai ketua umum periode 2020.

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan mengucapkan syukur kepada Allah SWT, ku persembahkan hasil karya kecilku dengan penuh ketulusan kepada:

Ayah dan ibuku yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, serta doa di setiap langkahku.

Bapak dan Ibu dosen pembimbing yang telah mendidik dengan sabar untuk menjadikanku insan yang lebih baik

Sahabat-sahabat seperjuangan yang menemani dan mendukungku setiap saat

Semoga karya kecilku ini dapat memberikan manfaat kepada dunia Konservasi

Salam Lestari

Almamater Tercinta, Universitas Lampung

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”
(Q.S. Al-Baqarah: 286)

“Why do we fall? So that we can learn to pick ourselves up.”
Alfred Pennyworth

“You have no idea how powerful the truth can be.”
Oliver Queen

“There’s only one thing I know about life. I know some things happen by chance
and some things happen because we make them happen.”
Barry Allen

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena rahmat dan karunianya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai syarat meraih gelar Sarjana Sains.

Skripsi dengan judul **“Kajian DNA Berbasis Kotoran Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Liar di Perbatasan Taman Nasional Way Kambas-Desa Labuhan Ratu VII Berdasarkan Gen COI”** yang telah dilaksanakan bulan Januari-Juli 2021, bekerja sama dengan Desa Labuhan Ratu VII, TFCA Sumatera Konsorsium Unila-ALeRT, Balai Taman Nasional Way Kambas (BTNWK), Masyarakat Mitra Polisi Kehutanan Balai Taman Nasional Way Kambas (MMP BTNWK), dan Balai Veteriner Lampung.

Penulis menyadari banyak pihak yang turut membantuk dalam pelaksanaan penelitian sampai dengan penyusunan skripsi. Dengan terselesaikannya skripsi ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Orangtua tercinta, Bapak Widodo dan Ibu Etty Ning Laksmi Hendrayanti, yang telah memberikan perhatian, kasih sayang, doa, dan dukungan.
2. Ibu Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc., selaku Pembimbing I, yang dengan sabar telah membimbing dan memberi banyak pengetahuan selama proses

penelitian dan penulisan skripsi. Terima kasih telah menjadi lebih dari sekadar pembimbing skripsi, melainkan sebagai orangtua dan guru.

3. Bapak Priyambodo, M.Sc., selaku Pembimbing II, yang dengan sabar membimbing, memberi perhatian, membagi ilmu kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih telah menjadi lebih dari sekadar pembimbing skripsi, melainkan sebagai orangtua dan guru.
4. Bapak drh. Eko Agus Srihanto, M.Sc., selaku Penguji, yang telah memberikan arahan, solusi, dan bimbingan kepada penulis, baik saat penelitian maupun penulisan skripsi. Terima kasih telah menjadi lebih sekadar penguji, melainkan sebagai orangtua dan guru.
5. Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
6. Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lampung.
7. Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
8. Prof. Dr. Karomani, M.Si. selaku Rektor Universitas Lampung.
9. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M.Biomed. selaku pembimbing akademik.
10. Bapak dan Ibu dosen serta staff Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
11. Bapak Kuswandono, S.Hut., M.P. selaku Kepala Balai Taman Nasional Way Kambas.
12. Bapak Amri, S.H., M.Hum. selaku Plt. Kepala Balai Taman Nasional Way Kambas Periode 2020.

13. Bapak Sumarno selaku Kepala Desa Labuhan Ratu VII.
14. Tim TFCA Sumatera Konsorsium Unila-ALeRT yang telah membantu penulis dalam proses pengambilan sampel.
15. Bapak Sunandar, Bapak Kasturi, Bapak Suwahlor yang telah memberikan informasi dan pendampingan selama proses pengambilan sampel.
16. Bapak Sukatmoko, S.P. yang telah membantu dalam proses penyimpanan sampel sebelum diangkut ke Balai Veteriner Lampung.
17. Bapak drh. Hasan Abdullah Sanyata selaku Kepala Balai Veteriner Lampung.
18. Bapak drh. Nasirudin, M.Sc. selaku Kepala Balai Veteriner Lampung Periode 2018 – 2021 atas fasilitas laboratorium selama penulis melaksanakan penelitian.
19. Ibu drh. Enny Saswiyanti, M.Si., drh. Fransiska Panasea Anggy, Bapak Firwantoni, Ibu Romaya Wulan Suciningtyas, A.Md., dan Ibu Yuni Tinasari, A.Md. atas bantuan dan arahannya selama penelitian di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung.
20. Dian Neli Pratiwi, S.Si., sebagai *partner* penelitian yang telah membantu selama masa penelitian dan memberikan saran dalam penulisan skripsi.
21. Chicka Refina Rahma Putri, S.Si., Elsa Virnarenata, S.Si., dan Yeyen Kurniawati, S.Si. yang telah memberikan masukan dan saran dalam penulisan skripsi.
22. Kepada teman seperjuangan Widi Aryani, M Ramdan Syahputra, Sahira Josy Arifannisa, Annisa Aprilia, Fania Nur Izzati, Rahayu Amaliya, Diah Ayu Putri Octariyanti, Mauli Maro Hidayat, Eka Nuraini Tohari, dan Syaalma Difatka Qurota'ayun yang telah memberikan dukungan bagi penulis.

23. Teman-teman Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung angkatan 2017 yang telah memberikan dukungan bagi penulis.
24. Teman-teman “Tim Orang Sukses” yang telah memberikan dukungan bagi penulis.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Maka dari itu, saran dan kritik yang membangun masih sangat diperlukan dalam penulisan karya ilmiah di kemudian hari.

Bandarlampung, 10 November 2021

Penulis

Alvin Wiwiet Susanto

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR.....	xx
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah	1
1.2 Tujuan.....	6
1.3 Kerangka Teoritis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Gajah Sumatera	8
2.1.1 Ciri Umum dan Klasifikasi	8
2.1.1 Habitat dan Perilaku	11
2.1.2 Status Ekologi	12
2.2 Taman Nasional Way Kambas	13
2.3 Desa Labuhan Ratu VII.....	15
2.4 Konflik Gajah-Manusia.....	15
2.5 Analisis Filogenetik.....	16
2.6 Gen COI	17
III. METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Waktu dan Tempat	20
3.2 Alat dan Bahan	20
3.3 Pelaksanaan	28
3.3.1 Pengambilan Sampel.....	28

3.3.2 Preparasi Sampel.....	29
3.3.3 Isolasi DNA.....	30
3.3.4 Amplifikasi DNA.....	33
3.3.5 Elektroforesis dan Visualisasi.....	35
3.3.6 Sekuensing.....	36
3.4 Analisis Data.....	38
3.4.1. Uji BLAST.....	38
3.4.2. Merunut Urutan Basa Nitrogen.....	41
3.4.3. Melakukan Analisis Jarak Genetik.....	49
3.4.4. Penyusunan Konstruksi Pohon Filogenetik.....	53
3.5 Diagram Alir Penelitian.....	56
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	57
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	101
5.1 Kesimpulan.....	101
5.2 Saran.....	101
DAFTAR PUSTAKA.....	102

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Urutan basa nitrogen primer gen COI gajah sumatera.....	34
2. Data sampel feses gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII.....	58
3. Hasil pengujian kualitas DNA pada sampel gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII dengan metode sederhana.	67
4. Hasil pengujian kualitas DNA pada sampel gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII dengan metode molekuler.	68
5. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumateraliar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 1-60.....	83
6. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumateraliar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 61-120.....	84
7. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 121-180.....	85
8. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumateraliar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 181-240.....	86
9. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 241-300.....	87

10. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 301-360.....	88
11. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 361-420.....	89
12. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 421-480.....	90
13. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 481-540.....	91
14. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 541-600.....	92
15. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumateraliar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 601-660.....	93
16. Hasil analisis urutan basa nitrogen pada hasil sekuensing gen COI gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII pada basa nitrogen urutan 661-681.....	94
17. Komposisi basa nitrogen gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII.....	95
18. Jarak genetik dan homologi gajah sumatera di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII.....	96

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gajah afrika.....	8
2. Gajah asia	9
3. Peta Taman Nasional Way Kambas	14
4. Struktur DNA mitokondria pada mamalia	18
5. Proses fosforilasi oksidatif	18
6. <i>Buffer</i> PBS dan akuades.	21
7. QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit	21
8. Alkohol absolut.	22
9. <i>DNA marker</i> dan pewarna agar.	22
10. Larutan TAE dan bubuk gel agarosa.....	23
11. Bahan amplifikasi DNA	23
12. Peralatan preparasi sampel.....	24
13. Mikropipet.....	24
14. Rak <i>microtube</i> , <i>collection tubes</i> , <i>microtube</i> 1,5 ml, dan <i>spin column</i>	25
15. <i>Biosafety cabinet class II</i>	25
16. Vortex.....	26
17. <i>Centrifuge</i>	26
18. <i>Waterbath</i>	26
19. <i>Spin down</i>	27
20. <i>PCR tube</i> 0,2 ml.	27
21. <i>Thermal cycler</i>	27
22. <i>Microwave</i>	28
23. Set alat elektroforesis dan komputer.	28
24. Konsep Isolasi DNA.	31

25. Pelaksanaan isolasi DNA di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung.	31
26. Pelaksanaan <i>master mix</i> di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung.	34
27. Pelaksanaan <i>template addition</i> di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung.	34
28. Pelaksanaan elektroforesis di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung.	36
29. Perbedaan ddNTP dan dNTP	37
30. Proses Sekuensing.	38
31. Langkah pertama melakukan uji BLAST.	39
32. Langkah kedua melakukan uji BLAST.	40
33. Langkah ketiga melakukan uji BLAST.	40
34. Langkah keempat melakukan uji BLAST.	41
35. Tampilan aplikasi MEGA X.	41
36. Tahapan pertama merunut basa nitrogen.	42
37. Tahapan kedua merunut basa nitrogen.	42
38. Tahapan ketiga merunut basa nitrogen.	43
39. Tahapan keempat merunut basa nitrogen.	43
40. Tampilan sekuen basa nitrogen gajah sumatera liar pada aplikasi MEGA X.	44
41. Tahapan kelima merunut basa nitrogen	44
42. Tampilan sekuen basa nitrogen gajah sumatera liar pada aplikasi MEGA X setelah dilakukan <i>reverse complement</i> pada sekuen <i>reverse</i>	45
43. Tahapan keenam merunut basa nitrogen.	45
44. Tahapan ketujuh merunut basa nitrogen.	46
45. Tahapan kedelapan merunut basa nitrogen.	46
46. Hasil runutan basa nitrogen gajah sumatera pada aplikasi MEGA X setelah dilakukan <i>multiple alignment</i>	47
47. Tahapan kesembilan merunut basa nitrogen.	47
48. Tahapan kesepuluh merunut basa nitrogen.	48
49. Langkah kesebelas merunut basa nitrogen.	48
50. Langkah keduabelas merunut basa nitrogen.	49

51. Langkah pertama menganalisis jarak genetik.	50
52. Langkah kedua menganalisis jarak genetik.....	50
53. Langkah ketiga menganalisis jarak genetik.	51
54. Langkah keempat menganalisis jarak genetik.....	51
55. Langkah kelima menganalisis jarak genetik.	52
56. Langkah keenam menganalisis jarak genetik.....	52
57. Langkah ketujuh menganalisis jarak genetik.	52
58. Langkah kedelapan menganalisis jarak genetik.	53
59. Langkah pertama membuat konstruksi pohon filogenetik.	53
60. Langkah kedua membuat konstruksi pohon filogenetik.	54
61. Langkah ketiga membuat konstruksi pohon filogenetik.	54
62. Langkah keempat membuat konstruksi pohon filogenetik.	55
63. Diagram alir kajian berbasis kotoran gajah sumatera (<i>Elephas maximus sumatranus</i>) liar di perbatasan Taman Nasional Way Kambas-Desa Labuhan Ratu VII berdasarkan gen COI.....	56
64. Pengambilan sampel feses gajah sumatera liar di area persawahan Ibu Rustini oleh Dian Neli Pratiwi, Salih Alimudin, dan Bapak Kasturi	59
65. Sampel feses gajah sumatera liar yang ditemukan di area persawahan Ibu Rustini.....	60
66. Pengambilan sampel feses gajah sumatera liar di perkebunan singkong Ibu Fika Anggreaningsih oleh Salih Alimudin, Dian Neli Pratiwi, dan Bapak Kasturi	60
67. Lokasi pengambilan sampel kedua di perkebunan singkong Ibu Fika Anggreaningsih di Dusun Margahayu, Desa Labuhan Ratu VII.	61
68. Sampel feses gajah sumatera liar yang ditemukan di perkebunan singkong Ibu Fika Anggreaningsih	61
69. Pengambilan sampel feses gajah sumatera liar di perkebunan singkong Bapak Sunandar oleh Salih Alimudin, Edi Santoso, Bapak Sunandar, dan dan Bapak Kasturi.	62
70. Pengambilan sampel feses gajah sumatera liar di area perkebunan singkong Bapak Uum oleh Salih Alimudin, Edi Santoso, Bapak Kasturi, dan Bapak Sunandar.....	62

71. Jalur pada lokasi pengambilan sampel ketiga dan keempat di Dusun Margahayu, Desa Labuhan Ratu VII	63
72. Titik masuk gajah sumatera liar dari area perkebunan singkong ke area rawa dan persawahan di Dusun Margahayu, Desa Labuhan Ratu VII	63
73. Gerbang Margahayu, Dusun Margahayu, Desa Labuhan Ratu VII.	64
74. Hasil pengujian kualitas DNA gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII dengan metode sederhana.....	66
75. Hasil elektroforesis DNA gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII dengan metode molekuler	67
76. Elektroforegram gen COI gajah sumatera liar LRVII 1 <i>forward</i>	70
77. Elektroforegram gen COI gajah sumatera liar LRVII 1 <i>reverse</i>	71
78. Elektroforegram gen COI gajah sumatera liar LRVII 2 <i>forward</i>	72
79. Elektroforegram gen COI gajah sumatera liar LRVII 2 <i>reverse</i>	73
80. Elektroforegram gen COI gajah sumatera liar LRVII 3 <i>forward</i>	74
81. Elektroforegram gen COI gajah sumatera liar LRVII 3 <i>reverse</i>	75
82. Elektroforegram gen COI gajah sumatera liar LRVII 4 <i>forward</i>	76
83. Elektroforegram gen COI gajah sumatera liar LRVII 4 <i>reverse</i>	77
84. Hasil uji BLAST pada sampel pertama.....	78
85. Hasil uji BLAST pada sampel kedua.	79
86. Hasil uji BLAST sampel ketiga	79
87. Hasil uji BLAST sampel keempat	80
88. Struktur DNA	81
89. Konstruksi pohon kekerabatan hasil sekuensing gen COI gajah sumatera liar di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII	98

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Indonesia merupakan negara kepulauan yang terdiri dari 17.499 pulau daratan seluas 2.010.000 km² dan perairan seluas 5.800.000 km² (KKP, 2013), antara Samudera Pasifik dan Samudera Hindia. Posisi yang strategis menyebabkan tingginya keanekaragaman hayati di Indonesia sehingga disebut sebagai negara megabiodiversitas. Flora yang telah didokumentasikan terdiri dari 1.500 spesies alga, 80.000 spesies fungi, 595 spesies *lichen* (lumut kerak), 2.197 spesies tumbuhan paku, dan 30.000 – 40.000 spesies tumbuhan spermatofita, yaitu 15.5% dari seluruh flora dunia, sedangkan fauna terdiri dari 1.900 spesies kupu-kupu yang mencakup 10% dari seluruh kupu-kupu di dunia dan 8157 spesies vertebrata yang meliputi ikan, amfibi, reptil, burung, dan mamalia (LIPI, 2014).

Di Pulau Sumatera, terdapat lahan ±3.332.685,627 ha dari Provinsi Aceh hingga Provinsi Lampung yang dijadikan sebagai kawasan taman nasional. Pulau Sumatera memiliki 11 taman nasional, yaitu Taman Nasional Gunung Leuser (TNGL) di Nanggroe Aceh Darussalam, Taman Nasional Batang Gadis (TNBG) di Sumatera Utara, Taman Nasional Siberut di Sumatera Barat, Taman Nasional Tesso Nilo (TNTN) dan Taman Nasional Bukit Tiga Puluh (TNBTG) di Riau, Taman Nasional Berbak, Taman Nasional Bukit Duabelas (TNBDB), dan Taman Nasional Kerinci Seblat (TNKS) di Jambi, Taman Nasional Sembilang di Sumatera Selatan, serta Taman Nasional Bukit Barisan Selatan (TNBBS) dan Taman Nasional Way Kambas (TNWK) di Lampung (Raksapati, 2018). Terdapat taman nasional yang

sudah dijadikan situs tertentu, seperti TNGL, TNKS, dan TNBBS yang diakui sebagai situs warisan dunia oleh UNESCO dengan sebutan *Tropical Rainforest Heritage of Sumatra* (TRHS) (UNESCO, 2020), Taman Nasional Berbak dan Taman Nasional Sembilang yang diakui sebagai situs Ramsar oleh Konvensi Ramsar (Ramsar, 2021), serta TNGL, TNKS, dan TNWK diakui sebagai Taman Warisan ASEAN (ASEAN Biodiversity, 2021).

Provinsi Lampung, bagian dari Pulau Sumatera, memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi. Sekitar 10.000 spesies tumbuhan, 580 spesies burung, dan 201 spesies mamalia dapat ditemukan di Provinsi Lampung. Tingginya keanekaragaman hayati di Provinsi Lampung didukung oleh keberadaan hutan hujan tropis dengan adanya cagar alam dan dua kawasan konservasi, yaitu Cagar Alam Laut (CAL) Krakatau, TNBBS, dan TNWK. Taman Nasional Way Kambas merupakan kawasan konservasi yang kaya akan satwa liar karena berdasarkan zoogeografisnya termasuk dalam wilayah *oriental region* dan *sundaic region*. Hewan langka yang bisa ditemukan di TNWK meliputi harimau sumatera (*Panthera tigris sumatrae*), badak sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*), tapir (*Tapirus indicus*), beruang madu (*Helarctos malayanus*), dan gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) (TNWK, 2017).

Abdullah dkk. (2012) menyatakan bahwa gajah sumatera tergolong dalam Class Mammalia dan Order Proboscidea yang terancam kelestariannya. Kerusakan dan kehilangan habitat karena adanya penebangan hutan yang tidak berkelanjutan serta adanya perburuan liar untuk perdagangan gading menjadi ancaman bagi eksistensinya (WWF, 2020). Hal ini membuat *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) memberikan status konservasi *critically endangered* pada tanggal 1 Agustus 2011 (Gopala *et al.*, 2011).

Sebagai salah satu kawasan yang berfungsi sebagai tempat pelestarian satwa liar, TNWK memiliki Pusat Latihan Gajah (PLG) yang merupakan tempat

pengembangbiakan gajah sumatera. Rustiati dkk. (2019) menyatakan bahwa terdapat 68 individu gajah sumatera di PLG karena adanya kelahiran dua anak gajah. Pendirian PLG TNWK bertujuan untuk menangani gajah yang pernah terlibat konflik dengan masyarakat (Alikodra, 1990).

Konflik gajah-manusia (KGM) merupakan konflik yang kerap terjadi di Lampung dengan jumlah kasus yang tinggi, yaitu 55 kasus dari total 122 konflik satwa-manusia yang terjadi pada 2005 – 2014. Terjadinya konflik tersebut berawal dari penebangan hutan di kawasan TNWK yang menjadi penyebab terganggunya keseimbangan ekosistem di dalamnya. Penebangan hutan tersebut menyebabkan pergeseran daerah jelajah, perubahan pola kehidupan, dan berkurangnya pakan bagi satwa liar yang ada di dalamnya, salah satunya adalah gajah sumatera. Gajah sumatera berusaha mencari daerah baru untuk bertahan hidup dengan cara keluar dari kawasan TNWK memicu KGM karena kawasan TNWK berbatasan dengan 40 desa (Seksi Konservasi Wilayah III BKSDA Bengkulu, 2016).

Desa Labuhan Ratu VII adalah salah satu desa yang berbatasan dengan TNWK (Rustiati *et al.*, 2019). Konflik gajah-manusia menjadi salah satu masalah yang dihadapi masyarakat Desa Labuhan Ratu VII dan berdampak pada kerugian ekonomi yang diakibatkan oleh perusakan tanaman, terutama saat musim panen (Sitiati *et al.*, 2003). Selain kerusakan, adanya feses juga menjadi tanda dari masuknya gajah sumatera liar ke perbatasan kawasan TNWK dengan pemukiman (Yulianti dkk., 2020). Penggunaan bola api, kembang api, dan kanal sebagai bentuk mitigasi konflik telah dilakukan untuk menghalau gajah liar agar tidak memasuki kawasan pemukiman. Pemantauan gajah dengan bantuan teknologi dan keterlibatan masyarakat juga telah dilakukan (Rustiati *et al.*, 2019) namun KGM masih terjadi dan melalui titik jalur aktif yang sama (Yulianti dkk., 2020).

Adanya konflik gajah-manusia tentunya juga mengancam populasi gajah sumatera. Maka dari itu, perlu dilakukan upaya konservasi. Indrawan dkk.

(2007) menyatakan bahwa untuk mendukung upaya konservasi suatu spesies, diperlukan informasi mengenai keragaman genetiknya. Hal ini disebabkan karena tinggi rendahnya keragaman genetik menentukan kemampuan beradaptasi suatu spesies dalam jangka pendek dan jangka panjang. Keberhasilan upaya konservasi suatu spesies juga bisa ditentukan dengan keragaman genetik setiap spesies pada populasinya. Menurunnya keragaman genetik bisa disebabkan karena telah terjadinya kawin silang dalam (*inbreeding*). Hal ini bisa disebabkan karena kecilnya ukuran populasi dari suatu spesies (Frankham *et al.*, 2002).

Analisis filogenetik adalah metode yang sering digunakan untuk memahami keanekaragaman makhluk hidup melalui rekonstruksi hubungan kekerabatan berbasis morfologi dan sekuen DNA. Untuk mengetahui tingkat keanekaragaman genetik suatu spesies, analisis filogenetik atas dasar materi genetik (DNA) atau yang dikenal dengan analisis filogenetik molekuler perlu dilakukan. Analisis filogenetik molekuler merupakan proses pengolahan data berupa sekuen DNA yang dilakukan untuk mengetahui gambaran secara jelas mengenai evolusi suatu kelompok organisme. Sumber materi genetik (DNA) bisa diperoleh dari inti sel (nDNA), kloroplas (cpDNA), dan mitokondria (mtDNA) (Hidayat dan Pancoro, 2008).

Analisis DNA mitokondria merupakan metode yang paling baik dalam mempelajari struktur genetik populasi, baik dalam skala interspesifik maupun intraspesifik. Hal ini disebabkan karena pewarisannya dilakukan secara maternal, sedikitnya rekombinasi, dan tingginya tingkat mutasi. Selain itu, DNA mitokondria bisa ditemukan dengan jumlah lebih dari satu dari setiap sel dan memiliki lapisan pelindung yang tersusun atas protein, melindunginya dari degradasi (San Mauro *et al.*, 2005).

Hebert *et al.* (2003) menyatakan bahwa gen *cytochrome oxidase subunit I* (COI) bisa digunakan untuk mempelajari keragaman genetik antar spesies

maupun individu. Gen ini kerap digunakan sebagai *barcode*. Berkembangnya literatur mengenai *barcode* DNA mengindikasikan bahwa gen COI bisa menandakan variasi genetik secara akurat pada berbagai hewan hingga tingkat spesies (Luo *et al.*, 2011). Hal tersebut juga dibuktikan dengan sudah digunakannya gen COI dalam mengenali spesies tertentu untuk mengendalikan perdagangan satwa liar (Janjua *et al.*, 2016).

Penelitian berbasis DNA mitokondria pada gajah sumatera sudah dilakukan sebelumnya dengan menggunakan sampel darah pada gajah sumatera binaan PLG, TNWK. Penelitian pendahuluan dilakukan oleh Pratiwi (2018) dan Novianasari (2018) terkait kualitas hasil ekstraksi DNA dengan menggunakan metode sederhana dan molekuler. Metode sederhana dilakukan menggunakan elektroforesis gel agarosa 1%, sedangkan metode molekuler dilakukan menggunakan reaksi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase* (GAPDH). Metode molekuler merupakan metode yang lebih baik karena sensitivitas dan spesifisitasnya yang lebih tinggi. Kajian karakterisasi gen *cytochrome oxidase subunit I* (COI) berhasil dilakukan oleh Virnarenata *et al.* (2021). Kajian berbasis molekuler mengenai populasi gajah sumatera liar di kawasan TNWK belum pernah dilakukan.

Waits and Paetkau (2005) menyatakan bahwa pengambilan sampel secara non invasif bisa menjadi cara yang lebih baik dan memiliki potensi yang besar bagi ahli biologi satwa liar karena bisa dilakukan tanpa bersentuhan langsung dengan individu satwa liar. Data terkait populasi satwa liar bisa didapatkan melalui berbagai sumber materi genetik, seperti rambut, dan kotoran. Hal ini didukung oleh Nayasilana dkk. (2010) yang menyatakan bahwa analisis molekuler berdasarkan sampel feses adalah jalan terbaik. Adanya sel-sel epitel usus pada sampel feses memungkinkan penelitian terkait DNA inti ataupun DNA mitokondria dapat dilakukan.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil analisis *fecal DNA* dan keragaman genetik gajah sumatera liar di perbatasan TNWK -Desa Labuhan Ratu VII berdasarkan gen COI.

1.3 Kerangka Teoritis

Gajah sumatera adalah salah satu hewan yang langka yang bisa ditemukan di TNWK. Deforestasi lahan, perburuan liar, dan adanya konflik gajah-manusia menjadi ancaman yang tinggi bagi keberadaan populasi gajah sumatera. Taman Nasional Way Kambas memiliki tempat khusus yang diperuntukkan bagi gajah sumatera, yaitu PLG. Kawasan TNWK merupakan habitat alami gajah sumatera. Pusat Latihan Gajah bertujuan sebagai tempat pengembangbiakan, perlindungan, dan penanganan bagi gajah yang terlibat konflik.

Gajah sumatera memiliki perilaku berjelajah dengan kawasan yang luas untuk mencari makanan. Adanya deforestasi menyebabkan gajah sumatera keluar ke kawasan desa penyangga TNWK, salah satunya Desa Labuhan Ratu VII, untuk mencari sumber pakan lain, terutama di musim panen. Hal tersebut menimbulkan konflik karena kerusakan lahan pertanian yang menjadi sumber mata pencahariannya. Konflik ini menyebabkan kerusakan serta kerugian ekonomi yang besar. Masuknya gajah sumatera ke perbatasan kawasan TNWK dengan pemukiman juga ditandai dengan adanya boli feses. Konflik ini tidak hanya mengancam kesejahteraan masyarakat yang hidup di perbatasan kawasan TNWK, tetapi juga mengancam keberadaan populasi gajah sumatera. Oleh karena itu, upaya konservasi harus dilakukan.

Pengumpulan data genetik bisa menjadi salah satu pendukung upaya konservasi. Hal ini disebabkan karena kemampuan suatu populasi untuk

beradaptasi dengan perubahan yang terjadi di lingkungannya bisa dipengaruhi oleh tingkat keragaman genetik. Gajah sumatera, sebagai satwa yang sudah langka, tentunya memiliki kemungkinan untuk lebih punah lebih cepat karena tingkat keragaman genetiknya yang sudah rendah. Keberadaan feses di perbatasan kawasan TNWK bisa mempermudah koleksi data genetik tanpa harus melakukan pengambilan sampel yang bersifat invasif.

Gen *cytochrome oxidase subunit I* (COI) adalah salah satu gen yang berada di dalam DNA mitokondria (mtDNA) dan kerap digunakan sebagai *barcode*. Gen ini dapat menjadi tanda variasi genetik setiap hewan hingga ke tingkat spesies. Penggunaan gen ini untuk melakukan mengetahui tingkat kekerabatan antar individu pada gajah sumatera liar di perbatasan TNWK-Desa Labuhan Ratu VII sangat tepat dan bisa menjadi data dasar bagi variasi genetiknya.

Kajian DNA berbasis kotoran gajah sumatera liar di perbatasan Taman Nasional Way Kambas-Desa Labuhan Ratu VII berdasarkan gen *cytochrome oxidase subunit I* (COI) perlu dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait keragaman genetik yang berguna bagi upaya konservasi yang dilakukan terhadap gajah sumatera, terutama dalam mencegah terjadinya kawin silang dalam.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gajah Sumatera

2.1.1 Ciri Umum dan Klasifikasi

Gajah merupakan mamalia darat terbesar di bumi. Belalai, organ yang digunakan dalam aktivitas sosial dan makan, merupakan penciri gajah. Sampai saat ini, terdapat dua spesies gajah yang masih hidup, yaitu gajah afrika (*Loxodonta africana*) (Gambar 1) dan gajah asia (*Elephas maximus*) (Gambar 2) (WWF, 2020).



Gambar 1. Gajah afrika (Sumber: National Geographic, 2021).



Gambar 2. Gajah asia (Sumber: Dokumentasi Pribadi).

Gajah afrika memiliki perbedaan dengan gajah asia. Perbedaan tersebut bisa dengan mudah terlihat melalui ukurannya. Gajah afrika memiliki tinggi yang berkisar antara 2,7 – 4 m dengan berat tubuh sekitar 3.900 – 7.000 kg, sedangkan gajah asia memiliki tubuh yang lebih kecil dengan tinggi 2 – 2,7 m dan berat tubuh 3.000 – 6.000 kg (Faris, 2013). Perbedaan kedua gajah tersebut juga bisa dilihat melalui telinga, bentuk kepala, dan gadingnya. Gajah afrika memiliki telinga yang lebih besar dengan bentuk menyerupai Benua Afrika, sedangkan gajah asia memiliki telinga berukuran lebih kecil. Hal ini disebabkan karena mereka tinggal di tempat beriklim lebih panas sehingga perlu mengeluarkan panas lebih banyak. Gajah afrika memiliki kepala berbentuk kubah tunggal (*single dome*), sedangkan gajah asia memiliki kepala berbentuk kubah ganda (*twin dome*). Gading bisa ditemukan pada kedua gajah tersebut. Hanya saja, gading tidak bisa ditemukan pada gajah asia betina (Grannan, 2020). Belalai juga menjadi pembeda antara gajah afrika dan gajah asia. Gajah afrika memiliki dua tonjolan pada ujung belalainya,

sedangkan gajah asia hanya memiliki satu tonjolan pada ujung belalainya (Faris, 2013).

Gajah asia memiliki empat subspecies, yaitu *Elephas maximus indicus*, *Elephas maximus maximus*, *Elephas maximus sumatranus*, dan *Elephas maximus borneensis*. *Elephas maximus indicus* bisa ditemukan di Cina, India, Vietnam, Laos, Myanmar, Kamboja, Thailand, dan Malaysia. Subspecies lainnya masing-masing hanya bisa ditemukan di satu tempat, seperti *Elephas maximus maximus* di Sri Lanka, *Elephas maximus borneensis* di Pulau Borneo, dan *Elephas maximus sumatranus* di Pulau Sumatera, Indonesia (Fleischer *et al.*, 2001).

Gajah sumatera dianggap sebagai subspecies yang paling primitif karena memiliki 20 pasang tulang rusuk, sedangkan yang lainnya hanya memiliki 19 pasang (Shoshani and Eisenberg, 1982). Lekagul and McNeely (1977) menyatakan bahwa berat tubuh gajah sumatera dapat mencapai 5.000 kg dan tingginya dapat mencapai 3 m, sedangkan panjang tubuhnya, dari ujung kepala hingga ujung badan, dapat mencapai 2,5 m – 3 m. Adapun klasifikasi dari gajah sumatera, yaitu:

Kingdom : Animalia
Phyllum : Chordata
Class : Mammalia
Order : Proboscidea
Family : Elephantidae
Genus : *Elephas*
Species : *Elephas maximus*
Subspecies : *Elephas maximus sumatranus*

(Lekagul and McNeely, 1977)

2.1.1 Habitat dan Perilaku

Tarmizi (2008) menyatakan bahwa gajah sumatera tersebar di Aceh, Sumatera Utara, Riau, Jambi, Sumatera Selatan, Bengkulu, dan Lampung. Gajah sumatera hidup di berbagai jenis habitat, seperti hutan tropis, hutan semak belukar, dan padang rumput (Daniel, 1998). Williams (2010) menyatakan bahwa gajah sumatera lebih menyukai habitat pada dataran rendah, dengan ketinggian di bawah 300 m.

Gajah sumatera memakan berbagai jenis tumbuhan. Tumbuhan pakan gajah sumatera tergolong dalam Famili Fabaceae, Poaceae, Cyperaceae, Palmae, Euphorbiaceae, Rhamnaceae, dan Malvales. Gajah sumatera memerlukan makanan sebanyak 200 – 270 kg setiap harinya (Cheeran, 2002) dan melakukan pencarian makanan selama 16 jam (McKay, 1973). Dalam mencari makan, gajah sumatera melakukan aktivitas harian dengan daerah jelajah mulai dari 20 km² hingga 1.000 km². Luas daerah jelajah bergantung pada ketersediaan makanan, air, serta jaraknya dengan pemukiman (Daniel, 1998).

Defekasi menjadi aktivitas yang sering dilakukan akibat aktivitas makan yang berlangsung dalam waktu yang lama. Sistem pencernaan gajah sumatera yang lebih sederhana dibandingkan hewan ruminansia membuat laju pencernaannya menjadi lebih cepat (Santiapillai and Suprahman, 1986). Aktivitas defekasi bisa dilakukan sebanyak 15 – 20 kali dengan jumlah bolus 5 – 8 bolus setiap kali defekasi. Tiap bolus memiliki berat 1 – 2 kg dan diameter 10 – 15 cm (Cheeran, 2002). Faktor lain yang mempengaruhi aktivitas defekasi adalah keberadaan air. Menurut Joshi (2009) gajah sumatera sering melakukan defekasi di dekat sumber air setelah melakukan aktivitas minum. Laws *et al.* (1975) menyatakan bahwa aktivitas defekasi juga bisa dilakukan saat terdapat gangguan

manusia dan gajah sumatera merasa takut. Aktivitas tersebut cenderung terjadi saat gajah sumatera melintasi jalan hutan.

Gajah sumatera hidup dengan pola matriarkal. Gajah sumatera betina beserta anaknya hidup dalam satu kelompok yang besar, sedangkan gajah sumatera jantan hidup dalam kelompok kecil atau soliter. Gajah sumatera jantan akan meninggalkan kelompoknya apabila sudah mencapai kematangan seksual. Satu kelompok gajah sumatera betina terdiri atas 5 – 20 individu. Kelompok yang lebih besar akan terbentuk apabila terdapat kelompok berbeda bergabung menjadi satu. Hal tersebut terjadi saat musim kawin (Kurt and Garai, 2007).

Gajah sumatera bersifat poligini. Artinya, satu individu jantan bisa melakukan aktivitas kawin dengan lebih dari satu gajah sumatera betina. Hal ini menyebabkan adanya kompetisi antara gajah sumatera jantan sehingga tidak semuanya bisa memiliki keturunan. Periode seekor gajah sumatera jantan untuk kawin bisa dilihat dengan adanya cairan yang keluar dari bagian temporal kepalanya yang disebut *musth*. Gajah sumatera memiliki masa gestasi selama 18 – 23 bulan dan berkembang biak setiap 4 – 5 tahun (Sukumar, 2003).

2.1.2 Status Ekologi

Santiapillai and Jackson (1990) menyatakan pada tahun 1980 total ukuran populasi gajah sumatera diperkirakan sebanyak 2.800 – 4.400 individu dan tersebar dalam 44 populasi yang berbeda. Hedges *et al.* (2005) menyatakan bahwa sembilan dari 12 populasi gajah sumatera yang ada di Lampung telah musnah pada tahun 2000. Berdasarkan penelitian berbasis feses yang dilakukan oleh Hedges *et al.* (2005),

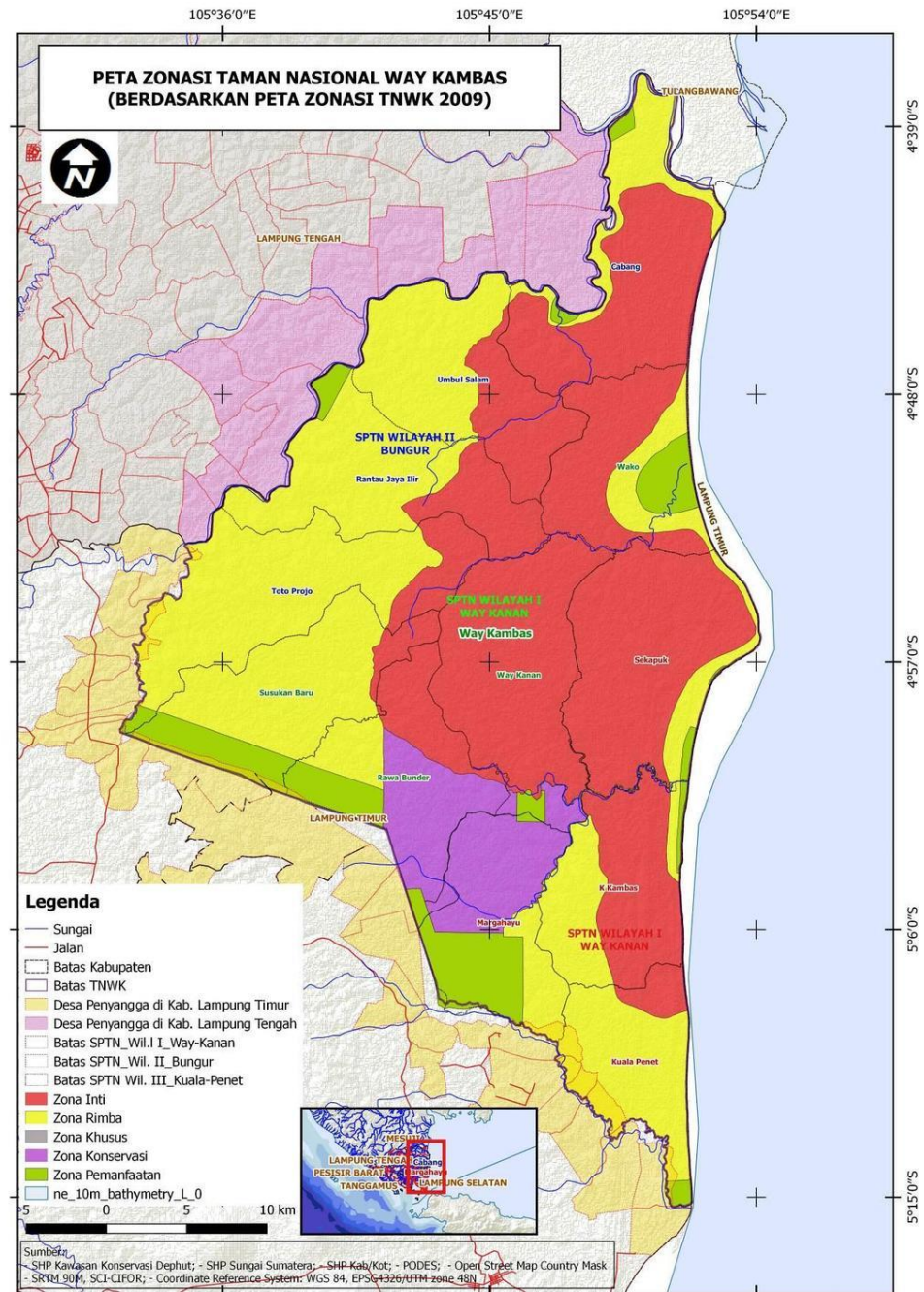
diperkirakan terdapat 498 individu gajah sumatera di TNBBS dan 180 individu lainnya di TNWK.

Menurunnya ukuran populasi gajah sumatera disebabkan karena kehilangan habitat, fragmentasi habitat, perburuan liar, dan adanya konflik gajah-manusia. Kecilnya ukuran populasi gajah sumatera tersebut dapat menyebabkan hilangnya viabilitas genetik. Oleh karena itu, *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) telah memasukkan gajah sumatera ke dalam *IUCN Red List* dengan status kritis atau *critically endangered* (WCS Indonesia, 2020). Selain itu, *Convention on International Trade in Endangered Species* (CITES) juga memasukkan gajah sumatera ke dalam daftar Apendiks I (CITES, 2020). Hal ini menandakan bahwa spesies ini sudah terancam punah sehingga tidak boleh diperdagangkan, kecuali untuk kepentingan penelitian (WWF, 2020).

2.2 Taman Nasional Way Kambas

Taman Nasional Way Kambas merupakan suatu kawasan konservasi yang terletak pada 40°37' – 50°16' LS dan 105°33' – 105°54' BT, tepatnya pada bagian tenggara dari Pulau Sumatera, di Provinsi Lampung (Hudiyono, 2008) (Gambar 3). Terdapat enam kecamatan yang membatasi TNWK, yaitu Labuhan Maringgai, Sukadana, Way Jepara, Purbolinggo, Rumbia, dan Seputih Surabaya (Direktorat Jenderal Perlindungan Hutan dan Pelestarian Alam, 1990).

Penunjukan kawasan Way Kambas sebagai hutan lindung berawal pada tahun 1924. Adanya Surat Keputusan *Resident* Lampung Mr. Rook Maker pada tahun 1936 meningkatkan statusnya menjadi Suaka Margasatwa. Menteri Pertanian mengubah Suaka Margasatwa Way Kambas menjadi Kawasan Pelestarian Alam pada tahun 1978. Statusnya kembali berubah menjadi Kawasan Konservasi Sumber Daya Alam pada 12 Oktober 1985



Gambar 3. Peta Taman Nasional Way Kambas
(Sumber: Indraswati dkk., 2018).

dan pengelolaannya dilakukan oleh Sub-Balai KSDA berdasarkan SK No. 429/Kpts-II/1985. Pada 1 April 1989, Kawasan Suaka Margasatwa Way Kambas ditetapkan sebagai kawasan Taman Nasional oleh Menteri Kehutanan berdasarkan SK Menhut No. 444/Menhut-11/1989. Akhirnya, kawasan Way Kambas ditetapkan oleh Menteri Kehutanan dan Perkebunan

sebagai kawasan Taman Nasional dengan luas 125.621,30 ha berdasarkan SK Menhutbun No.670/Kpts-II/1999 pada 26 Agustus 1999 (Indraswati dkk., 2018).

Secara zoogeografis, kawasan TNWK termasuk ke dalam wilayah *oriental region* dan *sundaic region* sehingga kaya dengan satwa liar. Satwa liar yang terdapat di dalam TNWK meliputi reptil, aves, dan mamalia (Zahrah, 2018). Kawasan TNWK ditetapkan sebagai tempat pelestarian untuk melindungi satwa liar yang ada di dalamnya, seperti rusa sambar (*Cervus unicolor*), kijang (*Muntiacus muntjack*), tapir, harimau sumatera, badak sumatera, beruang madu, dan gajah sumatera (TNWK, 2017).

2.3 Desa Labuhan Ratu VII

Desa Labuhan Ratu VII adalah desa dengan luas 1.100 ha yang berlokasi di daerah Lampung Timur, Provinsi Lampung dan merupakan desa penyangga kawasan TNWK. Secara geografis, Desa Labuhan Ratu VII terletak di wilayah dataran rendah dengan ketinggian 18 mdpl, rerata curah hujan 2000 – 3000 mm/tahun, dan rata-rata suhu 27 – 30°C. Desa Labuhan Ratu VII berbatasan dengan Desa Labuhan Ratu VI di sebelah utara, Desa Braja Asri dan Labuhan Ratu Baru di sebelah selatan, Desa Labuhan Ratu III di sebelah barat, dan Taman Nasional Way Kambas di sebelah timur (Sutanto, 2017). Hingga saat ini, Desa Labuhan Ratu VII ditinggali oleh penduduk sebanyak 4367 jiwa. Sebanyak 87,2% penduduk desa ini memiliki mata pencaharian sebagai petani (Sari, 2020). Dengan demikian, adanya konflik gajah-manusia sangat mempengaruhi perekonomian penduduk Desa Labuhan Ratu VII.

2.4 Konflik Gajah-Manusia

Konflik Gajah-Manusia adalah salah satu ancaman bagi gajah sumatera (Sukumar, 2003) karena peningkatan populasi manusia, membuat populasi

gajah sumatera terkonsentrasi pada daerah yang tersisa (Stuwe *et al.*, 1998). Kedua hal tersebut menyebabkan tidak terpenuhinya kebutuhan hidup gajah sumatera sehingga mereka sering memasuki kawasan di luar wilayah teritorinya (Sukatmoko, 2006). Konflik ini mengakibatkan kerugian ekonomi yang disebabkan oleh kerusakan tanaman hasil panen. Penangkapan dan kematian gajah pun dapat terjadi (Hedges and Gunaryadi, 2009).

2.5 Analisis Filogenetik

Analisis filogenetik bertujuan untuk mempelajari perkembangan evolusi suatu spesies atau kelompok organisme tertentu. Hasil dari analisis filogenetik berupa pohon filogenetik. Adanya cabang pada pohon filogenetik menandakan adanya sejarah evolusi atau hubungan atau ciri-ciri tertentu yang berasal dari nenek moyang yang sama (Dhutta, 2020).

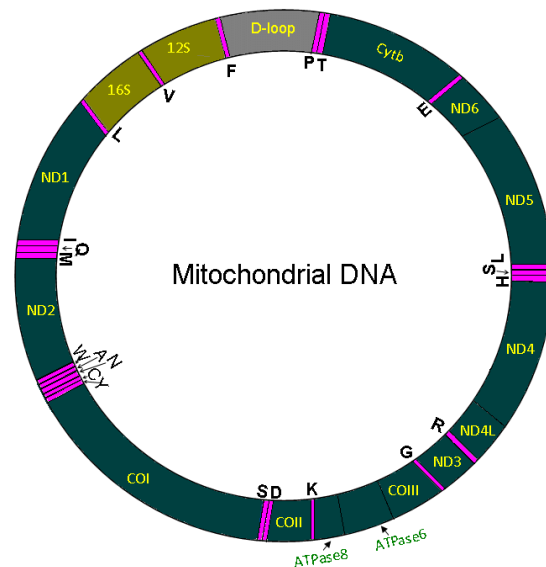
Awalnya, analisis filogenetik didasarkan pada karakter morfologi. Berkembangnya teknik dalam biomolekuler, seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan sekuensing membuat tingginya penelitian filogenetik berdasarkan sekuen DNA. Hal ini didasari dengan adanya pemikiran bahwa basa nukleotida akan berubah seiring berjalannya waktu sehingga kecepatan evolusi dapat diperkirakan untuk rekonstruksi hubungan evolusi antar organisme (Hidayat dan Pancoro, 2008). Hershkovitz and Leipe (1998) menyatakan bahwa terdapat asumsi yang harus diperhatikan dalam menggunakan sekuen DNA atau protein dalam analisis filogenetik, yaitu sebagai berikut.

- a. Sekuen berasal dari sumber yang spesifik dan bersifat homolog (diturunkan dari nenek moyang yang sama).
- b. Sekuen memiliki sejarah evolusi yang sama.
- c. Sekuen dapat berkembang bebas.

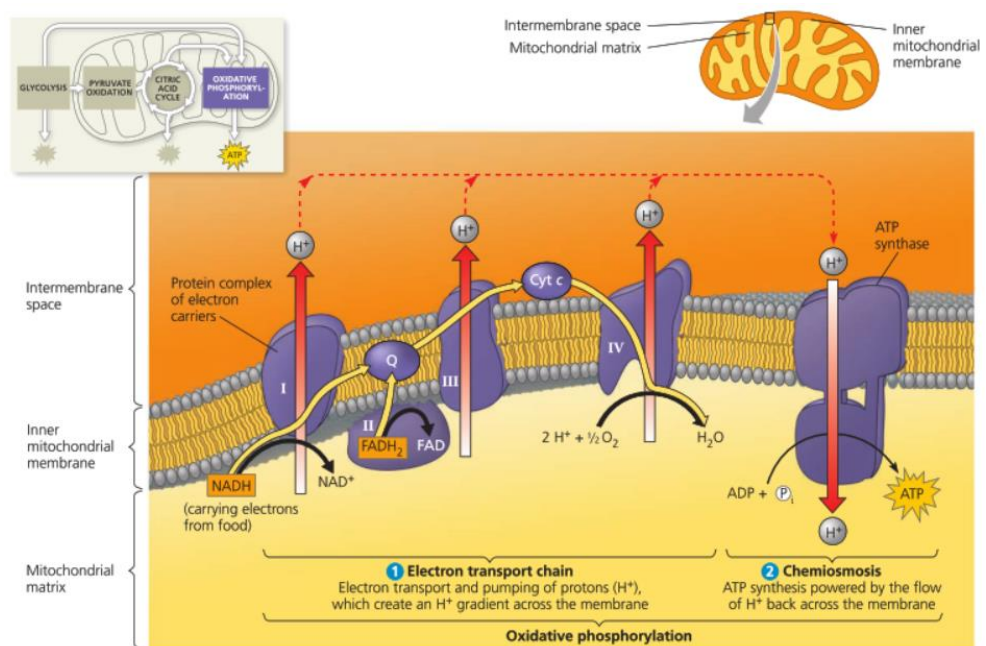
The European Bioinformatics Institute (2020) menyatakan bahwa analisis filogenetik bisa diterapkan dalam berbagai bidang, seperti taksonomi, forensik, konservasi, epidemiologi, dan bioinformatika dan komputasi. Penggunaan analisis filogenetik berdasarkan data sekuen dalam bidang taksonomi memberikan data yang lebih akurat. Dalam bidang forensik, pemecahan kasus kriminal berdasarkan bukti molekuler bisa dipecahkan menggunakan analisis filogenetik. Berkembangnya teknologi sekuensing membantu para peneliti di bidang epidemiologi untuk mempelajari wabah tertentu. Dalam bidang konservasi, hasil analisis filogenetik dapat memberikan data dasar spesies dan membantu dalam membuat kebijakan terkait spesies tertentu agar tidak punah.

2.6 Gen COI

Gen *cytochrome oxidase subunit I* (COI) adalah salah satu gen pada DNA mitokondria dan merupakan pengode protein COI (Gambar 4). Protein tersebut menjadi salah satu penyusun protein *cytochrome c oxidase* (COX) yang disebut kompleks IV (The Universal Protein Resources, 2021). Protein COX memiliki peran penting dalam proses fosforilasi oksidatif. Protein tersebut merupakan enzim terakhir dalam rantai transpor elektron dan berperan dalam mereduksi oksigen dan memompa proton menuju ruang intermembran mitokondria (Pentinsaari *et al.*, 2016) (Gambar 5).



Gambar 4. Struktur DNA mitokondria pada mamalia (Sumber: Raju *et al.*, 2011).



Gambar 5. Proses fosforilasi oksidatif (Sumber: Urry *et al.*, 2017).

Penggunaan gen COI dalam identifikasi spesies hewan secara universal dikemukakan oleh Hebert *et al.* (2003). Gen COI menjadi pilihan yang terbaik karena memiliki jangkauan sinyal filogenetik, yaitu kecenderungan suatu spesies terkait untuk lebih menyerupai antara satu sama lain dari pada dengan spesies lain yang diambil dari pohon yang sama (Muller *et*

al., 2012), yang lebih baik (Knowlton and Weigt, 1998). Gen ini berevolusi dengan cepat sehingga bisa digunakan untuk membedakan spesies yang sama namun berbeda secara geografis (Cox and Hebert, 2001). Namun demikian, perubahan urutan asam amino terjadi secara lebih lambat dibandingkan gen mitokondria yang lain (Lynch and Jarrell, 1993), seperti *cytochrome B* (Simmons and Weller, 2001).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian “Kajian DNA Berbasis Kotoran Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Liar di Perbatasan Taman Nasional Way Kambas-Desa Labuhan Ratu VII” berada di bawah penelitian Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc. dan telah dilaksanakan pada bulan Februari – Juli 2021 dibantu oleh lima mitra, yaitu masyarakat Desa Labuhan Ratu VII, TFCA Sumatera Konsorsium Unila-ALeRT, Balai Taman Nasional Way Kambas (BTNWK), Masyarakat Mitra Polisi Kehutanan Balai Taman Nasional Way Kambas (MMP BTNWK), dan Balai Veteriner Lampung. Pengambilan sampel dilakukan di daerah perbatasan Taman Nasional Way Kambas dan Desa Labuhan Ratu VII, sedangkan analisis molekuler akan dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Balai Veteriner Lampung di bawah bimbingan drh. Eko Agus Srihanto, M.Sc.

3.2 Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam preparasi sampel adalah akuades dan *buffer Phosphate Buffer Saline* (PBS) (Gambar 6), sedangkan bahan yang digunakan untuk analisis molekuler meliputi kit isolasi DNA dari QIAGEN, yaitu *QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit catalog number 51604* yang terdiri dari *InhibitEx Buffer*[®], proteinase K, *buffer AL*, *buffer AW1*, *buffer AW2*, dan *buffer ATE* (Gambar 7), alkohol absolut (Gambar 8), bahan elektroforesis yang terdiri dari *DNA marker Invitrogen TrackIt*[™] 100 bp *DNA Ladder catalog number 104488058*, pewarna agar *SYBR safe DNA gel*

stain (Gambar 9), bubuk gel agarosa, dan larutan buffer TAE (Tris Asetat EDTA) (Gambar 10), dan bahan amplifikasi DNA yang terdiri dari kit amplifikasi dari bioline, yaitu MyTaq™ HS Red Mix *catalog number* BIO-25047, satu pasang primer gen COI gajah sumatera, dan *nuclease-free water* (Gambar 11).



Gambar 6. *Buffer* PBS dan akuades.



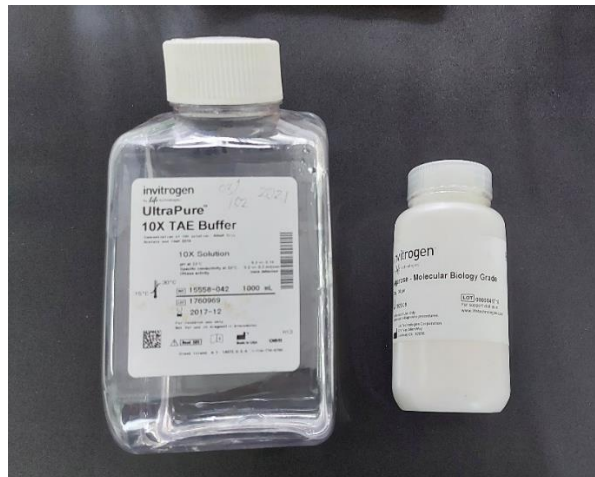
Gambar 7. QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Keterangan dari kiri ke kanan: *buffer* inhibitex, *buffer* AL, proteinase K, *buffer* AW1, *buffer* AW2, dan *buffer* ATE).



Gambar 8. Alkohol absolut.



Gambar 9. DNA marker dan pewarna agar.



Gambar 10. Larutan TAE dan bubuk gel agarosa.



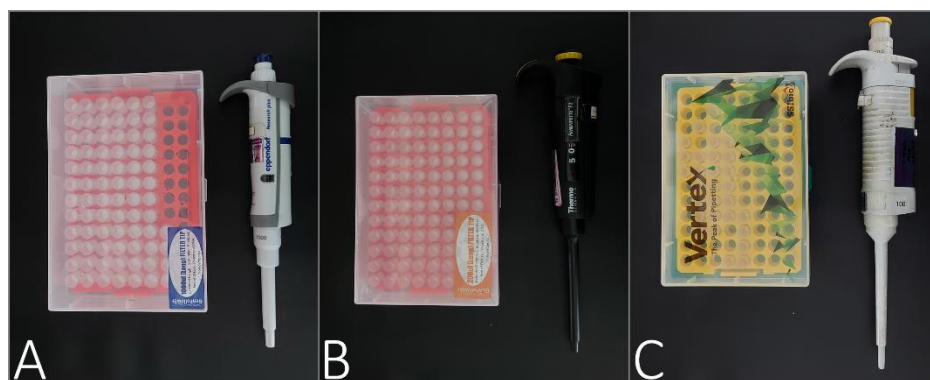
Gambar 11. Bahan amplifikasi DNA (Keterangan dari kiri ke kanan: kit amplifikasi DNA, primer gen COI *reverse* gajah sumatera, primer gen COI *forward* gajah sumatera, dan *nuclease-free water*).

Alat yang digunakan dalam preparasi sampel meliputi tabung *vacutainer* non EDTA 5 ml, mortar, pestel, mangkuk, saringan, pita perekat, stik kayu, *syringe*, dan kertas label (Gambar 12), sedangkan alat yang digunakan dalam analisis molekuler meliputi mikropipet beserta tipnya (Gambar 13), *microtube* 1,5 ml beserta raknya, *spin column*, *collection tubes* (Gambar 14), *biosafety cabinet* (BSC) (Gambar 15), vortex (Gambar 16), *centrifuge* (Gambar 17), *waterbath* (Gambar 18), *spin down* (Gambar 19), *PCR tube*

0,2 ml (Gambar 20), *thermal cycler* (Gambar 21), *microwave* (Gambar 22), set alat elektroforesis, dan komputer (Gambar 23).



Gambar 12. Peralatan preparasi sampel (Keterangan dari atas kiri: tabung vacutainer non EDTA 5 ml, mortar beserta pestel, mangkuk, saringan, pita perekat, stik kayu, *syringe*, dan kertas label).



Gambar 13. Mikropipet (A. Mikropipet volume 200 – 1000 μl beserta tip tip volume 1000 μl , B. Mikropipet volume 20 – 200 μl beserta tip tip volume 200 μl , C. Mikropipet volume 10 – 100 μl beserta tip tip volume 100 μl).



Gambar 14. Rak *microtube*, *collection tubes*, *microtube* 1,5 ml, dan *spin column* (keterangan dari atas lalu ke kiri).



Gambar 15. *Biosafety cabinet class II*.



Gambar 16. *Vortex* merek IKA.



Gambar 17. *Centrifuge* merek MPW.



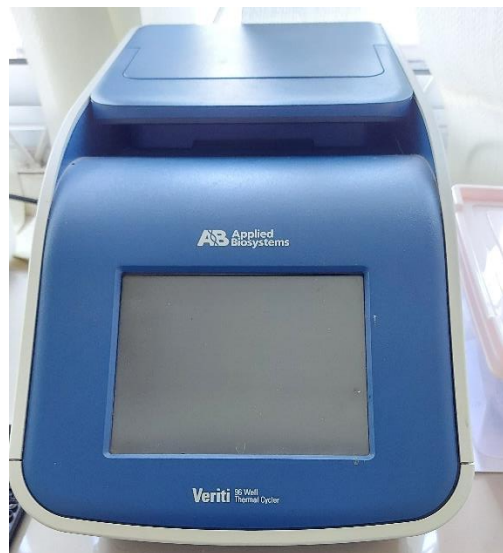
Gambar 18. *Waterbath* merek memmert.



Gambar 19. *Mini pin down* merek corning.



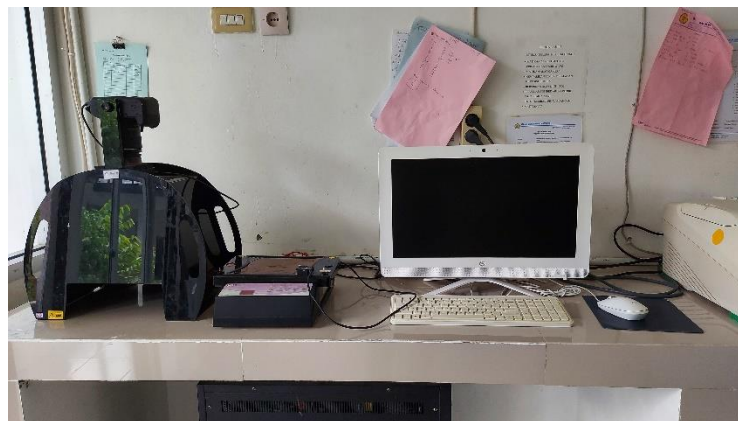
Gambar 20. *PCR tube* 0,2 ml (Sumber: BioPointe Scientific, 2021).



Gambar 21. *Thermal cycler* merek veriti.



Gambar 22. *Microwave* merek electrolux.



Gambar 23. Set alat elektroforesis dan komputer.

3.3 Pelaksanaan

3.3.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel feses gajah sumatera dilakukan di perbatasan luar TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII, Lampung Timur bekerja sama dengan masyarakat dan tim TFCA Sumatera Konsorsium Unila-ALeRT. Pengambilan sampel dilakukan setelah adanya informasi dari MMP BTNWK terkait gajah sumatera liar yang melintasi Desa Labuhan Ratu VII dan melakukan defekasi. Informasi lokasi pengambilan sampel didapatkan dari MMP BTNWK yang berkoordinasi dengan Dra. Elly Lestari Rustiati,

M.Sc. melalui grup *WhatsApp* (WAG) MMP BTNWK. Tim MMP BTNWK memiliki tugas utama dalam pemantauan dan penghalauan gajah sumatera liar yang memasuki kawasan pemukiman. Aktivitas defekasi merupakan aktivitas pengeluaran sisa hasil pencernaan melalui anus. Tanda dari telah dilakukannya aktivitas defekasi adalah keberadaan feses. Sebelum sampel diambil, tempat pengambilan sampel ditandai menggunakan *Global Positioning System* (GPS).

3.3.2 Preparasi Sampel

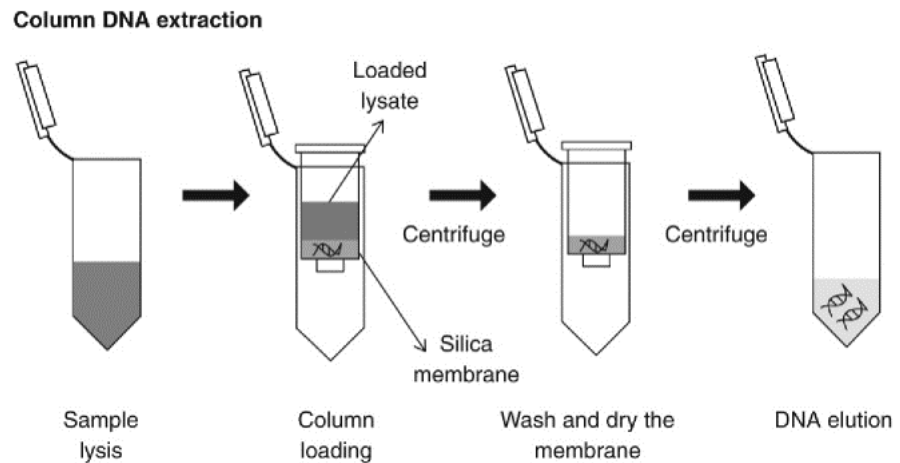
Preparasi dilakukan terhadap sampel yang telah diambil dengan metode *grinding* dan *swab*. Metode *grinding* dilakukan dengan cara mengambil bagian feses yang berlendir menggunakan stik kayu dan memasukkannya ke dalam mortar yang berisi 2 ml akuades. Feses dilarutkan menggunakan pestel. Larutan feses disaring menggunakan saringan untuk memisahkan pengotor. Larutan yang tidak tersaring akan masuk ke dalam mangkuk. Larutan tersebut dipindahkan ke dalam tabung *vacutainer* non EDTA 5 ml. Berbeda dengan metode *grinding*, metode *swab* dilakukan tanpa proses penggerusan. Metode *swab* dilakukan dengan cara mengambil bagian feses yang berlendir menggunakan stik kayu dan memasukkannya ke dalam tabung *vacutainer* non EDTA 5 ml yang berisi buffer PBS sebanyak 5 ml. Homogenisasi pada sampel dilakukan dengan cara mengocok tabung *vacutainer* sebanyak 5 – 10 kali.

Tabung *vacutainer* yang berisi sampel dibuat berada dalam keadaan vakum dengan cara menarik udara yang ada di dalamnya menggunakan *syringe*. Hal ini bertujuan untuk menghindari terbukanya tutup tabung (*pop up cap*) secara tidak sengaja. Untuk memperkuat tutup tabung, tutup tabung ditutup dengan

menggunakan pita perekat. Selanjutnya, tabung diberikan keterangan yang ditulis dengan spidol pada kertas tempel. Keterangan yang wajib dicantumkan meliputi tempat, tanggal, dan metode pengambilan sampel. Sampel disimpan di dalam lemari es yang berada di kediaman Chicka Refina Rahma Putri, S.Si., sebelum dibawa ke Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung di Bandarlampung.

3.3.3 Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan melalui empat tahapan, yaitu lisis, *binding*, *washing* atau purifikasi, dan *elution* (Gambar 24) menggunakan kit isolasi DNA yang berasal dari QIAGEN, *QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit catalog number 51604*, di dalam *biosafety cabinet* berdasarkan protokol bawaan yang ada (Gambar 25). Proses pemasukan sampel dan larutan buffer ke dalam *microtube* yang disusun dalam rak *microtube* dilakukan menggunakan mikropipet, sedangkan proses sentrifugasi dilakukan menggunakan *centrifuge*. Konsepnya, proses isolasi DNA diawali dengan proses penghancuran struktur sel (lisis) sehingga senyawa DNA bisa dikeluarkan dari sel. Senyawa DNA yang telah dikeluarkan akan mengalami proses pengikatan (*binding*) menggunakan silica gel. Proses *washing* bertujuan untuk menghilangkan kontaminan lain yang terdapat pada larutan, menyisakan senyawa DNA yang telah diikat pada silica gel. Selanjutnya, DNA yang terikat pada silica gel dilarutkan (*elution*) (QIAGEN, 2020).



Gambar 24. Konsep Isolasi DNA (Sumber: Cook *et al.*, 2016).



Gambar 25. Pelaksanaan isolasi DNA di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung.

Tahapan lisis dilakukan dengan cara memasukkan sampel sebanyak 200 μl ke dalam *microtube* yang berisi 1000 μl *inhibitex buffer*. *Inhibitex buffer* berperan dalam memisahkan molekul DNA dengan senyawa pengurai DNA dan penghambat proses PCR yang terdapat pada sampel feses (QIAGEN, 2020). Homogenisasi dilakukan pada suspensi menggunakan vortex selama 1 menit dan dilanjutkan sentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit. Sebanyak 600 μl dari 1200 μl suspensi yang sudah disentrifugasi diambil dan dimasukkan ke dalam *microtube* baru yang telah diisi dengan 25 μl proteinase K dan 600 μl *buffer AL*. Homogenisasi

dilakukan pada suspensi selama 15 detik. Suspensi diinkubasi di dalam *waterbath* selama 10 menit dengan suhu 70°C. Inkubasi bertujuan untuk memberikan kondisi optimal bagi enzim proteinase K untuk bekerja.

Tahapan *binding* dilakukan dengan cara menambahkan alkohol absolut sebanyak 600 µl ke dalam *microtube*. Suspensi dihomogenisasi selama 15 detik. Apabila sudah homogen, suspensi sebanyak 600 µl dipindahkan ke dalam *spin column* dan disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Tahapan ini diulang hingga suspensi yang ada di dalam *microtube* habis. *Collection tubes* diganti dengan yang baru setelah sentrifugasi selesai dilakukan.

Tahapan *washing* atau presipitasi dilakukan dua kali dengan cara menambahkan *buffer* AW1 dan *buffer* AW2. Presipitasi pertama dilakukan dengan cara menambahkan *buffer* AW1 sebanyak 500 µl ke dalam *spin column*. Sentrifugasi dilakukan pada suspensi menggunakan *centrifuge* selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. *Collection tubes* diganti dengan yang baru setelah proses sentrifugasi selesai. Presipitasi kedua dilakukan cara yang kurang lebih sama. Perbedaannya terdapat pada *buffer* yang digunakan, yaitu *buffer* AW2 dan lama sentrifugasi, yaitu 3 menit. *Collection tubes* diganti dengan *microtube* setelah tahapan ini dilaksanakan.

Tahapan *elution* atau purifikasi dilakukan dengan cara menambahkan *buffer* ATE sebanyak 100 µl. Suspensi tersebut diinkubasi pada suhu ruangan selama 1 menit dan disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Penyimpanan isolat DNA bisa dilakukan dalam *freezer* dengan suhu -20°C agar DNA tidak rusak.

3.3.4 Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dilakukan melalui *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan *thermal cycler* dan bertujuan untuk menggandakan segmen DNA tertentu. Amplifikasi bertujuan untuk memperbanyak gen target, yaitu gen COI. Tahapan amplifikasi DNA dilakukan dalam tiga tahapan, yaitu pembuatan *master mix*, *template addition*, dan *running PCR*.

Pembuatan *master mix* merupakan proses pencampuran reagen yang dibutuhkan untuk menjalankan reaksi PCR. Proses ini dilakukan di dalam *PCR work station* (Gambar 26). Terdapat empat reagen yang dicampurkan pada proses ini, yaitu 10 μ l MyTaqTM HS Red Mix, 0,8 μ l *forward primer* dengan konsentrasi 100 nM, 0,8 μ l *reverse primer* dengan konsentrasi 100 nM, dan 3,4 μ l *nuclease-free water*. Ketiga reagen tersebut dimasukkan ke dalam *PCR tube* 0,2 ml. Primer yang digunakan merupakan primer yang spesifik pada gen COI gajah sumatera (Tabel 1). Dengan menggunakan primer tersebut, akan didapatkan DNA dengan ukuran molekul 708 bp. Apabila ditinjau pada *whole genome* DNA mitokondria gajah sumatera yang memiliki ukuran molekul 16902 bp, *forward primer* akan menempel pada nukleotida ke-5351 hingga nukleotida ke-5375 dan *reverse primer* akan menempel pada nukleotida ke-6036 hingga nukleotida ke-6059. Sentrifugasi dilakukan pada reagen di dalam *PCR tube* menggunakan *spin down* untuk memastikan bahwa tidak ada reagen yang berada di dinding tabung dan tidak tercampur dengan reagen lainnya.

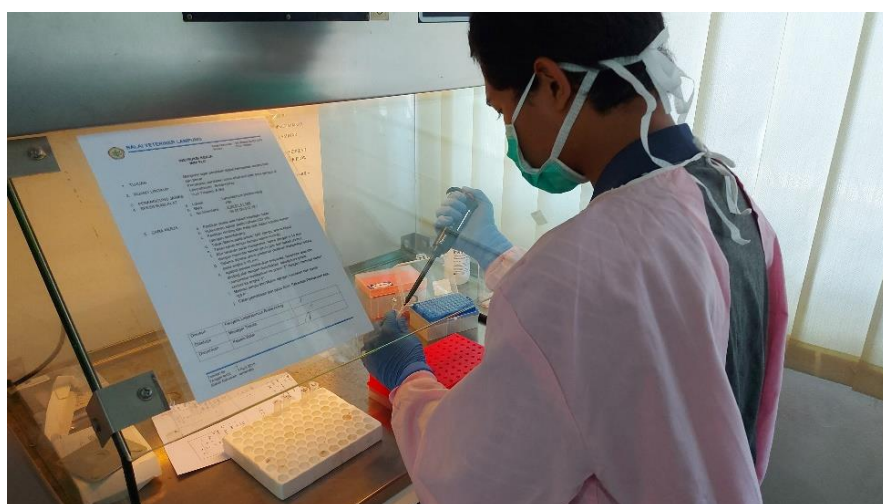


Gambar 26. Pelaksanaan *master mix* di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung.

Tabel 1. Urutan basa nitrogen primer gen COI gajah sumatera

Primer	Urutan Basa Nitrogen
<i>Forward</i>	5' GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG 3'
<i>Reverse</i>	5' TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAT 3'

Template addition merupakan tahapan pencampuran 5 µl isolat DNA dengan *master mix* yang telah disiapkan (Gambar 27). Tahapan ini dilakukan di ruangan yang berbeda dengan pembuatan *master mix*.



Gambar 27. Pelaksanaan *template addition* di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung.

Running PCR merupakan proses menjalankan reaksi PCR di dalam *thermocycler*. Reaksi PCR diawali dengan *denaturation*, yaitu proses pemutusan ikatan hidrogen yang menghubungkan basa nitrogen pada kedua untai DNA dengan bantuan suhu tinggi sehingga terbentuk dua untai DNA tunggal. Penempelan primer, senyawa nukleotida pendek dengan panjang 18-24 bp, pada kedua untai DNA tunggal akan menginisiasi proses replikasi (*annealing*). Replikasi DNA akan dilanjutkan dengan bantuan enzim Taq DNA Polymerase (*extension*). Adapula proses tambahan pada awal dan akhir reaksi, yaitu *pre-denaturation* dan *post extension*. Tahapan *pre-denaturation* bertujuan untuk meyakinkan bahwa DNA untai ganda telah terpisah menjadi DNA untai tunggal secara sempurna sehingga *DNA template* bisa digunakan secara efisien pada siklus amplifikasi pertama, sedangkan *post extension* sebagai penyempurnaan proses *extension* dalam siklus amplifikasi terakhir (Pestana *et al.*, 2010). Untuk menjalankan reaksi PCR, *thermal cycler* diatur dengan siklus sebagai berikut Siklus 1 (1x): 95°C selama 5 menit, Siklus 2 (39x) Tahapan 1: 94°C selama 20 detik, Tahapan 2: 50°C selama 45 detik, Tahapan 3: 72°C selama 1 menit, Siklus 3 (1x): 72°C selama 7 menit, Siklus 4 (1x): 12°C.

3.3.5 Elektroforesis dan Visualisasi

Elektroforesis dilakukan dengan cara mengaliri DNA yang ada di dalam sumur gel agarosa yang berada di dalam wadah dengan arus listrik (Gambar 28). Gel agarosa 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 g bubuk gel agarosa dalam 100 ml larutan TAE sambil dipanaskan di dalam *microwave* selama tiga menit. Setelah itu, larutan ditambahkan dengan SYBR[®] *safe DNA gel stain* sebanyak 10 µl. Kemudian, larutan agar dimasukkan ke dalam cetakan yang telah diberikan sisir. Larutan tersebut dibiarkan selama 30 menit hingga mengeras.



Gambar 28. Pelaksanaan elektroforesis di Laboratorium Bioteknologi Balai Veteriner Lampung.

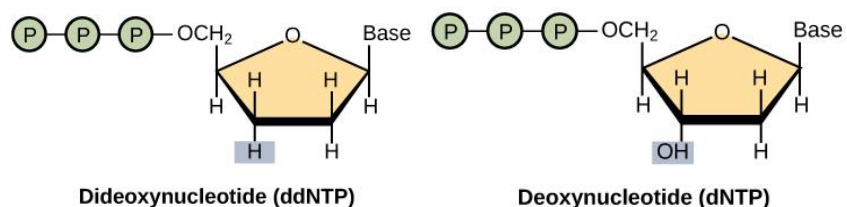
Agar yang sudah padat dimasukkan ke dalam *chamber*. Sampel sebanyak 6 μl dimasukkan ke dalam sumur yang ada di dalam agar. *DNA marker* sebanyak 6 μl juga dimasukkan ke dalam sumur tersendiri sebagai data dasar terkait ukuran molekul DNA yang didapatkan setelah proses amplifikasi. *Chamber* disambungkan pada *power supply*. Proses elektroforesis dijalankan selama 30 menit dengan tegangan 100 V dan kuat arus 300 A. Hasil elektroforesis divisualisasikan di bawah sinar *bluelight* dan difoto dengan menggunakan kamera yang sudah terhubung dengan komputer melalui aplikasi *EOS Utility*. Pengamatan dilakukan untuk melihat keberadaan pita DNA pada gel agarosa.

3.3.6 Sekuensing

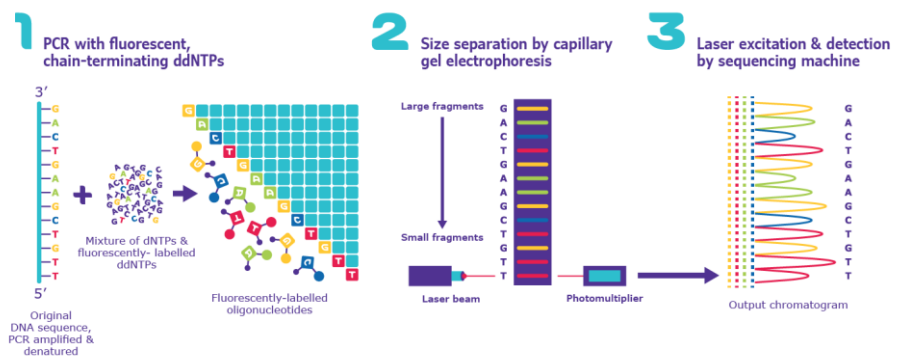
Proses sekuensing bertujuan untuk mengetahui urutan basa nitrogen pada DNA sampel yang ada. Sekuensing dilakukan dengan cara mengirimkan sampel ke PT Genetika Science Indonesia. Sampel yang dikirimkan dikemas dalam kotak berisi silica gel. Kedua

primer juga disertakan dalam kotak tersebut. Pada kotak tersebut, dicantumkan identitas pengirim dan penerima.

Proses sekuensing dilakukan di dalam alat bernama *sequencer* dengan cara memodifikasi proses PCR. Sampel DNA dalam tabung ditambahkan dengan enzim DNA Polimerase dan deoksinukleotida trifosfat (dNTP), yang terdiri dari dATP, dGTP, dCTP, dan dTTP sebagai penyusun molekul DNA baru. Adapun senyawa lain yang ditambahkan, yaitu dideoksinukleotida trifosfat (ddNTP), yang terdiri dari ddATP, ddGTP, ddCTP, dan ddTTP, yang masing-masing disertai dengan penanda fluoresen dengan warna yang berbeda. Perbedaan antara senyawa dNTP dan ddNTP adalah tidak adanya gugus hidroksil pada karbon ketiga gula pentosa (Gambar 29). Ketiadaan gugus hidroksil tersebut akan menyebabkan tidak berlanjutnya proses elongasi pada untai DNA tersebut karena gugus fosfat tidak bisa menempel pada untai DNA tersebut sehingga didapatkan hasil amplifikasi DNA dengan ukuran yang bervariasi. Setelah proses PCR dalam sekuensing selesai dijalankan, elektroforesis kapiler akan dilakukan untuk mengurutkan senyawa DNA berdasarkan ukuran molekulnya. *Sequencer* dilengkapi dengan laser dan detektor yang berfungsi untuk mendeteksi penanda fluoresen yang terdapat pada untai DNA hasil amplifikasi (Gambar 30) (Hofmann and Clokie, 2018).



Gambar 29. Perbedaan ddNTP dan dNTP (Sumber: openstax, 2021).



Gambar 30. Proses Sekuensing (Sumber: Sigma-Aldrich, 2021).

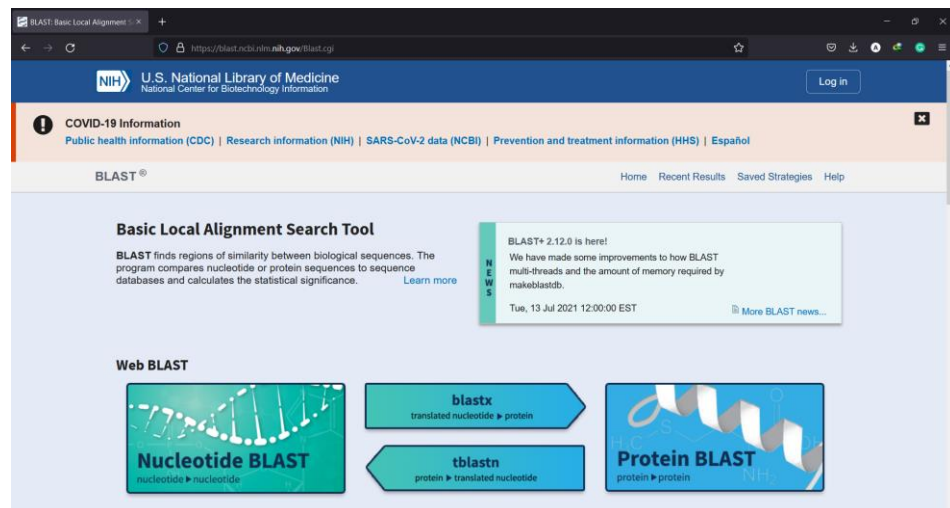
3.4 Analisis Data

Hasil proses sekuensing akan dikirimkan oleh PT Genetika Science Indonesia dalam bentuk elektroferogram dan *AB1 file*. Sebelum melakukan analisis pada hasil sekuensing, dilakukan pembacaan pada elektroferogram untuk mengetahui keberhasilan proses sekuensing. Uji *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) dilakukan untuk memastikan hasil sekuensing tersebut sesuai dengan target yang diinginkan. Hasil proses sekuensing dianalisis menggunakan perangkat lunak *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* versi kesepuluh (MEGA X) yang diawali dengan perunutan basa nitrogen (*alignment*), analisis jarak genetik, dan konstruksi pohon filogenetik. Data yang didapatkan dari analisis hasil sekuensing adalah runutan basa nitrogen, nilai jarak genetik, nilai homologi, dan pohon filogenetik.

3.4.1. Uji BLAST

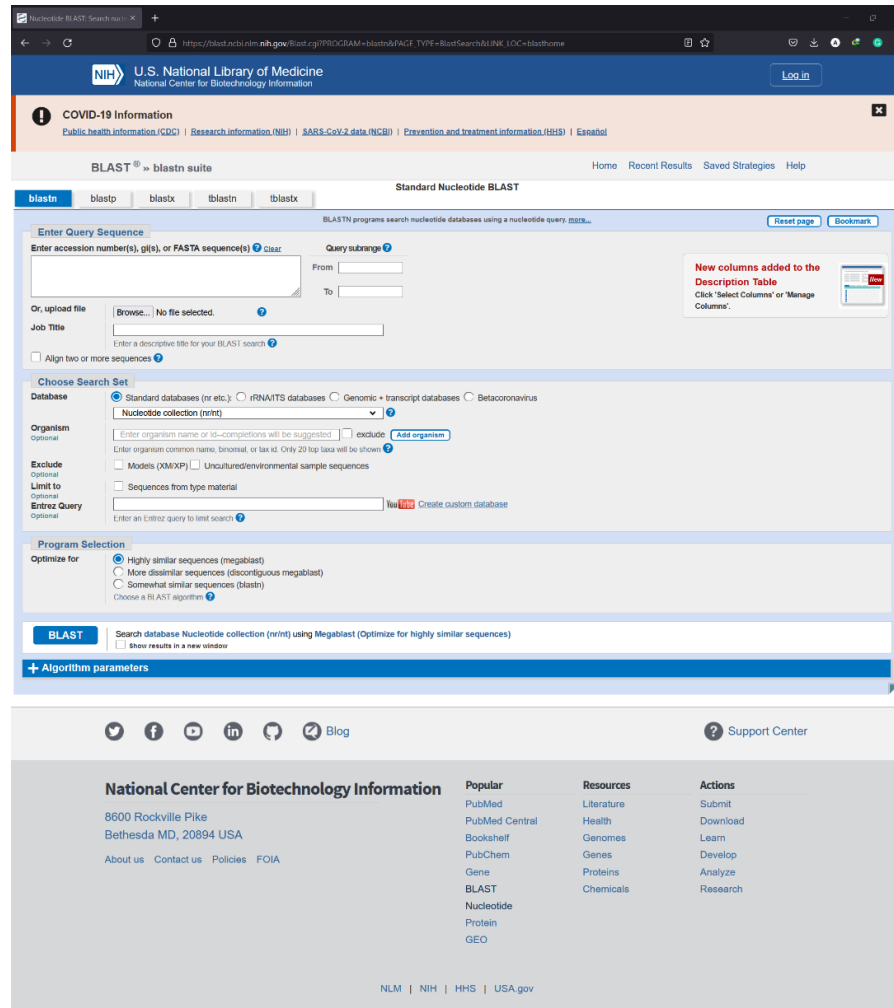
Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) adalah program pencari yang dapat diakses di internet untuk melihat kesamaan (Altschul *et al.*, 1990) suatu sekuen (*query sequence*) dan sekuen *data base* dalam GenBank (*subject sequence*) (Sjafaraenan dkk.,

2018). Program BLAST bisa diakses melalui *browser* dengan tautan <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (Gambar 31).



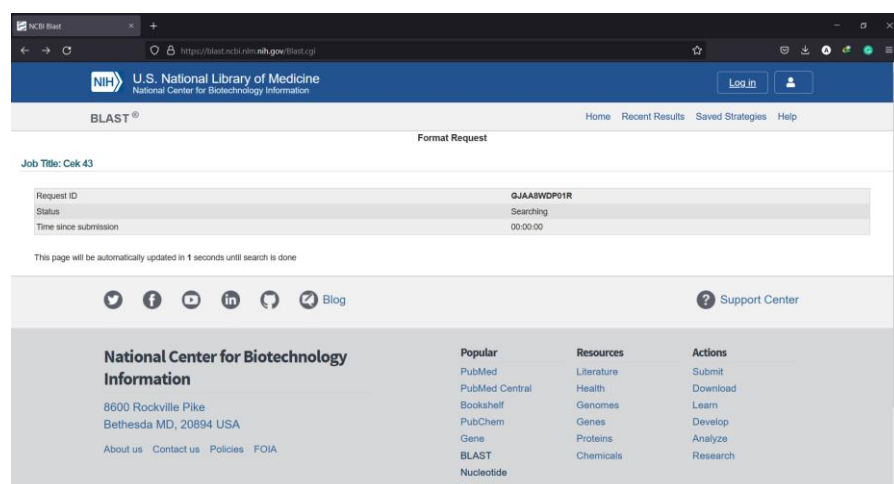
Gambar 31. Langkah pertama melakukan uji BLAST.

Pilihan “*Nucleotide BLAST*” dipilih untuk melakukan uji BLAST pada sekuen nukleotida (Gambar 32). Sekuen DNA yang ingin diuji, yaitu sekuen hasil sekuensing bisa dimasukkan pada bagian “*Enter Query Sequence*” di kolom “*Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s)*” atau bisa diunggah secara langsung dengan memilih tombol “*Browse*” dan memilih *fasta file* (.txt) yang diinginkan. Tombol “BLAST” diklik untuk melakukan pencarian. Tampilan berikut akan muncul selama proses pencarian berlangsung (Gambar 33). Selesaiya proses pencarian ditandai dengan adanya tampilan berikut, pada bagian “*Descriptions*” terdapat daftar sekuen *data base* yang memiliki kemiripan dengan sekuen yang dimasukkan. Sekuen yang paling mirip akan berada pada posisi paling atas dari daftar tersebut. Nilai kesamaan dapat dilihat pada kolom “*Percent Identity*” atau yang dalam tabel tersebut tertulis “*Per. Ident*” (Gambar 34).



The screenshot shows the NCBI BLAST search interface. The page title is "Standard Nucleotide BLAST". The main form is titled "Enter Query Sequence" and includes a text input field for the query sequence, a "Browse..." button for uploading a file, and a "Job Title" field. Below this is the "Choose Search Set" section, which includes a "Database" dropdown menu set to "Nucleotide collection (nr/nt)", an "Organism" field, and an "Exclude" section with checkboxes for "Models (MMXP)" and "Sequences from type material". The "Program Selection" section has radio buttons for "Highly similar sequences (megablast)", "More dissimilar sequences (discontiguous megablast)", and "Somewhat similar sequences (blastn)". The "BLAST" button is highlighted in blue. Below the form is a footer section with social media icons, a "Support Center" link, and a navigation menu for the National Center for Biotechnology Information, including links to "Popular", "Resources", and "Actions".

Gambar 32. Langkah kedua melakukan uji BLAST.

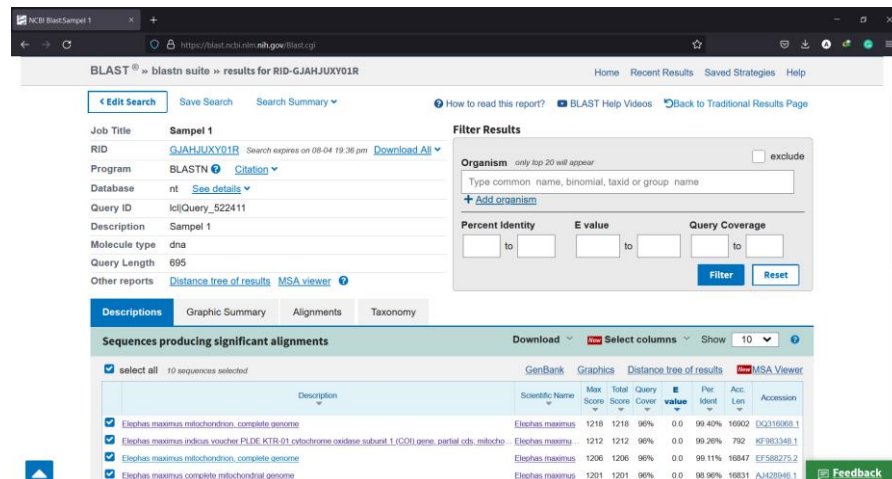


The screenshot shows the NCBI BLAST search interface during the search process. The page title is "Format Request". The main content area displays the following information:

Request ID	GJAA8WDP01R
Status	Searching
Time since submission	00:00:00

Below the table, it states: "This page will be automatically updated in 1 seconds until search is done". The footer section is identical to the previous screenshot, showing social media icons, a "Support Center" link, and a navigation menu for the National Center for Biotechnology Information.

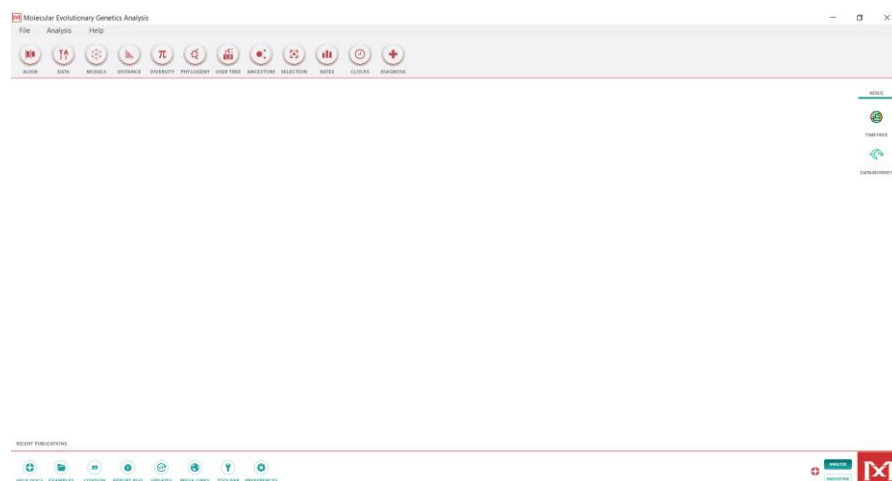
Gambar 33. Langkah ketiga melakukan uji BLAST.



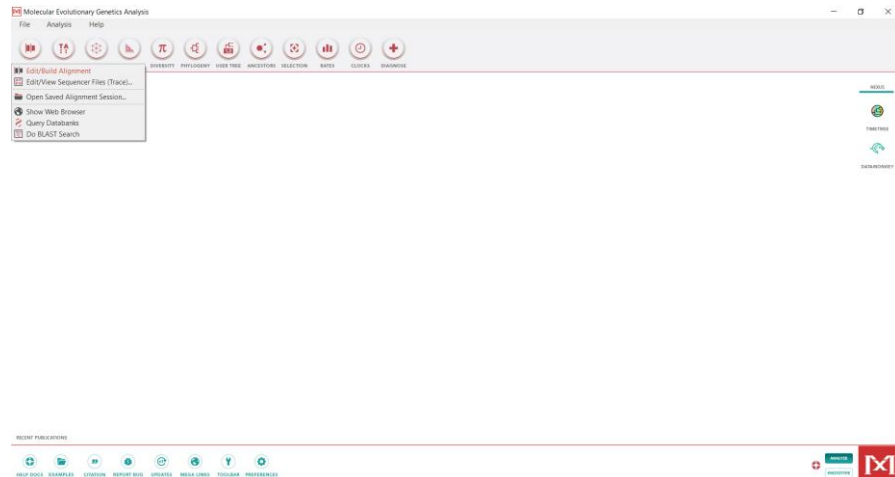
Gambar 34. Langkah keempat melakukan uji BLAST.

3.4.2. Merunut Urutan Basa Nitrogen

Elektroforegram yang didapatkan dari PT Genetika Science Indonesia berada dalam bentuk *AB1 file*. Perunutan urutan basa nitrogen bertujuan untuk mengubah *AB1 file* menjadi *fasta file* (.txt). Tahapan ini diawali dengan membuka aplikasi MEGA X (Gambar 35) dan membuka menu *Align* dan memilih opsi “*Edit/Build Alignment*” (Gambar 36).

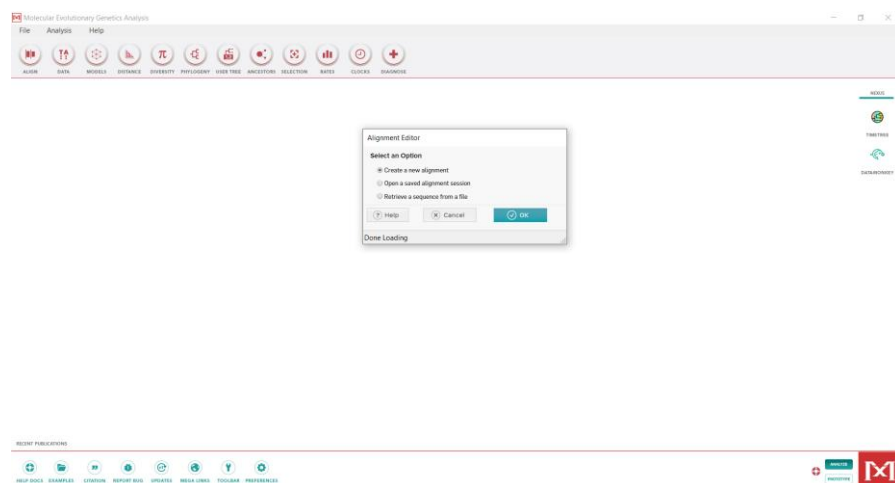


Gambar 35. Tampilan aplikasi MEGA X.

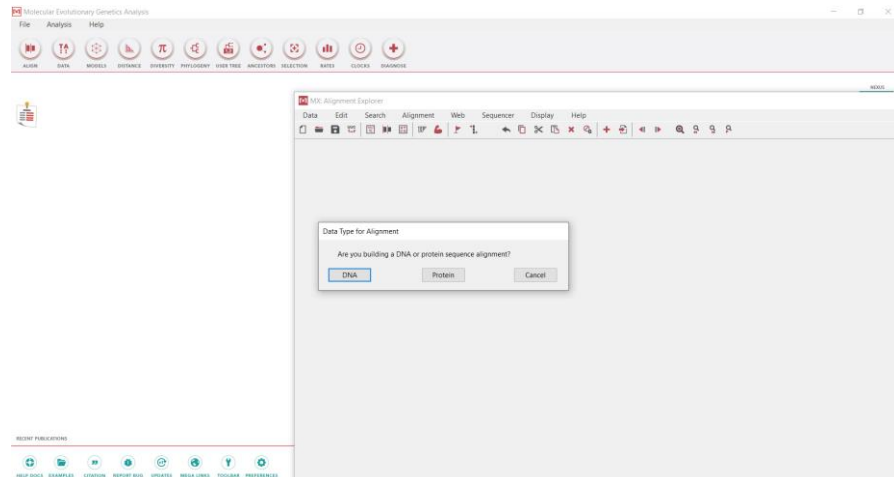


Gambar 36. Tahapan pertama merunut basa nitrogen.

Selanjutnya, jendela *Alignment Editor* akan terbuka. Opsi “*Create a new alignment*” dipilih untuk membuat *alignment* baru (Gambar 37). Untuk dapat merunut basa nitrogen pada molekul DNA, opsi “DNA” dipilih pada jendela *Data Type for Alignment* (Gambar 38).

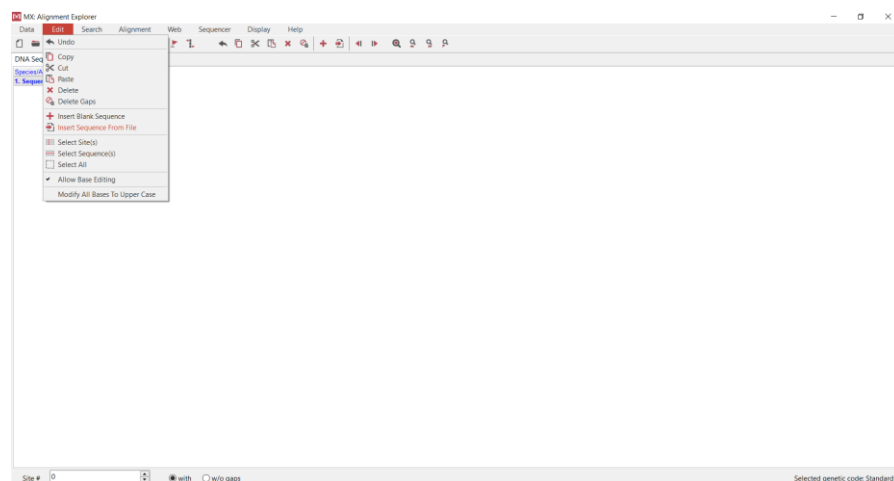


Gambar 37. Tahapan kedua merunut basa nitrogen.

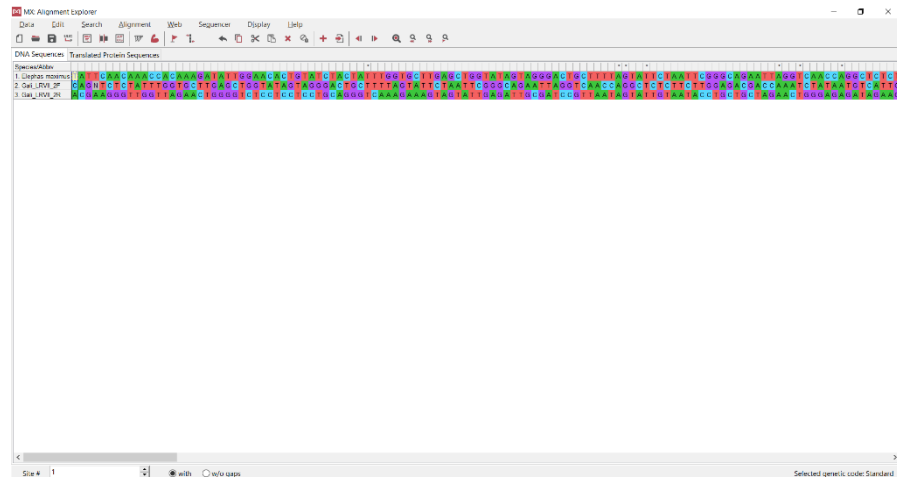


Gambar 38. Tahapan ketiga merunut basa nitrogen.

Jendela Alignment Explorer akan terbuka. Sekuen gen COI konsensus, yaitu *Elephas maximus indicus*, dan sekuen gen COI hasil sekuensing, baik sekuen *forward* maupun sekuen *reverse*, dapat dimasukkan dengan cara memilih opsi “*Insert Sequence From File*” pada menu *Edit* atau menekan Ctrl+I (Gambar 39). Setelah sekuen dimasukkan, terlihat tampilan sebagai berikut (Gambar 40).

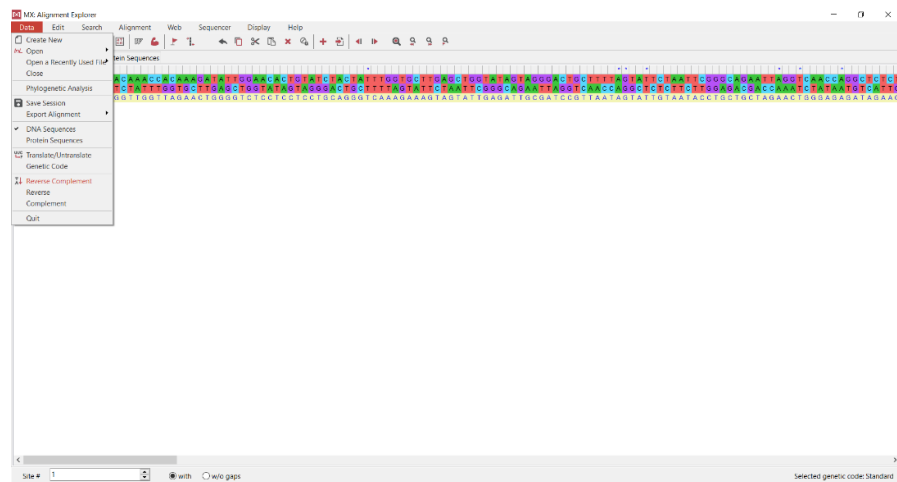


Gambar 39. Tahapan keempat merunut basa nitrogen.

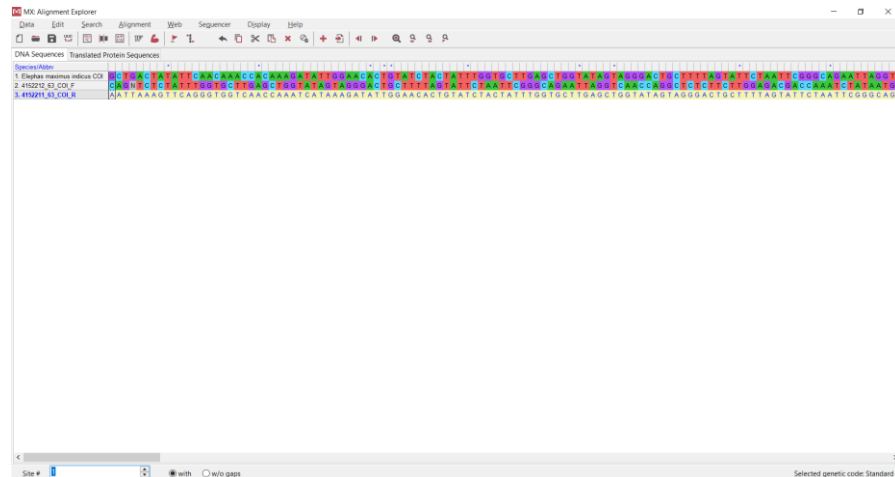


Gambar 40. Tampilan sekuen basa nitrogen gajah sumatera liar pada aplikasi MEGA X.

Reverse complement dilakukan pada sekuen *reverse* dengan cara memilih sekuen *reverse* lalu memilih opsi “*Reverse Complement*” pada menu Data (Gambar 41) sehingga didapatkan tampilan sebagai berikut (Gambar 42).

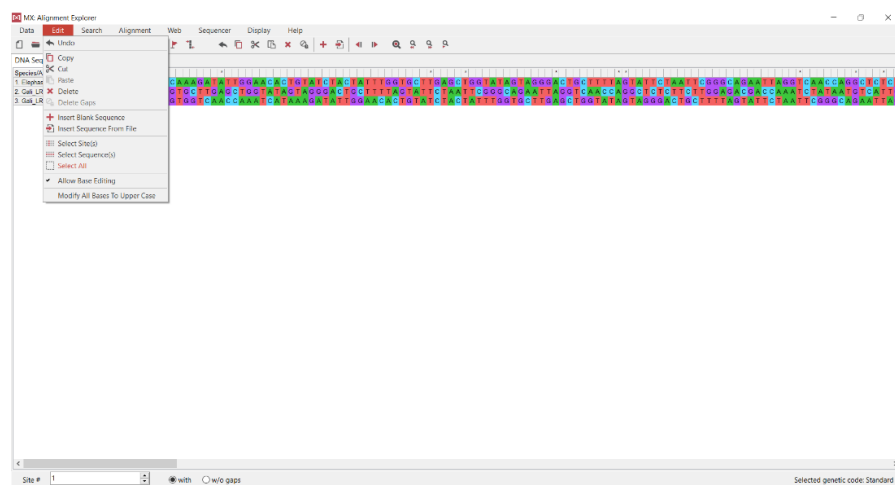


Gambar 41. Tahapan kelima merunut basa nitrogen.

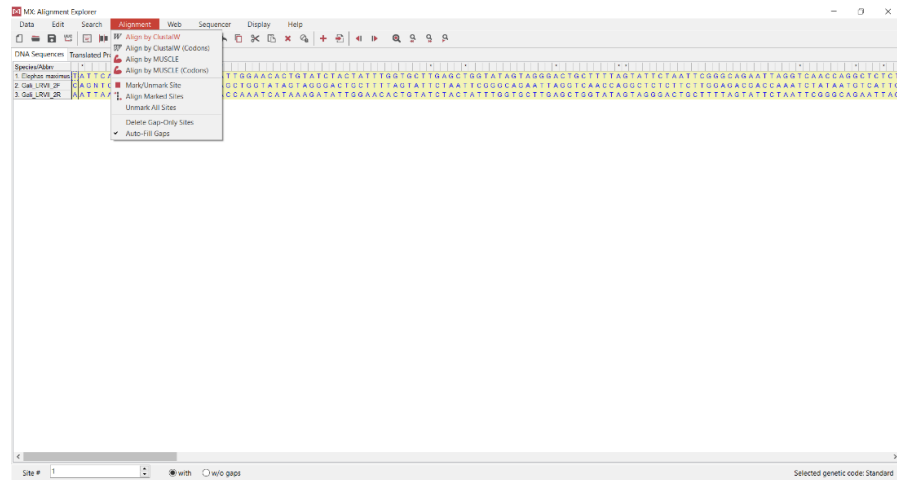


Gambar 42. Tampilan sekuen basa nitrogen gajah sumatera liar pada aplikasi MEGA X setelah dilakukan *reverse complement* pada sekuen *reverse*.

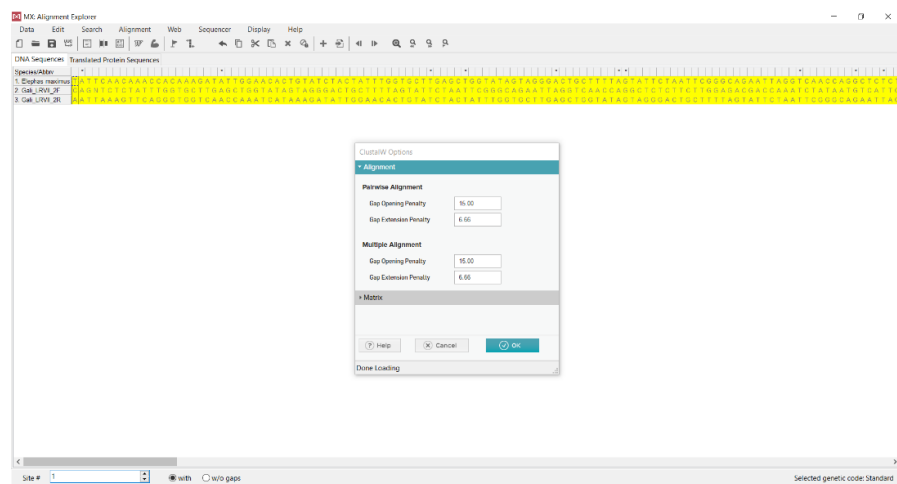
Multiple alignment dilakukan terhadap seluruh sekuen. Hal ini dilakukan dengan memilih seluruh sekuen dengan cara memilih opsi “*Select All*” pada menu *Edit* atau menekan Ctrl+A (Gambar 43). Opsi “*Align by ClustalW*” pada menu *Alignment* dipilih (Gambar 44) dan tombol “*OK*” pada jendela *ClustalW Options* dipilih untuk melanjutkan proses *multiple alignment* (Gambar 45). Tidak ada pengaturan *default* yang perlu diubah pada jendela tersebut. Hasil runutan basa nitrogen akan terlihat setelah *multiple alignment* dilakukan (Gambar 46).



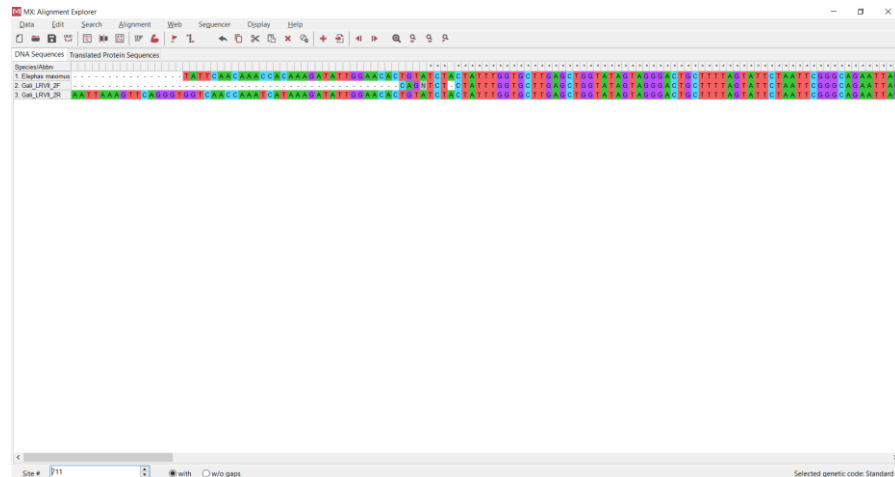
Gambar 43. Tahapan keenam merunut basa nitrogen.



Gambar 44. Tahapan ketujuh merunut basa nitrogen.

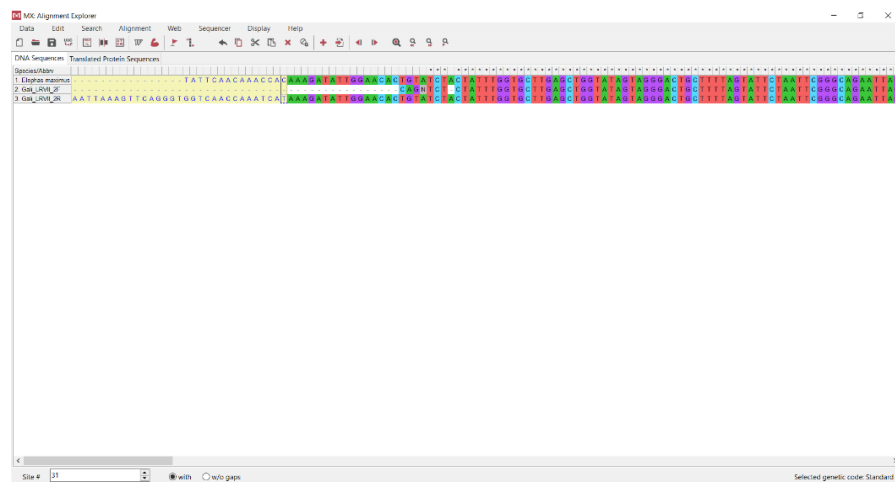


Gambar 45. Tahapan kedelapan merunut basa nitrogen.

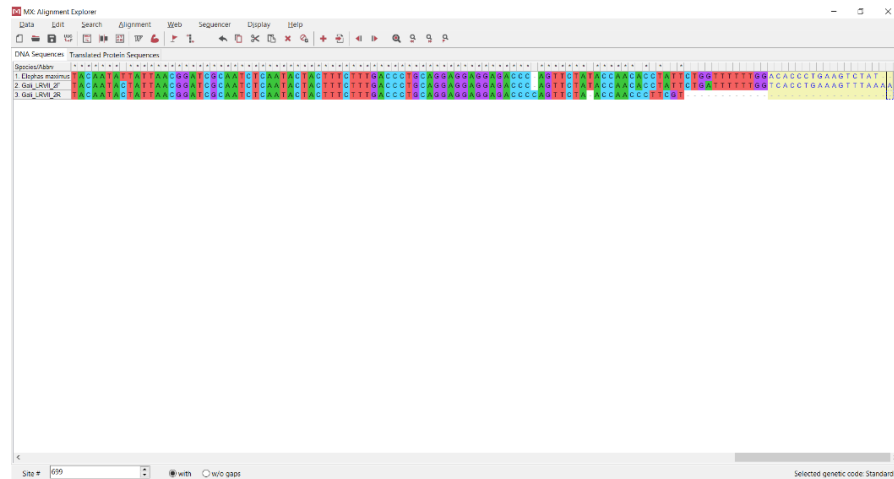


Gambar 46. Hasil runutan basa nitrogen gajah sumatera pada aplikasi MEGA X setelah dilakukan *multiple alignment*.

Perunutan basa nitrogen dilanjutkan dengan melakukan penghapusan deretan kosong pada hasil runutan pada situs pertama hingga situs yang menunjukkan kesamaan basa nitrogen antar sekuen (Gambar 47). Hal yang sama juga dilakukan pada situs terakhir (Gambar 48).

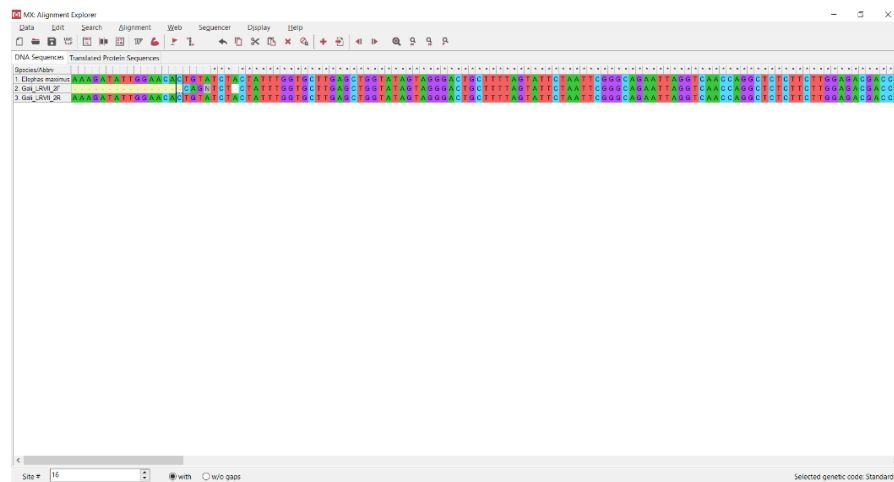


Gambar 47. Tahapan kesembilan merunut basa nitrogen.



Gambar 48. Tahapan kesepuluh merunut basa nitrogen.

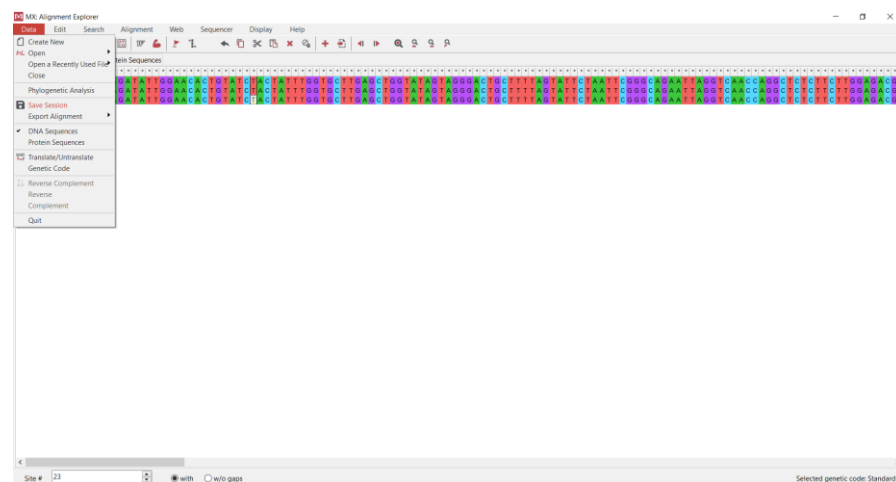
Kemudian, peruntutan basa nitrogen dilanjutkan dengan pengisian situs bersimbol “-“ atau “N” dengan basa nitrogen yang sama dengan deret atas atau bawahnya (Gambar 49).



Gambar 49. Langkah kesebelas merunut basa nitrogen.

Apabila pengisian situs sudah selesai, perbandingan sekuen dilakukan. Perbandingan sekuen basa nitrogen sampel dengan sekuen pembanding dilakukan pada urutan basa nitrogen yang tidak berbintang. Penggantian basa nitrogen dilakukan apabila terdapat perbedaan pada salah satu sekuen sampel (*forward* atau *reverse*) dengan dua sekuen lainnya, yaitu sekuen pembanding dan salah satu sekuen lainnya. Penggantian basa nitrogen tidak dilakukan apabila

terdapat perbedaan pada ketiga sekuen, yaitu sekuen pembanding, sekuen *forward*, dan sekuen *reverse*, atau sekuen pembanding berbeda dengan kedua sekuen sampel. Penggantian basa nitrogen bisa dilakukan dengan menuliskan kode basa nitrogen (A/T/G/C) dan menekan tombol *delete*. Salah satu sekuen basa nitrogen sampel yang sudah dibandingkan dengan sekuen pembanding bisa disimpan dalam notepad dengan format “> Nama Sampel_LRVII”. Semua tahapan ini dilakukan hingga semua sekuen nitrogen pada tiap sampel telah dirunut. Selanjutnya, pembuatan *mas file* dilakukan dengan cara memasukkan sekuen pembanding dan sekuen sampel yang telah dirunut dan menyimpannya dengan cara memilih opsi “*Save Session*” pada menu *Data* (Gambar 50). Jendela *alignment explorer* dapat ditutup untuk melanjutkan proses selanjutnya.

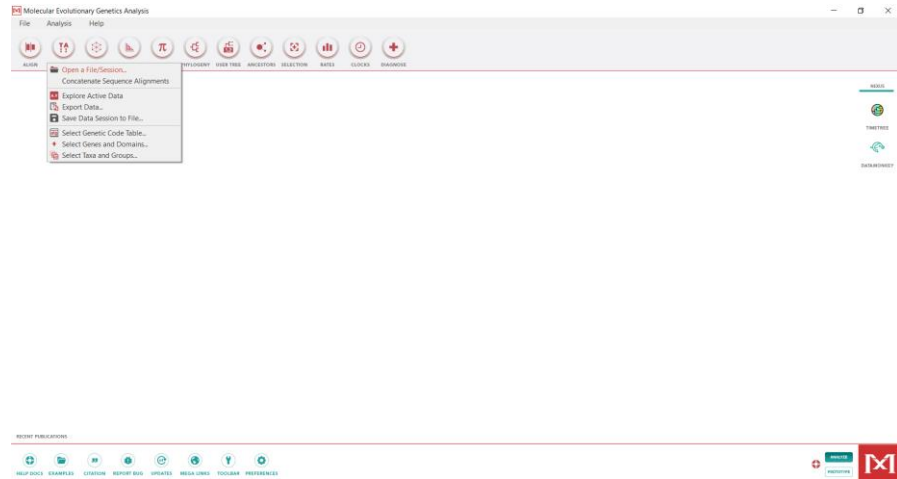


Gambar 50. Langkah keduabelas merunut basa nitrogen.

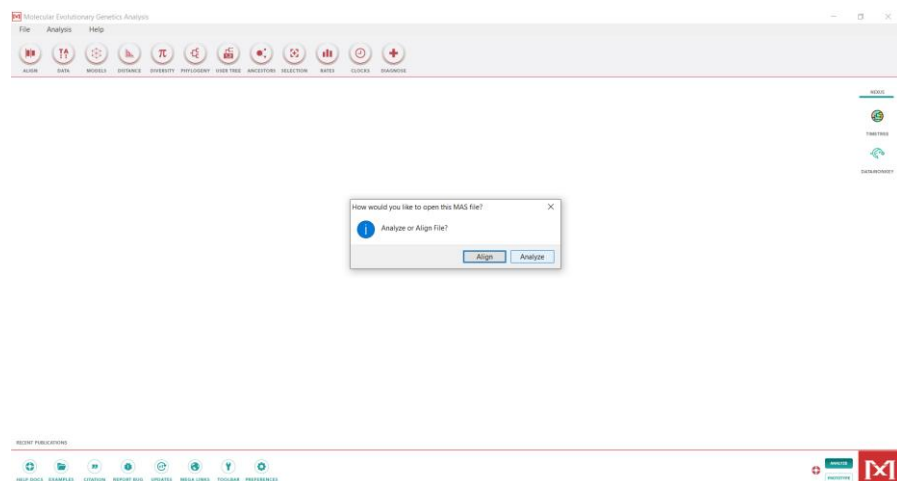
3.4.3. Melakukan Analisis Jarak Genetik

Analisis jarak genetik dapat dilakukan dengan cara memilih opsi “*Open a File/Session*” pada menu *Data* dan memilih sesi yang telah disimpan (Gambar 51). Kemudian, tombol “*Analyze*” diklik (Gambar 52). Setelah itu, tombol “*Yes*” diklik (Gambar 53). Runutan basa nitrogen akan muncul pada jendela *Sequence Data*

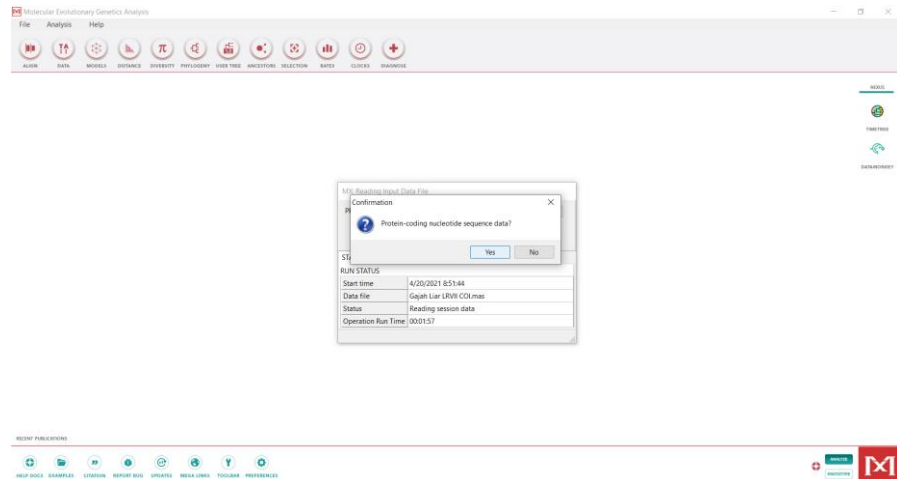
Explorer (Gambar 54). Kesamaan basa nitrogen antar individu ditandai dengan tanda titik.



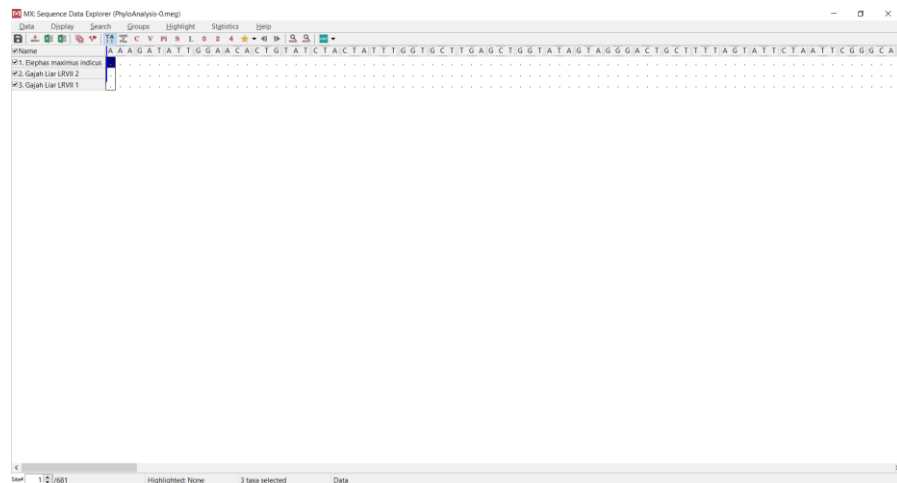
Gambar 51. Langkah pertama menganalisis jarak genetik.



Gambar 52. Langkah kedua menganalisis jarak genetik.

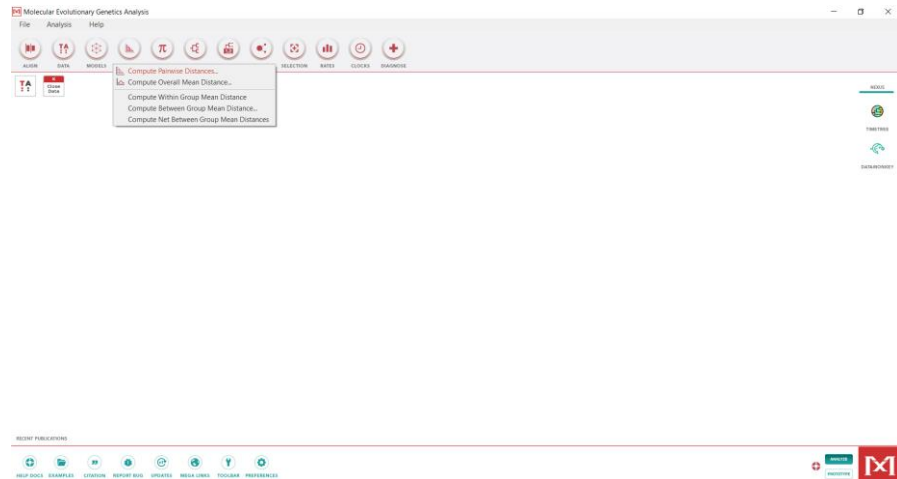


Gambar 53. Langkah ketiga menganalisis jarak genetik.

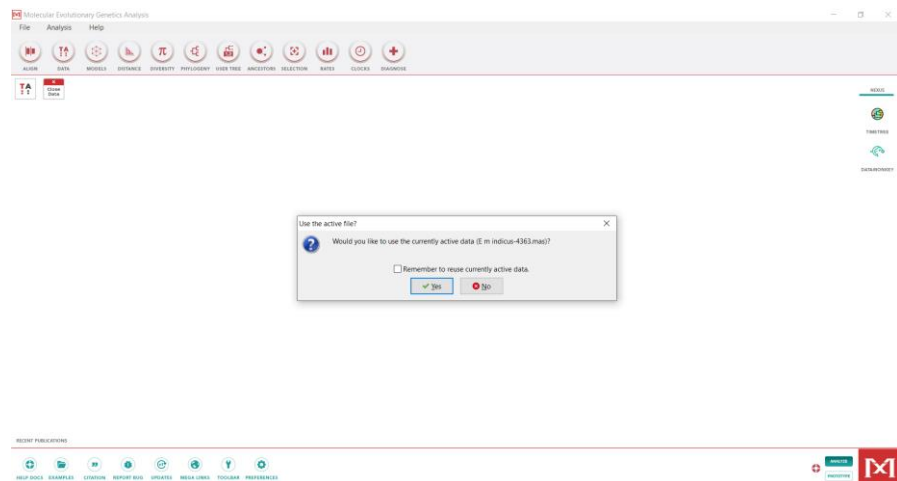


Gambar 54. Langkah keempat menganalisis jarak genetik.

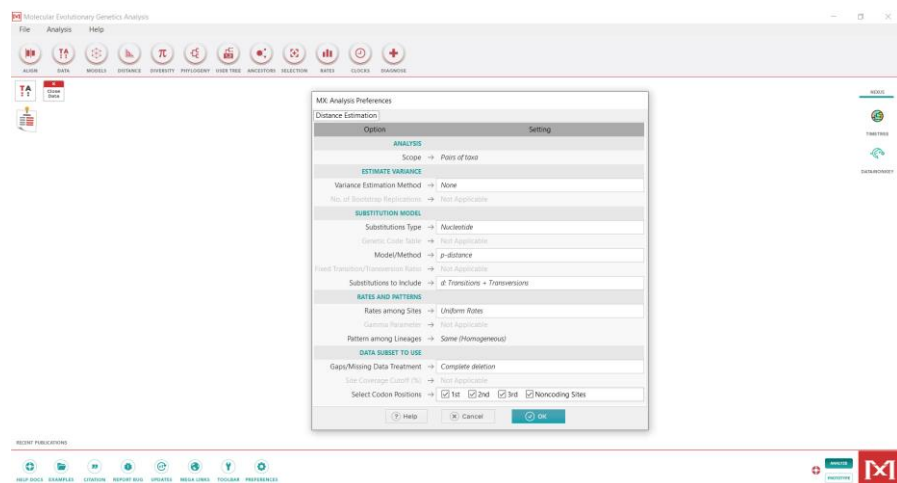
Selanjutnya, opsi “*Compute Pairwise Distance*” pada menu *Distance* di jendela utama dipilih (Gambar 55) dan mengklik tombol “Yes” (Gambar 56). Tombol “OK” pada jendela *Analysis Preferences* diklik dengan mengubah pengaturan *Model/Method* menjadi *p-distance* (Gambar 57). Nilai jarak genetik dan homologi antar individu gajah sumatera liar akan muncul pada jendela *Pairwise Distances* (Gambar 58).



Gambar 55. Langkah kelima menganalisis jarak genetik.



Gambar 56. Langkah keenam menganalisis jarak genetik.



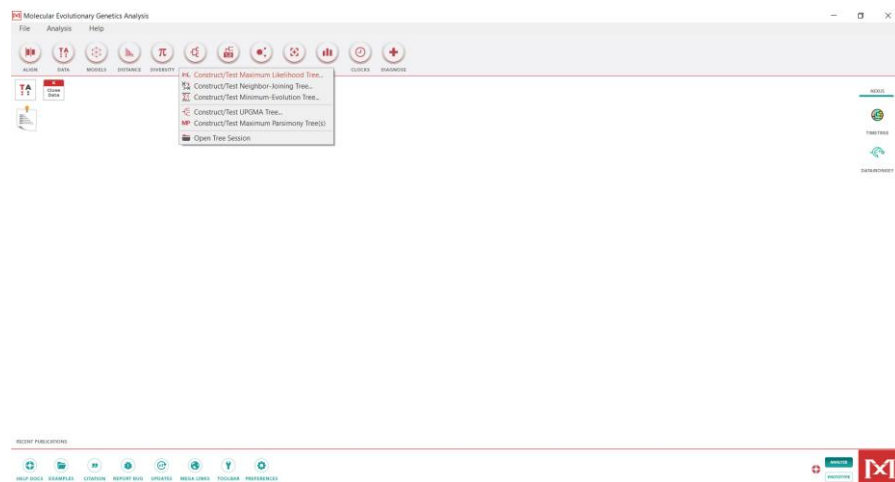
Gambar 57. Langkah ketujuh menganalisis jarak genetik.

	1	2	3
1. Elaphis maximus indicus	0	0.0820453407	0.0020411765
2. Gagah Liar LRV2	0.0820453407	0	0.0000000000
3. Gagah Liar LRV1	0.0020411765	0.0000000000	0

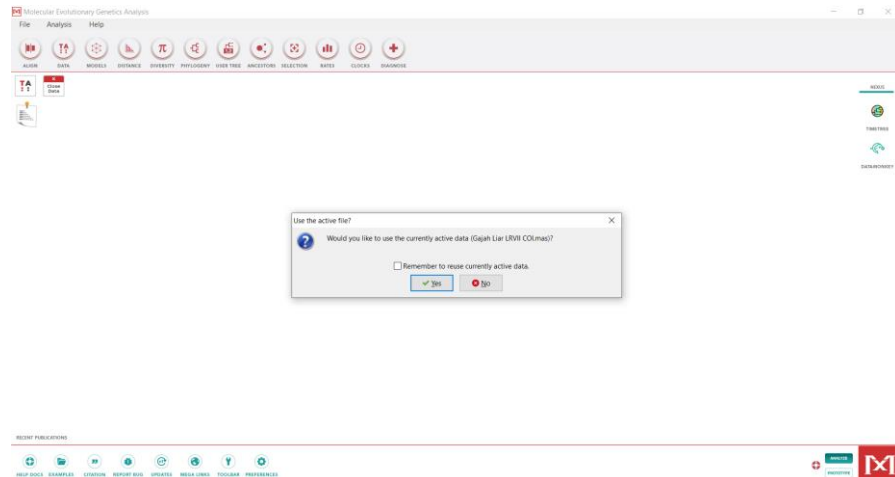
Gambar 58. Langkah kedelapan menganalisis jarak genetik.

3.4.4. Penyusunan Konstruksi Pohon Filogenetik

Pembuatan konstruksi pohon filogenetik dapat dibuat dengan cara memilih opsi “*Construct/Test Maximum Likelihood Tree*” pada menu *Phylogeny* (Gambar 59) dan mengklik tombol “*Yes*” (Gambar 60).

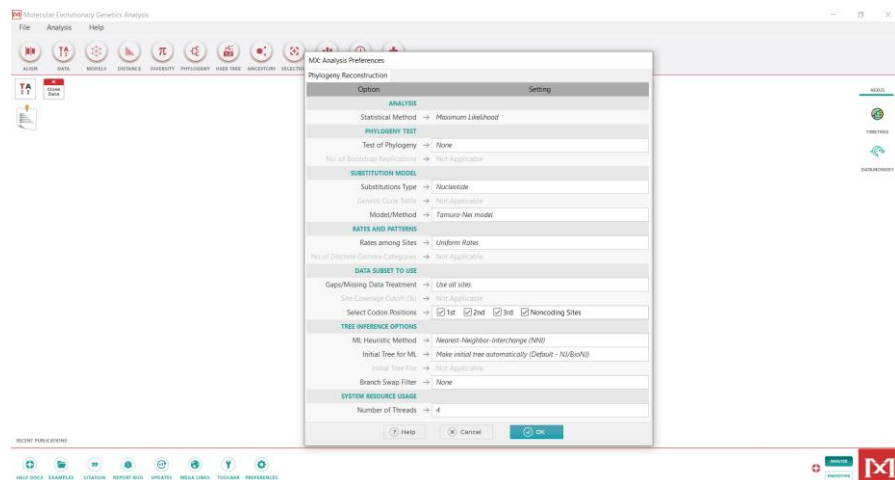


Gambar 59. Langkah pertama membuat konstruksi pohon filogenetik.



Gambar 60. Langkah kedua membuat konstruksi pohon filogenetik.

Kemudian, tombol “OK” diklik tanpa mengubah pengaturan *default* (Gambar 61). Pohon filogenetik yang terbentuk akan terlihat pada jendela *Tree Explorer* (Gambar 62).



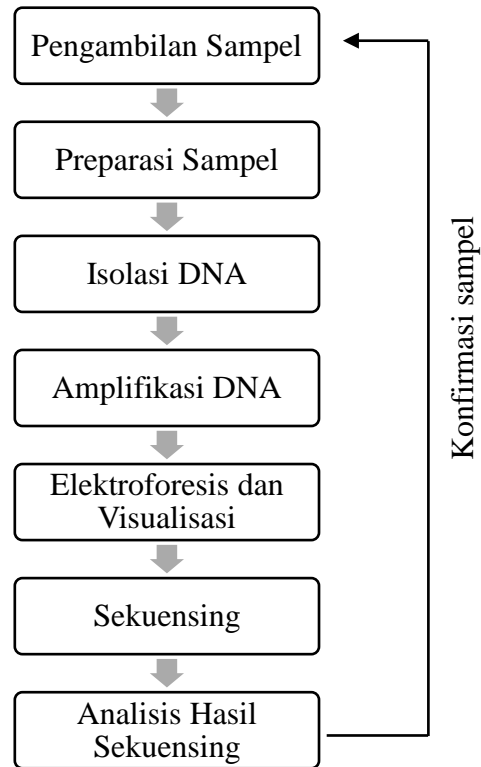
Gambar 61. Langkah ketiga membuat konstruksi pohon filogenetik.



Gambar 62. Langkah keempat membuat konstruksi pohon filogenetik.

3.5 Diagram Alir Penelitian

Penelitian yang dilakukan didasarkan pada diagram alir berikut (Gambar 63).



Gambar 63. Diagram alir kajian berbasis kotoran gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) liar di perbatasan Taman Nasional Way Kambas-Desa Labuhan Ratu VII berdasarkan gen COI.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian “Kajian DNA Berbasis Kotoran Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Liar di Perbatasan Taman Nasional Way Kambas-Desa Labuhan Ratu VII” adalah sebagai berikut.

1. Hasil analisis *fecal* DNA memberikan konfirmasi bahwa sampel kotoran yang didapatkan berasal dari gajah sumatera.
2. Nilai jarak genetik 0.000 dan homologi 100% dari dua sumber materi genetik feses gajah sumatera liar umur 30 hari dan 2 hari di perbatasan TNWK dan Desa Labuhan Ratu VII menunjukkan tingkat keragaman genetik yang rendah.

5.2 Saran

Kajian pengenalan individu untuk mengetahui estimasi populasi dan hubungan kekerabatan antar individu gajah sumatera liar di kawasan konservasi TNWK perlu dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Asiah, dan Japisa, T. 2012. Karakteristik habitat gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) di kawasan ekosistem seulawah kabupaten Aceh besar. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. Biologi Edukasi 4(1).
- Alikondra, H.S. 1990. *Pengelolaan Satwa Liar*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Anatar Universitas Ilmu Hayat Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W. Myers, E.W. and Lipman, D.J. 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *J. Mol. Biol.* 215 (3):403-410.
- ASEAN Biodiversity. 2021. *ASEAN Heritage Parks*.
http://chm.aseanbiodiversity.org/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=110¤t=110, diakses pada Rabu, 15 Februari 2021 pukul 16.30 WIB.
- BioPointe Scientific. 2021. *0.2 ml PCR Tube with Domed Cap*.
<http://www.biopointescientific.com/product/1-7ml-copy/>, diakses pada Rabu, 5 Maret 2021 pukul 13.25 WIB.
- Cheeran, J.V. 2002. Elephant facts. *Journal of Indian Veterinary Association* 7(3):12-14.
- CITES. 2020. Appendices I, II, and III.
<https://www.cites.org/eng/app/appendices.php>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 19.03 WIB.
- Cook, N., D'Agostino, M., and Thompson, K.C. 2016. *Molecular microbial diagnostic methods: pathways to implementation for the food and water industries*. Elsevier. London.

- Cox, A.J. and Hebert, P.D.N. 2001. Colonization, extinction, and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. *Mol. Ecol.* 10:371-386.
- Daniel, J. 1998. *The Asian Elephant: A Natural History*. Natraj Publish. New Delhi.
- Direktorat Jenderal Perlindungan Hutan dan Pelestarian Alam. 1990. *Rencana Pengembangan Taman Nasional Way Kambas*. Dipasenta Mulya. Bandarlampung.
- Dhutta, S.S. 2020. *What is Phylogenetic Analysis?*. <https://www.news-medical.net/health/What-is-Phylogenetic-Analysis.aspx>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 18.35 WIB.
- Faris, T. 2013. *You Won't Forget: The Difference Between African and Asian Elephants*. <https://thomsonsafaris.com/blog/difference-african-asian-elephant/>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 09.35 WIB.
- Fleischer, R.C., Perry, E.A., Muralidharan, K., Stevens, E.E., and Wemmer, C.M. 2001. Phylogeography of the Asian elephant (*Elephas maximus*) based on mitochondrial DNA. *Evolution* 55: 1882-1892.
- Frankham, R.J. Ballou and Briscoe, D.A. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Gaalema, D.E., Perdue, B.M., and Keling, A.S. 2011. Food preference, keeper ratings, and reinforcer effectiveness in exoyic animals: the vau of systematic testing. *Journal of Applied Animal Welfare Science* (14):33-41.
- Gopala, A., Handian, O., Sunarto, Sitompul, A., Williams, A., Leimgruber, P., Chambliss, S.E., and Gunaryadi, D. 2011. *Sumatran elephant (Elephas maximus ssp. sumatranus)*. <https://www.iucnredlist.org/species/199856/9129626>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 09.13 WIB.
- Grannan, C. 2020. *What's the difference between Asian and African elephants?*. <https://www.britannica.com/story/whats-the-difference-between-asian-and-african-elephants>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 09.30 WIB.

- Hofmann, A. and Clokie, S. 2018. *Wilson and Walker's Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. and deWaard, J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B* 270: 313-321.
- Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S., and DeWaard, J.R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergencies among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B (Suppl.)* 270: 96-99.
- Hedges, S. and Gunaryadi, D. 2009. Reducing human-elephant conflict: do chillies help deter elephants from entering crop fields?. *Journal of Oryx*. 4(1):139-146.
- Hedges, S., Tyson, M.J., Sitompul, A.F., Kinnaird, M.F., Gunaryadi, D., and Aslan. 2005. Distribution, status, and conservation needs of Asian elephant (*Elephas maximus*) in Lampung Province, Sumatra, Indonesia. *Biological Conservation* 124:35-48.
- HersHKovitz, M.A. and Leipe, D.D. 1998. Phylogenetic analysis. In Baxevanis, A.D. and Oullette, B.F.F (Eds). *Bioinformatics A Practical Guide to The Analysis of Genes and Proteins*. John Wiley and Sons. New York.
- Hidayat, T. dan Pancoro, A. 2008. Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal AgroBiogen* 4(1):35-40.
- Hudiyono, M.Z. 2008. *Sekilas Informasi Taman Nasional Way Kambas*. Balai Taman Nasional Way Kambas. Lampung Timur.
- Indraswati, E., Muchtar, M., Veriasa, T.O., Muzakkir, A., dan Putri, A.M. 2018. *Rencana Pengelolaan Kolaboratif Taman Nasional Way Kambas, Provinsi Lampung Tahun 2018-2023*. YOSL/OIC-PILI. Bandarlampung.
- Indrawan, M., Primack, R.B., dan Supriatna, J. 2007. *Biologi Konservasi*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.

- Janjua, S., Abbas, F.I., William, K., Malik, I.U., and Mehr, J. 2016. DNA Mini-barcoding for wildlife trade control: a case study on identification of highly processed animal materials. *Mitochondrial DNA Part A* 28(4):544-546.
- Joshi, R. 2009. Asian Elephant's *Elephas maximus* Behaviour in the Rajaji National Park, North-West India: Eight Years with Asian Elephant. *Nature and Science* 7 (1):49-77.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2013. *Kelautan dan Perikanan dalam Angka 2013*. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Kementerian Lingkungan dan Hidup dan Kehutanan (KLHK). 2020. *Rencana Tindakan Mendesak Penyelamatan Populasi Gajah Sumatera (Elephas maximus sumatranus) 2020-2023*. Kementerian Lingkungan dan Hidup dan Kehutanan. Jakarta.
- Knowlton, N. and Weigt, L.A. 1998. New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. *Proc. R. Soc. Lond. B* 265: 2257-2263.
- Kurt, F. and Garai, M. 2007. *The Asian Elephant in Captivity: A Field Study*. Cambridge University Press. New Delhi.
- Laws, R.M., Parker, I.S.C., and Johnstone, R.C.B. 1975. *Elephants and Their Habitats: The Ecology of Elephants in North Bunyoro Uganda*. Clarendon Press. Oxford.
- Lekagul, B. and McNeely, J.A. 1977. *Mammals of Thailand*. Sahakarnbhat Co. Bangkok.
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). 2014. *Status Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia*. LIPI Press. Jakarta.
- Luo, A., Zhang, A., Ho, S.Y.W., Xu, W., Zhang, Y., Shi, W., Cameron, S.L., and Zhu, C. 2011. Potential efficacy of mitochondrial genes for animal DNA barcoding: a case study using eutherian mammals. *BMC Genomics* 12:84-96.

- Lynch, M. and Jarrell, P.E. 1993. A method for calibrating molecular clocks and its application to animal mitochondrial DNA. *Genetics* 135:1197-1208.
- Martin, N.C., Pirie, A.A., Ford, L.V., Callaghan, C.L., McTurk, K., Lucy, D., and Scrimger, D.G. 2006. The use of phosphate buffer saline for the recovery of cells and spermatozoa from swabs. *Science & Justice* 46 (3):179-184.
- McKay, G.M. 1973. Behavior and Ecology of the Asiatic elephant in Southeastern Ceylon. *Smithsonian Contributions to Zoology* 125:1-113.
- Mukhtar. 2004. *Taman Nasional Way Kambas Daya Tarik Kepariwisataaan Lampung*. <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/1841>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 21.08 WIB.
- Munkemuller, T. Lavergne, S., Bzeznik, B., Dray, S., Jombart, T., Schiffers, K., and Thuiller, W. 2012. How to measure and test phylogenetic signal. *Methods in Ecology and Evolution* 3:743-746.
- National Geographic. 2021. *African Elephant*. <https://www.nationalgeographic.com/animals/mammals/facts/african-elephant>, diakses pada Selasa, 3 Agustus 2021.
- Nayasilana, I.N., Atmoko, S.S.U., dan Firman. 2010. Teknik Analisis Non-Invaisif Mitokondria DNA (mtDNA) Bilou (*Hylobates klossii*, Miller 1903) Melalui Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Primatologi Indonesia* 7(1):27-33.
- Novianasari, T. 2018. Uji Komparasi Hasil Ekstraksi DNA Menggunakan Teknik Sederhana dan Teknik Molekuler GAPDH pada Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Betina di Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas. [Skripsi]. Universitas Lampung. Lampung.
- OpenStax. 2021. *Whole-Genome Sequencing*. <https://openstax.org/books/biology/pages/17-3-whole-genome-sequencing>, diakses pada Senin, 19 April 2021 pukul 19.31 WIB.
- Pentinsaari, M., Salmela, H., Mutanen, M., and Roslin, T. 2016. Molecular evolution of a widely-adopted taxonomic marker (COI) across the animal tree of life. *Sci. Rep.* 6, 35275.

Pestana, E.A., Belak, S., Diallo, A., Crowther, J.R., and Viljoen G.J. 2010. Early, Rapid, and Sensitive Veterinary Molecular Diagnostics – Real Time PCR Applications. *Springer*. Dordrecht.

Pokdarwis Labuhan Ratu VII. 2020. *Wisata Desa Way Kambas Labuhan Ratu VII*. <https://www.youtube.com/watch?v=1VYgtic6rEc>, diakses pada 4 Mei 2021 pukul 21.23 WIB.

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]. Universitas Lampung. Lampung.

Promega. 2021. *DNA Purification*. <https://worldwide.promega.com/resources/guides/nucleic-acid-analysis/dna-purification/>, diakses pada Selasa, 1 Juni 2021 pukul 13.15 WIB.

QIAGEN. 2020. *QIAamp® Fast DNA Stool Mini Handbook*. <https://www.qiagen.com/ch/resources/download.aspx?id=2a3f2c0b-2e8a-49fd-b442-829108ae1a4a&lang=en>, diunduh pada Selasa, 1 Juni 2021 pukul 13.21 WIB.

Raju, R., Jian, B., Hubbard, W., and Chaudry, I. 2011. The Mitoscriptome in Aging and Disease. *Aging and Disease* 2 (2):174-180.

Raksapati, A. 2018. *Laporan Akhir Tahun 2018 Rencana Aksi Pengembangan Kepariwisata Terpadu Pulau Sumatera*. Kementerian Pariwisata. Bandung.

Ramsar. 2021. *Indonesia*. <https://www.ramsar.org/wetland/indonesia>, diakses pada Rabu, 15 Februari 2021 pukul 16.12 WIB.

Roy, T., Szuttor, K., Smiatek, J., Holm, C. and Hardt, S. 2019. Conformation and Dynamics of Long-Chain End-Tethered Polymers in Microchannels. *Polymers* 11(3):1-23.

Rustiati, E.L., Priyambodo, dan Yulianti, 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., Junaidi, Priyambodo, Pratiwi, D.N., Virnarenata, E., Sunandar, Kasturi, Yulianti, Y. Suroso, E., and Warsono. 2019. Indirect Approach on Human-Wildlife Conflict Mitigation: Potential Local Landscape Based Ecotourism in Margahayu, Labuhan Ratu VII. *International Journal of Ecophysiology* 1(2):81-87.
- San Mauro, D., Gower, D.J., Zardoya, R., and Wilkinson, M. 2005. A hotspot of gene order rearrangement by tandem duplication and random loss in the vertebrae mitochondrial genome. *Mol. Bio. Evol.* 23:227-234.
- Santiapillai, C. and Jackson, P. 1990. *The Asian Elephant: An Action Plan for its Conservation*. IUCN/SSC Asian elephant specialist group. Gland. Switzerland.
- Sari, Y.P. 2020. *Profil Desa Labuhan Ratu VII*. Desa Labuhan Ratu VII. Lampung Timur.
- Seksi Konservasi Wilayah III BKSDA Bengkulu. 2016. Konservasi Harimau Sumatera. Makalah dalam Focus Group Discussion *Global Tiger Day* “Harimau Sumatera, Harimau Indonesia, Harimau Kita”, Universitas Lampung 30 Agustus 2016.
- Shoshani, J. and Eisenberg, J.F. 1982. *Elephas maximus*. *Mammalian species* 182:1-8.
- Sigma-Aldrich. 2021. *Sanger Sequencing Steps Method*. <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/sanger-sequencing.html>, diakses pada Senin, 19 April 2021 pukul 19.27 WIB.
- Simmons, R.B. and Weller, S.J. 2001. Utility and evolution of cytochrome b in insects. *Mol. Phylogenet. Evol.* 20:196-210.
- Sitiati, N.W., Walpole, M.J., Smith, R.J., and Leader-Williams, N. 2003. Predicting Spatial Aspects of Human-Elephant Conflict. *Journal of Applied Ecology* 40:667-677.

- Sjafaraenan, Lolodatu, H., Johanes, E., Agus, R., dan Sabran, A. 2018. Profil DNA Gen Follicle Stimulating Hormone Receptor (FSHR) Pada Wanita Akne Dengan Teknik PCR dan Sekuensing DNA. *Jurnal Biologi Makassar* 3 (1): 1-11.
- Stuwe, M., Abdul, J.B., Nor, B.M., and Wemmer, C.M. 2009. Tracking the movements of translocated elephants in Malaysia using satellite telemetry. *Oryx* 32:68-74.
- Sukatmoko. 2006. *Sampai Kapankah Gajah Jadi “Musuh Petani?: Warta Konservasi Edisi IV*. Buletin. Balai Taman Nasional Way Kambas. Lampung Timur.
- Sukumar, R. 2003. *The Living Elephants: Evolutionary Ecology, Behavior, and Conservation*. Oxford University Press. New York.
- Sutanto, E. 2017. *Buku Profil Desa Labuhan Ratu VII*. Labuhan Ratu VII, Lampung Timur.
- Taman Nasional Way Kambas. 2017. *Potensi Fauna TNWK*. <https://waykambas.org/potensi-fauna-tnwk/>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 20.11 WIB.
- Taman Nasional Way Kambas. 2017. *Sejarah Taman Nasional Way Kambas*. <http://waykambas.org/sejarah-taman-nasional-way-kambas/>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 20.18 WIB.
- Tarmizi. 2008. *Pemilihan Habitat Gajah Sumatera (Elephas maximus sumatranus) di Cagar Alam Jantho Kabupaten Aceh Besar*. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- The Bioinformatics Institute. 2020. *Why is phylogenetics important?*. <https://www.ebi.ac.uk/training-beta/online/courses/introduction-to-phylogenetics/why-is-phylogenetics-important/>, diakses pada Kamis, 17 Desember 2020 pukul 16.32 WIB.
- The Universal Protein Resources. 2021. *COI – Cytochrome c oxidase subunit 1 – COI gene & protein*. <https://www.uniprot.org/uniprot/L0NA81>, diakses pada Jumat, 12 Februari 2021 pukul 13.45 WIB.

- UNESCO. 2020. *Tropical Rainforest Heritage of Sumatra*.
<https://whc.unesco.org/en/list/1167/>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 19.41 WIB.
- Urry, L.A., Cain, M.L. Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., and Reece, J.B. 2017. *Eleventh Edition Campbell Biology*. Pearson Education, Inc. New York.
- Virnarenata, E, Rustiati, E.L., Priyambodo, Srihanto, E.A., and Pratiwi, D.N. 2021. Short Communication: Identification and Characterisation of COI Gene in Female Sumatran Elephant (*Elephas maximus sumatranus*) in Elephant Training Centre, Way Kambas National Park. *Biovalentia* 7(1):1-4
- Virnarenata, E. 2019. Identifikasi dan Karakterisasi Gen COI Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Betina dari Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas. [Skripsi]. Universitas Lampung. Lampung.
- Waits, L.P. and Paetkau, D. 2005. Noninvasive Genetic Sampling Tools for Wildlife Biologists: A Review of Applications and Recommendations for Accurate Data Collection. *Journal of Wildlife Management* 69(4):1419-1433.
- WCS Indonesia. 2020. *Sumatran Elephant*.
<https://indonesia.wcs.org/Wildlife/Sumatran-Elephant.aspx>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 13.05 WIB.
- Williams, A.C. 2010. *The ecology and population parameters of Asian elephants in NW India*. Lambert Academic Publishing. Saarbrücken.
- WWF. 2020. *CITES*. <https://www.worldwildlife.org/pages/cites>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 19.07 WIB.
- WWF. 2020. *Elephant*. <https://www.worldwildlife.org/species/elephant>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 09.15 WIB.
- Yulianti, Y., Rustiati, E.L. dan Priyambodo. 2020. *Desain Bioinformatika Pemetaan Jalur Masuk dan Defekasi Gajah Sumatera di Perbatasan TNWK dan Pemukiman*. (Proposal Penelitian). Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional. Jakarta.

Zahrah, L.N. 2018. Isolasi Fecal DNA Badak Sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) di Suaka Rhino Sumatera Taman Nasional Way Kambas. [Skripsi]. Universitas Lampung. Lampung.

Zazuli, M. 2016. Mitigasi Konflik Manusia-Gajah oleh *Elephant Response Unit* di Resort Toto Projo Taman Nasional Way Kambas (Studi Kasus di Desa Tanjung Tirta dan Desa Tegal Yoso) [Skripsi]. Universitas Lampung. Lampung.