

**APLIKASI ANALISIS MOLEKULER DNA MITOKONDRIA *CYTHOCROME OXYDASE SUB-UNIT 1 (COI)* UNTUK KONFIRMASI KERAGAMAN GENETIK GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus sumatranus*) BERBASIS KOTORAN DI SUGIHAN SIMPANG HERAN**

**(Tesis)**

**Oleh**

**DIAN NELI PRATIWI  
NPM 2020011009**



**PROGRAM STRATA 2  
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU LINGKUNGAN  
PASCASARJANA UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### **APLIKASI ANALISIS MOLEKULER DNA MITOKONDRIA CYTHOCROME OXYDASE SUB-UNIT 1 (COI) UNTUK KONFIRMASI KERAGAMAN GENETIK GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus sumatranus*) BERBASIS KOTORAN DI SUGIHAN SIMPANG HERAN**

Oleh

**DIAN NELI PRATIWI**

Gajah sumatera merupakan mamalia besar dengan status kritis. Populasi gajah sumatera berada dalam 36 kantong habitat, salah satunya Sumatera Selatan (Sumsel) yang mengalami tekanan seperti kerusakan dan fragmentasi habitat, perburuan liar dan konflik dengan masyarakat. Perubahan habitat mengakibatkan masuknya gajah sumatera ke perkebunan kelapa sawit. Upaya konservasi yang dapat dilakukan adalah pengumpulan informasi keragaman genetik secara non invasif sampling, melalui kotoran dengan analisis molekuler gen penanda cytochrome oxidase subunit I (COI). Penelitian ini dilaksanakan pada Desember 2022-Februari 2023 di bawah program kegiatan Tropical Forest Conservation Action for Sumatera yang dilakukan oleh Pusat Kajian Sains Terapan Universitas Sriwijaya. Tahapan penelitian yaitu pengambilan sampel, ekstraksi DNA, amplifikasi, elektroforesis, sekuensing dan analisis data. Sampel kotoran gajah sumatera sebanyak 25 sampel ditemukan pada enam blok area perkebunan sawit plasma nutfah inti PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM). Analisis pohon filogenetik dari 18 sampel membentuk satu sluster yang sama mengindikasikan memiliki kekerabatan yang dekat (homologi 83%-98%). Sub populasi gajah sumatera di PT. BKM, memiliki keragaman genetik cukup baik dengan nilai variasi genetik berdasarkan keragaman nukleotida dalam kategori sedang (Pi:0,67 dan Hd:0,9485). Upaya konservasi yang dapat dilakukan yaitu pembuatan koridor, kajian genetik lanjut serta pemetaan jalur aktif gajah sumatera.

Kata Kunci: analisis molekuler DNA, filogenetik, gajah sumatera, non invasif, perubahan habitat

**ABSTRACT****APPLICATION IN MOLECULAR ANALYSIS OF MITOCHONDRIAL  
DNA CYTOCHROME OXYDASE SUB-UNIT 1 (COI) FOR  
CONFIRMATION OF GENETIC DIVERSITY OF THE SUMATRAN  
ELEPHANT (*Elephas maximus sumatranus*) BASED ON FECAL SAMPLE  
AT SUGIHAN SIMPANG HERAN****By****DIAN NELI PRATIWI**

The Sumatran elephant is a large mammal with critical status. The Sumatran elephant population resides in 36 habitat pockets, one of which is South Sumatra, which is experiencing pressures such as habitat destruction and fragmentation, poaching and conflict with the community. Habitat changes resulted in the entry of Sumatran elephants into oil palm plantations. Conservation efforts that can be done is to collect information on genetic diversity by non-invasive sampling, through feces with molecular analysis of cytochrome oxidase subunit I (COI) marker genes. This research was carried out in December 2022-February 2023 under the Tropical Forest Conservation Action for Sumatra activity program conducted by the Center for Applied Science Studies, Sriwijaya University. The stages of the research were sampling, DNA extraction, amplification, electrophoresis, sequencing and data analysis. Samples of 25 Sumatran elephant dung samples were found in six blocks of the nucleus germ plasma oil palm plantation area of PT. Independent Equatorial Earth (BKM). Phylogenetic tree analysis of the 18 samples forming the same cluster indicates that they are closely related (homology 83%-98%). Sumatran elephant sub-population at PT. BKM, has a fairly good genetic diversity with a value of genetic variation based on nucleotide diversity in the moderate category (Pi: 0.67 and Hd: 0.9485). Conservation efforts that can be carried out include building corridors, further genetic studies and mapping the active paths of the sumatran elephant.

Keywords: DNA molecular analysis, habitat change, phylogenetic, sumatran elephant, non-invasive,

**APLIKASI ANALISIS MOLEKULER DNA MITOKONDRIA  
CYTHOCROME OXYDASE SUB-UNIT 1 (COI) UNTUK KONFIRMASI  
KERAGAMAN GENETIK GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus  
sumatranus*) BERBASIS KOTORAN DI SUGIHAN SIMPANG HERAN**

**Oleh**

**DIAN NELI PRATIWI**

**Tesis**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
Magister Lingkungan**

**Pada**

**Program Studi Magister Ilmu Lingkungan  
Pascasarjana Multidisiplin Universitas Lampung**



**PROGRAM STRATA 2  
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU LINGKUNGAN  
PASCASARJANA UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul Tesis

**: APLIKASI ANALISIS MOLEKULER DNA MITOKONDRIA  
CYTHOCROME OXYDASE SUB-UNIT 1 (COI) UNTUK  
KONFIRMASI GAJAH SUMATERA (*Elephas maxlmus  
sumatranus*) BERBASIS KOTORAN DI SUGIHAN SIMPANG  
HERAN**

Nama Mahasiswa

: Dian Neli Pratiwi

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2020011009

Program Studi

: Magister Ilmu Lingkungan

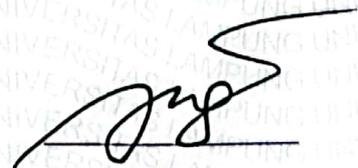
Fakultas

: Pascasarjana Multidisiplin

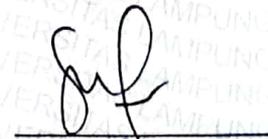
**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

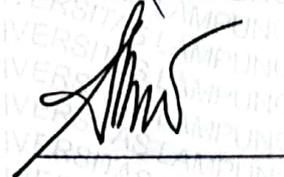
**Prof. Dr. Ir. Sugeng P. Harianto, M.S.**  
NIP. 195809231982111001



**Dr. Yanti Yulianti, S.Si., M.Si.**  
NIP : 197512192000122003



**Prof. Dr. Arum Setiawan, S. Si., M. Si.**  
NIP. 197211221998031001



**2. Ketua Program Studi Magister Ilmu Lingkungan**



**Dr. Ir. Samyul Bakri, M.Si.**  
NIP. 196105051987031002

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua : Prof. Dr. Ir. Sugeng P. Harianto, M.S.**

**Sekretaris : Dr. Yanti Yulianti, S.Si., M.Si.**

**Anggota : Prof. Dr. Arum Setiawan, S. Si., M. Si.**

**Penguji  
Bukan Pembimbing : Drs. Tugiyono, Ph.D., M.Sc.**

**Anggota : Dr. Ir. Samsul Bakri, M.Si.**



**Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.**

**NIP 196403261989021001**

**Tanggal Lulus Ujian Tesis: 5 Juni 2023**

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul “Aplikasi Analisis Molekuler DNA Mitokondria *Cythochrome Oxydase Sub-Unit 1 (Coi)* untuk Konfirmasi Keragaman Genetik Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Berbasis Kotoran di Sugihan Simpang Heran” adalah karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulislain dengan cara yang tidak sesuai dengan etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya, saya bersedia dan sanggup dituntut sesuai dengan hokum yang berlaku.

Bandar Lampung, Juli 2023

Yang membuat pernyataan,



Dian Neli Pratiwi

## RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Pringsewu pada tanggal 07 maret 1997, sebagai anak sulung dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Ngadiman dan Ibu Tumiati (alm).

Penulis memulai pendidikan pertama di Taman Kanak-kanak Aisyiah pada tahun 2002 dan lulus pada tahun 2003, Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Pringsewu lulus pada tahun 2009, Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 1 Pringsewu lulus pada 2012, dan menyelesaikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Pringsewu pada tahun 2014. Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang perguruan tinggi di Universitas Lampung sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Pada tahun 2020, penulis diterima sebagai mahasiswi Program Studi Magister Ilmu Lingkungan Fakultas Pascasarjana Multidisiplin Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswa S2- Magister Ilmu Lingkungan, penulis tergabung dalam tim Konsorsium Universitas Lampung (UNILA) and Aliansi Rimba Terpadu (ALeRT) di bawah Tropical Forest Conservation Area (TFCA) dalam melaksanakan pengabdian dan penelitian social “Economic creative product development supporting sustainable ecotourism in two village next to Way kambas National Park” selama 2,5 tahun 2019-2021. Penulis melakukan penelitian bersama dengan Food and Agriculture Organization (FAO) yang bekerjasama dengan Balai Veteriner Lampung sebagai *Biomolecular research assistant* dalam melakukan “*Sampling Surveillance Terget Emerging Infectious Disease*” pada 2019-2020.

**PERSEMBAHAN**

**Kepada Ayahanda dan Ibunda Tersayang  
Almamater tercinta “Universitas Lampung”**

## MOTTO

*"Orang-orang yang bersungguh-sungguh dalam mencari keridhaan kami, maka benar-benar akan kami tunjukkan kepada mereka jalan-jalan kami. Dan sesungguhnya Allah benar-benar beserta orang-orang yang berbuat baik."*

*(Q.S. al-Ankabut ayat 69)*

*Segala hal yang nyata dan kau inginkan tetapi belum dapat kau raih adalah fiksi, tetapi semua mimpi yang fiksi dan kau usahakan adalah nyata"*

*Fredrik Ornata*

*"Keep interested in others, keep interested in the wide and wonderful world. Then in a spiritual sense you will always be young"*

*Fredric March*

## SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya tesis ini dapat diselesaikan.

Tesis Dengan Judul “**Aplikasi Analisis Molekuler DNA Mitokondria *Cytochrome Oxidase Sub-Unit 1 (CO1)* untuk Konfirmasi Keragaman Genetik Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) Berbasis Kotoran di Sugihan Simpang Heran**” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IPM., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si., selaku Direktur Pascasarjana Universitas Lampung;
3. Dr. Candra Perbawati, S.H.,M.H., selaku Wakil Direktur Bidang Akademik, Kemahasiswaan dan Alumni Universitas Lampung;
4. Dr. Fitra Dharma, S.E., M.Si., selaku Wakil Direktur Bidang Umum Universitas Lampung;
5. Prof. Dr. Ir. Sugeng P. Harianto, M.S. selaku pembimbing utama atas kesediannya untuk memberikan bimbingan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian tesis ini
6. Dr. Yanti Yulianti, S.Si., M.Si., selaku pembimbing kedua atas kesediannya memberikan bimbingan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian tesis ini;
7. Prof. Dr. Arum Setiawan, S. Si., M. Si., selaku pembimbing ketiga atas kesediannya memberikan bimbingan, saran dan kritik serta masukan dalam proses penyelesaian tesis ini;
8. Drs. Tugiyono, Ph.D., M.Sc., selaku penguji utama atas kesediannya memberikan arahan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian tesis ini;
9. Dr. Ir. Samsul Bakri, M.Si., selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Lingkungan Universitas Lampung, sekaligus penguji kedua atas kesediannya memberikan arahan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian tesis ini;

10. Seluruh Dosen Magister Ilmu Lingkungan Universitas Lampung yang telah banyak memberikan ilmu yang sangat bermanfaat dan telah mendidik penulis;
11. Orangtuaku Ibu-Bapak tercinta, dan saudaraku yang telah mendoakan, menemani, dan membantu dalam segala hal untuk penyelesaian tesis ini;
12. Dra. Elly Lestari Rustiati, M.Sc., selaku ibu yang selalu mendampingi, memberikan masukan dan arahan, memberikan ilmu pengetahuan dan pengalaman, membantu dalam segala hal dalam hidup penulis;
13. Kakak dan juga rekan penelitian, Winda Indriati, S.Si., M.Si., yang senantiasa memberi motivasi, mendoakan, memberi semangat, membantu dalam proses penelitian untuk penyelesaian tesis ini;
14. Rekan dan sahabat, Dewi Ayu Puspaningrum, Rosidah Amini, dan Melisa, yang senantiasa memberi motivasi, mendoakan, dan bantuan disetiap situasi dan kondisi;
15. Rekan-rekan penelitian mahasiswa UNSRI, Putri, Risma, Radel, dan Tiara yang telah memberi semangat, membantu dalam proses perizinan dan memperoleh data-data penelitian untuk penyelesaian tesis ini;
16. drh. Eko Agus Srihanto, selaku pembimbing laboratorium yang telah memberikan ilmu dan bantuannya untuk penyelesaian tesis ini;
17. Rekan tim penelitian mahasiswa UNILA, Alvin W. Susanto, Andriyani, Liya, Febri, Aulia dan Aditya yang telah memberi semangat, membantu penulis untuk penyelesaian tesis ini;
18. Mas Heri, selaku Staf administrasi Magister Ilmu Lingkungan Universitas Lampung, untuk saran, motivasi, dan banyak bantuan yang telah diberikan selama masa pendidikan;
19. Rekan-rekan satu angkatan Magister Ilmu Lingkungan Tahun 2020, serta Seluruh pihak yang membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Bandar Lampung, Juli 2023

Dian Neli Pratiwi

## DAFTAR ISI

	Hal
<b>Hakaman Depan</b> .....	i
<b>Daftar Isi</b> .....	xiii
<b>Daftar Gambar</b> .....	xiv
<b>Daftar Tabel</b> .....	xvi
<b>Daftar Lampiran</b> .....	xvii
<b>I. Pendahuluan</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Kerangka Pemikiran .....	5
<b>II. Tinjauan Pustaka</b> .....	<b>7</b>
2.1. Gajah sumatra.....	7
2.2. Lokasi Penelitian .....	10
2.3. Konservasi berbasis molekuler.....	12
2.4. Analisis molekuler.....	13
<b>III. Metode Penelitian</b> .....	<b>16</b>
3.1. Waktu dan tempat penelitian .....	16
3.2. Alat dan bahan.....	16
3.3. Tahapan penelitian.....	17
3.4. Diagram alir penelitian .....	21
<b>IV. Hasil dan Pembahasan</b> .....	<b>22</b>
4.1. Kondisi sampel kotoran gajah Sumatra.....	22
4.2. Uji Kuantitatif dan Kualitatif .....	25
4.3. Urutan pasang basa (bp) .....	29
4.4. Analisis variasi basa nukleotida .....	30
4.5. Homologi <i>search basic local alignment search tool</i> (BLAST)...	34
4.6. Jarak genetik.....	35
4.7. Pohon filogenetik.....	37
4.8. Manajemen konservasi gajah sumatra di PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM), Desa Simpang Tiga Abadi, Tulung Selapan.....	38
<b>V. Kesimpulan dan Saran</b> .....	<b>41</b>
5.1. Kesimpulan.....	41
5.2. Saran .....	41
<b>Daftar Pustaka</b> .....	<b>42</b>
<b>Lampiran</b> .....	<b>45</b>

## DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1. Gajah sumatra: (a) betina, (b) jantan.....	8
Gambar 2. Peta area perkebunan kelapa sawit PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM) dengan area pemukiman Desa Simpang Tiga Abadi, Tulung Selapan.....	11
Gambar 3. Struktur <i>Deoxyribonucleic acid</i> (DNA) yang tersusun dari gugus fosfat, gula pentose, dan basa nitrogen.....	15
Gambar 4. Kotoran gajah sumatra yang tidak dapat dijadikan sampel .....	24
Gambar 5. Visualisasi hasil uji kualitatif fecal sampel gajah Sumatra di PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM) .....	28
Gambar 6. Mutasi COI fecal sampel gajah sumatra; sampel E, B, G, Y, J, M, N, O, P, J, Q, R, T, S, U, V, X, W adalah sampel penelitian, <i>Elephas maximus indicus</i> , <i>Loxodonta africana</i> , <i>Loxodonta cyclotis</i> , dan <i>Mammuthus prigmati</i> adalah <i>outgroup</i> .....	34
Gambar 7. Rekonstruksi Pohon Filogenetik gajah sumatra (kode sampel; G. Y. E. U.O.Q. W2. X. B. J. P2. M dan N) di PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM). Desa Simpang Tiga Abadi. Sumatera Selatan terhadap outgroup gajah asia. <i>mammuthus</i> dan gajah afrika.....	37
Gambar 8. Koordinasi perizinan penelitian dan diskusi titik masuk gajah Sumatra di area PT. BKM. bersama dengan masyarakat Dusun V, Desa Simpang Tiga Abadi, Tulung Selapan, OKI, Sumatera Selatan dan tim management PT. BKM .....	58
Gambar 9. Survei lokasi titik masuk gajah sumatera bersama didampingi oleh masyarakat Desa Simpang Tiga Abadi. Tulung Selapan. OKI. Sumatera Selatan yang juga merupakan tim jaga yang dibentuk oleh PT. BKM untuk melakukan penghalauan gajah sumatera yang akan memasuki area perkebunan kelapa sawit .....	58

- Gambar 10. Pengambilan *fecal* sampel gajah sumatera di area PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri..... 59
- Gambar 11. Tanda tidak langsung (tapak kami, bekas plesetan, kotoran dan bekas pakan) keberadaan gajah sumatera ..... 59
- Gambar 12. Preparasi dan ekstraksi sampel kotoran gajah sumatera di Laboratorium Bioteknologi, Biologi, FMIPA, Universitas Sriwijaya sumatera ..... 60
- Gambar 13. Amplifikasi, elektroforesis dan uji kuantitas DNA hasil ekstraksi menggunakan nanodrop sumatera ..... 60
- Gambar 14. Kerusakan area perkebunan kelapa sawit karena gajah Sumatera liar yang memasuki area perkebunan ..... 60

## DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1. Sekuens primer <i>Cythochrome Oxydase Sub Unit 1 (COI)</i> .....	19
Tabel 2. Data pengambilan sampel kotoran gajah sumatra di PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri .....	25
Tabel 3. Hasil kemurnian dan konsentrasi sampel DNA kotoran gajah sumatra..	27
Tabel 4. Variasi panjang basa nukleotida sampel DNA gajah sumatra di area PT.Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM) .....	29
Tabel 5. <i>Polimorphic site fecal</i> sampel gajah sumatera di area PT. BKM, Desa Simpang Tiga Abadi, Tulung Selapan, OKI, Sumatera Selatan dengan menggunakan gen COI .....	33
Tabel 6. Persentase Homologi search BLAST NCBI dengan Fecal Sampel.....	35

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Hal
Lampiran 1. Tabel Jarak Genetik <i>Fecal</i> Sampel Penelitian beserta <i>Outgroup</i> dari Gajah Afrika dan Mammuth. Sekuens primer <i>Cythochrome Oxydase Sub Unit 1 (COI)</i> .....	49
Lampiran 2. Tabel Variasi Basa Nukleotida <i>Fecal</i> Sampel Penelitian beserta... <i>Outgroup</i> dari Gajah Afrika dan Mammuth .....	50
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian (Proses Pengambilan Sampel Kotoran Gajah Sumatera, Analisis Laboratorium. dan Tanda Tidak Langsung ..... Keberadaan Gajah Sumatera) .....	57

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan seluas 9 juta km<sup>2</sup> yang terletak di antara dua samudra dan dua benua dengan panjang garis pantainya sekitar 95.181 km dan dikenal negara megabiodiversitas (Kusmana dan Hikmat, 2015). Indonesia memiliki kekayaan keanekaragaman hayati yang tinggi, termasuk mamalia (Darajati *et al.*, 2016), mencakup 773 spesies mamalia (Maryanto *et al.*, 2019). Sebanyak 35% atau sejumlah 252 spesies mamalia di Indonesia terdapat di Pulau Sumatera. Jumlah spesies mamalia di Pulau Sumatera mencakup 280 spesies (15,8% dari jumlah spesies di Indonesia). Salah satunya adalah lima mamalia besar yang ada di Sumatera (Tarmizi, 2008) yaitu harimau sumatera (*Panthera tigris sumaterae*), badak sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*), tapir (*Tapirus indicus*), beruang madu (*Helarctos malayanus*), dan gajah sumatera (*Elephas maximus sumateranus*) (TNWK, 2017).

Gajah sumatera merupakan salah satu mamalia besar yang termasuk satwa langka berdasarkan Undang-Undang Nomor 5 Tahun 1990 tentang Konservasi Sumberdaya Alam Hayati dan Ekosistemnya *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; IUCN, 2021). Selain itu, *Convention on International Trade in Endangered Species* (CITES) juga memasukkan gajah sumatera ke dalam daftar Apendiks I (CITES, 2020). Status ekologi ini sesuai dengan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 1999 tentang pengawetan jenis tumbuhan dan satwa yang dilindungi.

Populasi gajah sumatera berada dalam 36 kantong habitat dan tersebar di tujuh provinsi yaitu Aceh, Sumatera Utara, Riau, Jambi, Bengkulu, Lampung dan Sumatera Selatan (Kementrian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2020). Luas lahan Provinsi Sumatera Selatan berdasarkan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No. SK. 454/MenLHK/Sekjen/PLA.2/6/2016, sekitar 3.215.559 ha. Luas areal penggunaan lain (APL) dengan tutupan hutan seluas 93.494 ha dan tidak berhutan seluas 5.251.656 ha. Sumatera Selatan memiliki Taman Nasional Sembilang (TNS) sebagai salah satu area konservasi (Raksapati, 2018) yang diakui sebagai Situs Ramsar yaitu kawasan untuk melindungi kelestarian dan fungsi lahan basah di dunia oleh Konvensi Ramsar (Ramsar, 2021). Sebagian besar gajah sumatera berada di lahan berstatus APL dan sebagian kecil berada di kawasan hutan baik hutan konservasi, lindung, maupun produksi. Salah satu hutan konservasi yang merupakan area sebaran gajah sumatera yaitu Suaka Margasatwa Padang Sugihan (Kabupaten OKI dan Banyuasin).

Saat ini gajah sumatera, salah satunya yang ada di Sumatera Selatan berada di bawah tekanan kerusakan dan fragmentasi habitat akibat alih fungsi lahan, perburuan liar (WWF, 2020) dan adanya konflik dengan masyarakat. Fragmentasi habitat gajah sumatera merupakan akibat dari perubahan fungsi lahan menjadi perkebunan kelapa sawit, hutan tanaman industri (HTI), pemukiman, serta pertambangan. Pengurangan luas dan pemutusan habitat alami yang berupa tutupan hutan, merupakan pemicu terhadap penurunan ukuran populasi dan kemampuan adaptasi satwa (Sitompul, 2011), seperti gajah sumatera. Daya dukung yang semakin terbatas dan potensi terjadinya perkawinan silang dalam (*inbreeding*), merupakan ancaman bagi populasi gajah sumatera yang dapat mengakibatkan menurunnya kemampuan gajah sumatera untuk berkembang dan meningkatkan kemungkinan terjadinya erosi genetik (Rustiati *et al.*, 2019). Laju deforestasi hutan di Sumatera Selatan cukup tinggi dengan tutupan hutan yang cukup rendah yaitu hanya 11%. Konflik gajah-manusia terjadi akibat perubahan habitat yang berpengaruh pada penurunan ketersediaan pakan alami (Seidensticker, 1984) dan mengakibatkan masuknya gajah sumatera ke perkebunan kelapa sawit, area HTI dan lahan pertanian

masyarakat untuk memenuhi kebutuhan pangannya (Susilowati dkk., 2016). Konflik gajah-manusia menimbulkan kehilangan secara fisik dan ekonomi, bagi penduduk lokal dan gajah sumatera (Rustiati, 2019). Upaya konservasi perlu dilakukan untuk keberlanjutan populasi gajah sumatera.

Salah satu upaya konservasi yang dapat dilakukan adalah pengumpulan informasi keragaman genetik suatu spesies (Indrawan dkk., 2007). 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 dapat ditentukan dengan keragaman genetik setiap spesies pada populasinya. Salah satu penyebab menurunnya keragaman genetik yaitu terjadinya perkawinan silang dalam (*inbreeding*) akibat ukuran populasi yang kecil (Frankham *et al.*, 2002). Informasi keragaman genetik dari gajah sumatera sangat dibutuhkan dalam menentukan kebijakan, pengelolaan dan strategi upaya konservasi gajah sumatera sedangkan informasi tersebut masih sangat sedikit.

Pendekatan analisis genetika molekuler dapat dilakukan melalui analisis molekuler DNA mitokondria (Muangkram, W. Wajjwalku *et al.*, 2016) pada gen *cytochrome oxidase subunit I* (COI) (Hebert *et al.*, 2003; Janjua *et al.*, 2016) berbasis kotoran gajah sumatera. Salah satu metode yang dapat digunakan dalam pengambilan sampel gajah sumatera di habitat alaminya adalah pengambilan sampel secara non invasif melalui rambut, urin, dan kotoran (Henry *et al.*, 2011; Zhanga, Xiaob *et al.* 2015). Molekul DNA dari genom mitokondria dapat berasal dari jaringan yang hancur dan terbawa keluar bersama feses. Pengambilan sampel non invasif merupakan metode pengambilan sampel yang tidak bersentuhan langsung dengan satwa (Savira, 2012).

Inventori informasi keragaman genetik gajah sumatera di Sumatera Selatan sudah pernah dilakukan oleh Universitas Sriwijaya pada tahun 2017-2018 dengan melakukan perhitungan populasi gajah sumatera di Padang Sugihan Simpang Heran, menggunakan metode *Fecal DNA survey dan Dung count*. Pemutakhiran data sangat diperlukan untuk mendukung pengumpulan informasi keragaman

genetik gajah sumatera di Padang Sugihan Simpang Heran, Sumatera Selatan. Penelitian aplikasi analisis molekuler DNA Mitokondra *Cythochrome Oxydase Sub-Unit 1 (COI)* untuk konfirmasi gajah sumatera berbasis kotoran di Sugihan Simpang Heran dilakukan sebagai salah satu syarat kelulusan untuk mahasiswa Pascasarjana Universitas Lampung. Penelitian aplikasi analisis molekuler DNA Mitokondra *Cythochrome Oxydase Sub-Unit 1 (COI)* untuk konfirmasi gajah sumatera berbasis kotoran dilakukan untuk mengetahui hubungan kekerabatan filogenetik gajah sumatera di Padang Sugihan, Sumatera Selatan berdasarkan analisis molekuler (DNA mitokondria *COI*), dan mengetahui tingkat variasi genetik, tingkat mutasi dan terjadinya perkawinan silang dalam (*inbreeding*) gajah sumatera di Padang Sugihan, Sumatera Selatan. Pemutakhiran data sangat diperlukan untuk mendukung pengumpulan informasi keragaman genetik gajah sumatera di Padang Sugihan Simpang Heran, Sumatera Selatan dan diharapkan dapat mendukung pelaksanaan SRAK gajah sumatera dalam mendukung upaya konservasi gajah sumatera di Sumatera Selatan.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana metode analisis molekuler dengan menggunakan DNA mitokondria *COI* dapat digunakan untuk konfirmasi gajah sumatera berbasis kotoran
- b. Bagaimana tingkat variasi dan mutasi genetik gajah sumatera di Padang Sugihan Simpang Heran dengan menggunakan DNA mitokondria *COI*

## **1.3. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Menganalisis metode analisis molekuler dengan menggunakan DNA mitokondria *COI* untuk konfirmasi gajah sumatera berbasis kotoran
- b. Menganalisis tingkat variasi dan tingkat mutasi genetik gajah sumatera di Padang Sugihan Simpang Heran dengan menggunakan DNA mitokondria *COI*

#### 1.4. Kerangka Pemikiran

Gajah sumatera merupakan salah satu mamalia besar dengan status kritis (*critically endangered*) dan masuk dalam *Red List Data Book* karena populasinya yang semakin berkurang. Konflik gajah–manusia, perburuan, dan fragmentasi habitat merupakan penyebab semakin sedikitnya populasi gajah sumatera (Kementrian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2020). Populasi gajah sumatera yang semakin berkurang akan mengganggu keseimbangan ekosistem di habitatnya. Peran gajah sumatera sebagai spesies payung dan agen penyebar biji berpengaruh pada keseimbangan ekosistem. Populasi yang kecil dapat meningkatkan potensi terjadinya perkawinan silang dalam (*inbreeding*).

Strategi Rencana Aksi Konservasi (SRAK) Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumateranus*) 2020-2023 merupakan salah satu upaya konservasi gajah sumatera yang dilakukan Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan bekerjasama dengan berbagai pihak. Mempersiapkan kelayakan kantong populasi untuk tujuan translokasi merupakan salah satu langkah dalam pelaksanaan SRAK penyelamatan populasi gajah sumatera (Kementrian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2020). Data keragaman genetik juga merupakan salah satu informasi penting yang dapat mendukung upaya persiapan kelayakan kantong populasi untuk translokasi, selain itu dapat menjadi awal penyusunan data individu gajah sumatera liar di Sumatera, salah satunya adalah kantong populasi gajah sumatera di Padang Sugihan, Sumatera Selatan. Inventori informasi keragaman genetik gajah sumatera di Sumatera Selatan telah dilakukan oleh Universitas Sriwijaya pada tahun 2017-2018 dengan melakukan perhitungan populasi gajah sumatera di Padang Sugihan Simpang Heran, menggunakan metode *Fecal DNA survey dan Dung count*. Gajah sumatera binaan di PLG TNWK juga telah dilakukan pembangunan data filogenetik berdasarkan gen Cythochrome Oxydase Sub-Unit 1 (*COI*) yang menunjukkan gajah sumatera PLG TNWK berasal dari satu populasi besar dan memiliki kecenderungan telah mengalami domestikasi (Rustiati *et al.*, 2020). Pembangunan data keragaman genetik gajah sumatera liar juga merupakan salah satu upaya untuk mencegah terjadinya perkawinan silang dalam

(*inbreeding*) dan mendukung upaya konservasi dan pelaksanaan SRAK gajah sumatera.

Langkah awal dalam melakukan analisis genetik pembentukan filogenetik gajah sumatera adalah dengan melakukan isolasi DNA gajah sumatera untuk mendapatkan DNA murni dengan kualitas yang baik. Salah satu metode yang digunakan dalam uji kualitas hasil isolasi DNA adalah menggunakan elektroforesis gel agarosa (Asiah, 2016) dan spektrofotometer. Amplifikasi dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) membantu dalam meningkatkan jumlah DNA dalam sampel (Shehnam, 2012). DNA mitokondria seperti *D-Loop*, *COII*, dan *COI* dapat digunakan untuk menyusun filogenetik gajah sumatera, gajah india, gajah sri langka dan gajah afrika (Dewi, 2017). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan kekerabatan filogenetik gajah sumatera di Padang Sugihan, Sumatera Selatan berdasarkan analisis molekuler (DNA mitokondria *COI*), dan mengetahui tingkat variasi genetik, tingkat mutasi dan terjadinya perkawinan silang dalam (*inbreeding*) gajah sumatera di Padang Sugihan, Sumatera Selatan. Pemutakhiran data sangat diperlukan untuk mendukung pengumpulan informasi keragaman genetik gajah sumatera di Padang Sugihan Simpang Heran, Sumatera Selatan dan diharapkan dapat mendukung pelaksanaan SRAK gajah sumatera dan mendukung upaya konservasi gajah sumatera di Sumatera Selatan.

## II. TINJUAN PUSTAKA

### 2.1 Gajah sumatera

#### 2.1.1. Ciri utama dan klasifikasi

Gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) merupakan salah satu mamalia besar yang termasuk ke dalam Bangsa Proboscidea. Klasifikasi gajah sumatera sebagai berikut:

Kingdom : Animalia  
Phylum : Chordata  
Sub Phylum: Vertebrata  
Class : Mammalia  
Family : Proboscidea  
Ordo : Elephantidae  
Genus : *Elephas*  
Spesies : *Elephas maximus*

Sub Spesies: *Elephas maximus sumatranus* (Lekagul and McNeely, 1977).

Gajah merupakan salah satu mamalia besar. Gajah memiliki kulit berwarna abu-abu bercampur dengan warna coklat. Kulit gajah sangat tebal, kering, dan terdapat rambut-rambut halus di seluruh permukaan tubuhnya (Ciszek, 1999). Berat tubuh gajah sumatera dapat mencapai 5.000 kg dan tinggi tubuhnya dapat mencapai 3 meter. Panjang kepala dan badan gajah sumatera dapat mencapai 550 – 640 cm dengan tinggi bahu mencapai 250 – 300 cm, sedangkan ekornya memiliki panjang 120 – 150 cm, (Lekagul and McNeely, 1977). Punggung gajah sumatera berbentuk cembung (Eltringham, 1982). Secara umum, gajah jantan lebih besar daripada betina. Gajah sumatera betina dapat mencapai berat maksimum 3700 kg dengan tinggi 2,4 meter sementara gajah jantan dapat mencapai berat 5000 kg dan tinggi 3,2 meter (Mercy, 2009). Gading pada gajah sumatera umumnya

hanya dijumpai pada gajah jantan sedangkan gajah betina memiliki tonjolan gigi seri yang tersembunyi di balik bibir (Gambar 1). Gajah memiliki belalai yang berfungsi sebagai alat pembau, alat pernapasan, dan alat komunikasi (Eltringham, 1982).



(a)



(b)

Gambar 1. Gajah sumatera: (a) betina, (b) jantan (Asiyah, 2017)

Gajah mampu bertahan hidup mencapai umur 60-70 tahun (Santiapillai dan Jackson, 1990). Seekor gajah dapat menghabiskan 225 kg makanan per hari dan mampu menempuh perjalanan sejauh 50 km tanpa isitirahat (Adam, 2011). Menurut Sukumar (2003) rentang masa kehamilan gajah berkisar antara 18 – 23 bulan dengan rerata sekitar 21 bulan dan jarak antar kehamilan pada betina sekitar 4 tahun. Usia aktif reproduksi gajah pada umumnya berkisar 10 – 12 tahun, namun kondisi lingkungan, ketersediaan pakan, dan faktor ekologi seperti kepadatan populasi akan memberi pengaruh terhadap usia aktif reproduksi gajah (Soehartono dkk., 2007).

### 2.1.2. Habitat dan Perilaku

Gajah sumatera di Indonesia dapat ditemukan di Provinsi Aceh, Sumatera Utara, Riau, Jambi, Bengkulu, Lampung dan Sumatera Selatan (Tarmizi, 2008). Gajah sumatera umumnya hidup di kawasan hutan hujan tropis pulau sumatera baik di daratan tinggi maupun rendah (Departemen Kehutanan, 2007). Habitat gajah

sumatera terdiri dari beberapa tipe hutan yaitu hutan rawa, hutan gambut, hutan hujan dataran rendah, dan hutan hujan pegunungan rendah.

Gajah sumatera merupakan spesies yang hidup dengan pola matriarkal yaitu hidup berkelompok dan dipimpin oleh betina dewasa dengan ikatan sosial yang kuat. Sedangkan gajah jantan hidup sendiri (soliter) atau bergabung dengan jantan lainnya membentuk kelompok jantan. Kelompok gajah bergerak dari satu wilayah ke wilayah yang lain. Gajah memiliki daerah jelajah yang luas. Luasan daerah jelajah dipengaruhi oleh ketersediaan pakan, tempat berlindung, dan berkembang biak (Soehartono dkk., 2007). Dalam melakukan jelajah harian pada wilayah jelajahnya, gajah sumatera memilih lokasi dan menentukan waktu makan yang tepat yang dipengaruhi oleh berbagai faktor pembatas dalam habitat sehingga akan mempengaruhi komposisi, penyebaran dan produktivitas (Abdullah *et al.*, 2012; Nyhus dan Tilson 2004). Gajah sumatera mempunyai daerah jelajah antara 32,4–166,9 km<sup>2</sup> (Mahanani *et al.*, 2012; Anggrita *et al.*, 2018).

### **2.1.3. Status Ekologi**

Gajah sumatera di Indonesia dilindungi dalam Peraturan Perlindungan Binatang Liar Tahun 1931 Nomor 134 dan 266 akibat keberadaannya dalam kondisi terancam punah (Jajak, 2004). *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) (2011) memasukkan gajah sumatera ke dalam *Red List Data Book* sebagai satwa yang kritis (*critically endangered*). Gajah sumatera juga terdaftar dalam Apendiks I *Convention on International Trade in Endangered Species* (CITES) yaitu jenis satwa yang keberadaannya di alam sudah sangat sedikit dan dikhawatirkan akan punah (CITES, 2012). Berdasarkan data yang dihimpun oleh Forum Konservasi Gajah Indonesia (FKGI) tahun 2007, diperkirakan populasinya mencapai 2.400 hingga 2.800 individu. Jumlah tersebut mungkin telah turun hingga di bawah 2.000 individu pada tahun 2014, tetapi informasi yang akurat belum tersedia (Kepala FKGI Krismanko Padang, komunikasi pers). Hal ini disebabkan oleh tantangan yang dihadapi gajah sumatera seperti perburuan liar, kerusakan habitat dan konflik gajah dengan manusia. Degradasi dan konversi lahan hutan menjadi lahan

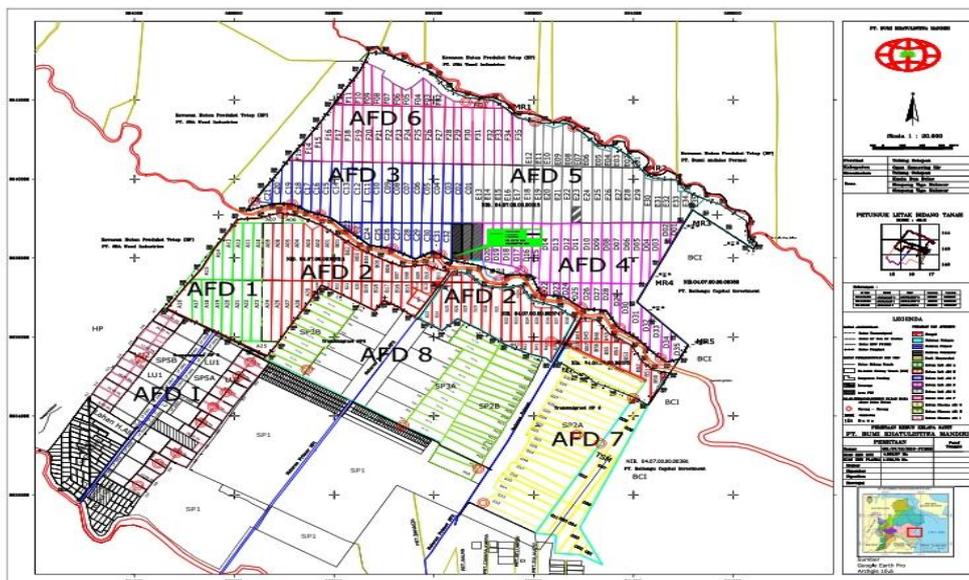
pertanian, budi daya tanaman monokultur, atau pembangunan kawasan mengakibatkan penyempitan ruang gerak gajah sumatera. Hal tersebut mengakibatkan populasi gajah sumatera di alam terancam mengalami kehilangan habitat (Rood dkk., 2010). Kerusakan habitat turut berpengaruh pada terjadinya konflik antara gajah dengan manusia. Konflik yang umum terjadi disebabkan oleh penyerangan tanaman budi daya masyarakat (*crop-raiding*). Gajah sumatera yang terlibat konflik seringkali ditangkap untuk dilakukan penggiringan ke dalam tempat penangkaran atau bahkan terbunuh di tempat kejadian (Perrera, 2009).

Ancaman lain adalah perburuan liar untuk mendapatkan gading gajah. Konflik gajah- manusia juga dipengaruhi oleh tingkat kemiskinan penduduk di sekitar habitat gajah serta permintaan pasar ilegal terhadap gading gajah secara komersial yang menjadi pendorong utama dalam terjadinya perburuan liar. Hingga saat ini belum ada data akurat yang menjelaskan tingkat ancaman perburuan bagi gajah sumatera karena pengawasan dan analisis dampak perburuan terhadap populasi gajah sangat jarang dilakukan (Soehartono dkk., 2007). Berbagai permasalahan yang mengancam populasi gajah sumatera di habitat alaminya memunculkan kekhawatiran terhadap penurunan populasi dan keragaman variasi genetik gajah sumatera. Variasi genetik berkontribusi besar terhadap proses adaptasi individu terhadap perubahan lingkungan. Apabila penurunan variasi genetik terjadi pada populasi gajah sumatera di alam, viabilitas dari populasi juga akan menurun dan tidak menutup kemungkinan populasi akan semakin mendekati kepunahan (Ahlering dkk., 2010).

## **2.2. Lokasi penelitian**

Sumatera Selatan merupakan salah satu habitat bagi populasi gajah sumatera. Lokasi sebaran gajah Sumatera meliputi Kabupaten Musi Banyuasin, Banyuasin, Ogan Komering Ulu (OKU) Selatan, Ogan Komering Ulu (OKU) Timur, Muara Enim, Lahat, Empat Lawang, dan Ogan Komering Ilir (OKI). Sugihan Simpang Heran yang berada di Kabupaten OKI merupakan satu dari delapan kantong populasi gajah sumatera di Sumatera Selatan (Susilowati *et al.*, 2016). Kelompok

Hutan Sugihan Simpang Heran berada pada daerah Banyuasin, Ogan Komering Ilir dengan luas 631.953 ha. Kantong habitat kelompok hutan Sugihan Simpang Heran terbagi ke dalam Suaka Margasatwa (SM) Padang Sugihan dan Hutan Produksi (HP) Simpang Heran Beyuku. Keseluruhan kawasan berupa ekosistem dataran rendah rawa dan gambut. Hutan produksi Simpang Heran Beyuku merupakan areal konsesi hutan tanaman PT. Bumi Andalas Permai (BAP), PT. Sebangun Bumi Andalas (SBA), PT. Bumi Mekar Hijau (BMH) dan PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM) (Gambar 2). Hutan tanaman akasia dan semak belukar rawa menjadi tipe vegetasi dominan pada kantong habitat ini. Terdapat sekitar 6.250 ha masih berupa hutan rawa sekunder. Kawasan ini merupakan habitat alami gajah sumatera sehingga menjadi sasaran utama konservasi SM Padang Sugihan.



Gambar 2. Peta area perkebunan kelapa sawit PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM) dengan area pemukiman Desa Simpang Tiga Abadi, Tulung Selapan

Suaka Margasatwa Padang Sugihan adalah sebuah kawasan konservasi yang telah didesain, khususnya sebagai habitat yang cocok bagi keberadaan gajah sumatera. Suaka Margasatwa Padang Sugihan ditunjuk sebagai suaka margasatwa sejak tahun 2001 berdasarkan SK Penunjukan Menteri Kehutanan Nomor: 76/Kpts-II/2001 dengan luas wilayah +86.932 Ha. Secara administratif pemerintahan, SM Padang Sugihan terletak di Kabupaten Banyuasin dan Kabupaten Ogan Komering Ilir

(OKI). Padang Sugihan berdasarkan data sebaran gajah sumatera merupakan salah satu kantong habitat dengan estimasi jumlah individu terbanyak di Sumatera Selatan. Kantong habitat Sugihan Simpang Heran memiliki individu sekitar 15-52 ekor. (Susilowati dkk, 2016).

### **2.3. Konservasi berbasis molekuler**

Informasi tentang populasi gajah di Indonesia masih sedikit, oleh karena itu salah satu upaya konservasi yang dapat dilakukan yaitu melalui analisis molekuler berbasis pengambilan sampel non invasif. Pengambilan sampel non invasif untuk analisis populasi satwa liar, gajah sumatera dapat dilakukan di berbagai habitat (Hedges *et al.*, 2006) termasuk hutan Kalimantan dan Sumatera (Alfred *et al.*, 2010; Hedges *et al.*, 2005). Analisis molekuler berbasis kotoran untuk identifikasi individu menggunakan metode yang serupa dengan yang diterapkan dalam forensik manusia (Fernando, 2003) dan dapat digunakan untuk mengetahui ukuran populasi (Waits, 2004; Lukacs and Burnham, 2005; Karanth *et al.*, 2012), dan jenis kelamin (Ahlering *et al.*, 2011). Sedangkan estimasi kelas umur dapat diketahui melalui pengukuran dimensi bolus kotoran gajah (Hedges *et al.*, 2006; Reilly, 2002). Meskipun tidak berhasil diterapkan pada populasi gajah sumatera sebelumnya, metode pengambilan sampel invasif telah memberikan perkiraan ukuran populasi yang dapat diandalkan di daratan Asia dan Afrika (Hedges *et al.*, 2013; Grey *et al.*, 2014). Studi tentang pengambilan sampel invasif untuk mengetahui ukuran populasi gajah sumatera telah dilakukan di Lansekap Bukit Tigapuluh, Sumatera Tengah yang merupakan bagian dari upaya pemerintah dan organisasi non-pemerintah seperti Forum Konservasi Gajah Indonesia (FKGI) dalam menyediakan data dasar pemantauan populasi dan perencanaan konservasi gajah sumatera. Upaya konservasi ini dilakukan dengan menggabungkan metode-metode genetika molekuler non-invasif.

Metode analisis molekuler lainnya adalah sekuensing. Perkembangan teknologi molekuler melalui sekuensing dapat digunakan untuk studi genomik suatu populasi, dan dapat menyediakan data genetik suatu individu. Sekuensing dapat menganalisis

kumpulan fragmen DNA yang heterogen menjadi urutan fragmen dari suatu individu tertentu dengan cara memperkuat fragmen DNA yang diperoleh dari proses isolasi (Mardis, 2008). Analisis molekuler dapat diaplikasikan untuk upaya konservasi satwa liar karena pendekatan genomik populasi dapat dilakukan dengan sedikit sumber daya genom (Garner *et al.*, 2016). Keuntungan dari pendekatan genomik adalah jumlah lokus yang diperoleh memiliki presisi yang jauh lebih tinggi dalam memperkirakan statistik genetik populasi atau mendeteksi pola, seperti diferensiasi genetik antar populasi atau hubungan filogenetik antar taksa (Hohenlohe *et al.*, 2019). Pengumpulan informasi ukuran populasi gajah sumatera dengan menggunakan analisis molekuler dapat dilakukan di Indonesia dan dapat membantu dalam upaya konservasi gajah sumatera. Pengumpulan informasi merupakan salah satu faktor yang dapat menyelamatkan gajah sumatera dari kepunahan, karena strategi konservasi nasional dan lokal dapat mengakibatkan sumber daya konservasi yang langka tidak dialokasikan secara memadai dan hilangnya peluang dalam melakukan upaya konservasi (Blake and Hedges, 2004).

#### **2.4. Analisis molekuler**

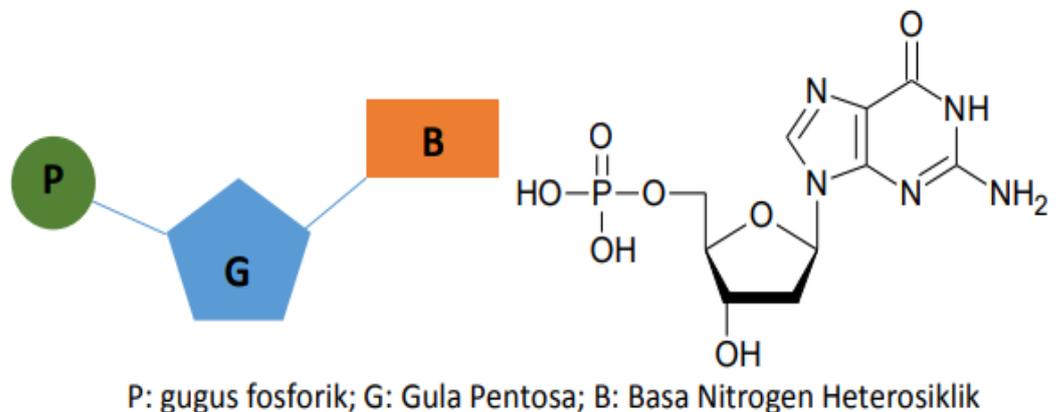
Analisis molekuler dalam upaya konservasi gajah sumatera dapat dilakukan berbasis pengambilan sampel non invasif atau disebut sampel non-invasif genetik (gNIS). Fungsi analisis molekuler dengan menggunakan gNIS adalah dapat mengetahui taksa target (Waits dan Paetkau 2005; Bohmann *et al.*, 2014), mendeteksi penyakit (Kohn dan Wayne 1997; Kolby *et al.*, 2015), mengidentifikasi faktor-faktor yang memengaruhi habitat dan pola distribusi (Lonsinger *et al.*, 2017; Pansu *et al.*, 2015), mengidentifikasi individu (Dixon *et al.*, 2006; Fabbri *et al.*, 2007; Proctor *et al.*, 2005), rasio jenis kelamin (Rudnick *et al.*, 2005; Woods *et al.*, 1999) dan ukuran populasi (Arandjelovic *et al.*, 2010; Davidson *et al.*, 2014; Kendall dkk. 2009; Woods dkk. 1999). Analisis genetik populasi menggunakan gNIS dapat digunakan untuk melihat karakterisasi struktur populasi, keragaman, dan aliran gen (Bi *et al.*, 2013; Epps *et al.*, 2005; Miller dan Waits 2003; Quemere *et al.*, 2010; Wultsch *et al.*, 2016). Analisis filogenetik (hubungan kekerabatan) juga dapat dilakukan dengan menggunakan sampel gNIS (Guschanski *et al.*, 2013;

Willerslev *et al.*, 2009). Analisis filogenetik bertujuan untuk mempelajari perkembangan evolusi suatu spesies atau kelompok organisme tertentu. Hasil dari analisis filogenetik berupa pohon filogenetik yang dapat menggambarkan sejarah evolusi atau hubungan atau ciri-ciri tertentu yang berasal dari nenek moyang yang sama (Dhutta, 2020). The European Bioinformatics Institute (2020) menyatakan bahwa analisis filogenetik bisa diterapkan dalam berbagai bidang, seperti taksonomi, forensik, epidemiologi, dan bioinformatika dan konservasi. Penggunaan analisis filogenetik berdasarkan data sekuen dalam bidang konservasi dapat membantu dalam penentuan kebijakan untuk upaya konservasi spesies yang dilindungi.

Adanya perkembangan teknologi yang mengakibatkan perkembangan analisis molekuler, salah satunya adalah perubahan analisis filogenetik, dimana sebelumnya dilakukan berdasarkan pada karakter morfologi namun sekarang telah dilakukan berdasarkan sekuen DNA melalui analisis molekuler dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan sekuensing (Hidayat dan Pancoro, 2008). Metode PCR adalah suatu teknik yang sangat tepat dan sering digunakan untuk biologi molekuler karena lebih mudah dan cepat (Chen *et al.*, 2009). Reaksi PCR adalah suatu metode enzimatik untuk amplifikasi DNA dengan cara *in vitro*. Reaksi PCR pertama kali dikembangkan pada tahun 1985 oleh Kary B. Mullis. Pada proses amplifikasi DNA oleh PCR diperlukan enzim yang dinamakan dengan *Taq polymerase* (Yusuf, 2010). Pestana *et al.*, (2010) menyatakan bahwa terdapat tiga tahapan penting dalam proses PCR yaitu *denaturasi*, *annealing* dan *extension*. Tahap *annealing* merupakan salah satu tahapan penting dalam PCR karena merupakan proses penempelan mer yaitu hibridisasi antara oligonukleotida primer dengan utas tunggal cetakan DNA. Primer merupakan nukleotida pendek berukuran 12-20 basa yang digunakan sebagai titik pelekatan enzim polimerase DNA (Riupassa, 2009). Primer yang digunakan dalam analisis molekuler gajah Sumatera pada umumnya berasal dari DNA mitokondria seperti *cythochrome B*, *displacement loop (D-Loop)* dan *cythochrome oxydase sub unit I (COI)*. Gen *COI* merupakan DNA mitokondria yang dapat digunakan sebagai DNA barcoding (Pentinsaari *et al.*, 2016) karena memiliki konsentrasi sekuens asam amino yang tinggi. Gen *COI* dapat ditemukan

hampir pada semua jenis hewan dan dapat digunakan sebagai penanda molekuler (*marker*) dalam pembentukan filogeni spesies dan studi populasi (Handayani, 2008), seperti pada gajah sumatera.

Salah satu gen penyandi protein di dalam genom mitokondria (mtDNA) adalah gen *Chytochrome Oxidase Sub Unit I* (COI) (Puspita, 2013). Gen COI merupakan salah satu marka molekuler yang digunakan untuk mengidentifikasi suatu spesies (Ward *et al.*, 2005). DNA mitokondria (Mitochondrial DNA; mtDNA atau mDNA) adalah materi genetik DNA yang berada di dalam mitokondria. Mitokondria adalah organel dalam sel eukariotik yang mengubah energi kimia dari makanan dalam bentuk yang dapat digunakan oleh sel, adenosin trifosfat (ATP). DNA mitokondria hanya sebagian kecil DNA dalam suatu sel eukariotik, sebagian besar DNA didapati pada nukleus sel, dan pada tumbuhan, juga dalam kloroplas. *Deoxyribonucleic acid* (DNA) merupakan polinukleotida untai ganda yang memiliki karakteristik komponen penyusun antara lain gula deoksiribosa, gugus fosfat dan basa nitrogen (adenin, guanin, timin dan sitosin) (Gambar 3). Untai DNA tersusun dari rangkaian nukleotida yang terhubung melalui ikatan fosfodiester yang terbentuk diantara gula pentosa dan gugus fosfat. Sedangkan, untai ganda DNA terhubung melalui ikatan hidrogen yang terbentuk diantara pasangan basa nitrogen (Nelson and Cox, 2008).



Gambar 3. Struktur *Deoxyribonucleic acid* (DNA) yang tersusun dari gugus fosfat, gula pentose, dan basa nitrogen (Nelson and Cox, 2008).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2022- Februari 2023. Penelitian ini di bawah program kegiatan *Tropical Forest Conservation Action for Sumatera* (TFCA Sumatera) “Analisis variasi genetik gajah sumatera menggunakan marka DNA mitokondria *D-Loop*” oleh Pusat Kajian Sains Terapan (PKST) Universitas Sriwijaya, Dr. Arum Setiawan, S.Si., M.Si. Penelitian ini bekerjasama dengan Balai Konservasi Sumber Daya Alam Sumatera Selatan (BKSDA Sumsel) dan Dinas Kehutanan Provinsi Sumatera Selatan. Pengambilan sampel kotoran gajah sumatera liar dilakukan di Desa Simpang Tiga, Tulung Selapan, Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan yaitu area hutan produksi tetap PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM), sedangkan analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Bioteknologi FMIPA Universitas Sriwijaya (UNSRI).

#### 3.2. Alat dan Bahan

##### 3.2.1. Peralatan

Alat yang digunakan dalam survei lapangan yaitu kamera Nikon Coolpix W300 dan GPS Garmin 64. Alat yang digunakan dalam preparasi sampel meliputi tabung *centrifugal* 10 ml, stik kayu, pita perekat, dan kertas label. Alat yang digunakan dalam analisis molekuler meliputi mikropipet beserta tipnya, *microtube* 1,5 ml, *spin column*, *collection tubes*, vortex, *centrifuge*, *spin down*, *PCR tube* 0,2 ml, *thermal cyclers*, *hot plate*, set alat elektroforesis, dan *digital documentation*.

##### 3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam preparasi sampel adalah sampel kotoran gajah sumatera, alkohol 96% sebagai *buffer*. Bahan yang digunakan untuk analisis molekuler meliputi kit isolasi DNA dari Zymo, yaitu *Zymo fecal kit* yang terdiri

dari *InhibitEx Buffer*<sup>®</sup>, proteinase K, *buffer AL*, *buffer AW1*, *buffer AW2*, dan *buffer AE*. Bahan elektroforesis terdiri dari *DNA marker* Invitrogen TrackIt<sup>™</sup> 100 bp *DNA Ladder catalog number* 104488058, bubuk gel agarosa, dan larutan buffer TBE (Tris Borate EDTA). Bahan amplifikasi DNA yaitu kit amplifikasi yaitu MyTaq<sup>™</sup> HS, satu pasang primer gen *COI* gajah sumatera, dan *nuclease-free water*.

### **3.3. Tahapan Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dengan tiga tahapan yaitu tahap pendahuluan, pengambilan data penelitian dan analisis molekuler. Ketiga tahapan secara rinci sebagai berikut:

#### **1. Tahap pendahuluan**

Tahap pendahuluan yaitu koordinasi perizinan penelitian dengan berbagai pihak seperti Universitas Sriwijaya (UNSRI) dan Balai Konservasi Sumber Daya Alam Sumatera Selatan (BKSDA Sumsel), dalam tahap pendahuluan juga dilakukan koordinasi dengan tim proyek penelitian yaitu Dr. Arum Setiawan, S.Si., M.Si.

#### **2. Tahap pengambilan data penelitian**

Pengambilan data penelitian dilakukan dengan survei lapangan dan pengambilan sampel kotoran gajah sumatera liar. Pengumpulan informasi dan pemetaan jalur aktif gajah sumatera liar dilakukan pada survei lapangan. Pengumpulan informasi dan pemetaan jalur aktif gajah sumatera liar dilakukan pada area Padang Sugihan Simpang Heran yaitu area hutan produksi tetap PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM). Proses pengumpulan informasi berupa waktu dan tempat keberadaan gajah sumatera liar dibantu oleh berbagai pihak yaitu Balai Konservasi Sumber Daya Alam Sumatera Selatan (BKSDA Sumsel), Dinas Kehutanan Provinsi Sumatera Selatan, Forum Konservasi Gajah Indonesia (FKGI) dan perusahaan yang konsesinya dilalui jalur jelajah gajah sumatera PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM). Informasi pendukung termasuk deskripsi lokasi temuan kotoran, ukuran kotoran (keliling dan diameter boli), jumlah kotoran (jumlah boli), morfologi kotoran, foto kotoran dan titik koordinat temuan. Inventori data kotoran gajah sumatera yang ditemukan dilakukan dengan menggunakan aplikasi *avenza map*.

Proses pengambilan sampel dilakukan pada kotoran gajah sumatera liar yang ditemukan pada jalur jelajah gajah di area hutan produksi tetap PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri (BKM). Pengambilan sampel kotoran gajah sumatera liar melibatkan tim peneliti yaitu mahasiswa S1 dan S2 Universitas Sriwijaya. Sampel kotoran diambil dengan metode *swab* sebagai berikut:

- a. Kotoran gajah sumatera bagian terluar yang masih mengandung lendir diambil menggunakan stik kayu sebanyak 2 kali usapan dan dimasukkan ke dalam tabung vakutainer 10 ml yang telah berisi *buffer* ethanol 96%.
- b. Tabung vakutainer yang telah berisi kotoran gajah sumatera ditutup, diberi perekat pada bagian tutup tabung dan diberi identitas sampel (kode sampel\_jenis sampel\_tanggal sampel\_tempat pengambilan sampel\_nama pengambil sampel)
- c. Tabung vakutaner berisi sampel disimpan dan diletakkan pada suhu dingin ( $-4^{\circ}\text{C}$ ).

### 3. Analisis molekuler sampel kotoran gajah sumatera

Analisis molekuler sampel kotoran gajah sumatera dilakukan melalui lima tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, elektroforesis dengan gel agarosa 2%, sekuensing dan analisis data. Tahapan analisis molekuler adalah sebagai berikut:

#### 1. Ekstraksi DNA sampel kotoran gajah sumatera liar

Sampel DNA yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 25 sampel. Materi genetik berupa DNA diperoleh dengan melakukan tahapan ekstraksi pada sampel kotoran gajah sumatera liar. Tahap ekstraksi dilakukan dengan menggunakan *procedure zymo fecal kit*.

#### 2. Amplifikasi DNA gajah sumatera liar dengan menggunakan marka DNA mitokondria *Cythochrome Oxydase Sub Unit 1 (COI)*

Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dengan primer DNA mitokondria *Cythochrome Oxydase Sub Unit 1 (COI)* (Tabel 1).

Tabel 1. Sekuens primer *Cythochrome Oxydase Sub Unit 1 (COI)*

Primer	Sekuens
<i>Forward</i>	3'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG- 5'
<i>Reverse</i>	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA- 3'

Amplifikasi dilakukan untuk memperbanyak jumlah materi genetik (DNA) dalam sampel. Sebelum amplifikasi dilakukan tahap pembuatan *mix master* dan *template* dengan mencampurkan 12,5 µl ®Platinum Blue PCR SuperMix Qty:100 rxn (4 × 1.125 mL ) dengan 1,75 µl primer forward *COI*, 1,75 µl primer reverse *COI* dan 19 µl *Nuclease Free Water* (NFW). Larutan *mix master* yang telah homogen ditambahkan dengan DNA template 5 µl. Tahap amplifikasi dilakukan dengan menggunakan *Veriti Thermal Cycler*. Tahap amplifikasi DNA meliputi predenaturasi yaitu persiapan pemisahan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal, denaturasi yaitu pemisahan kedua untai DNA, *annealing* merupakan proses penempelan primer pada untaian DNA tunggal, *extention* merupakan proses replikasi (perbanyak) DNA, dan *post extention* dilakukan sebagai bentuk penyempurnaan tahap amplifikasi. Tahap PCR dilakukan dengan suhu 95°C selama 5 menit untuk *predenaturation*, 95°C selama 20 detik untuk penyempurnaan *denaturation* DNA, 59°C selama 45 detik untuk proses *annealing*, 72°C selama 1 menit untuk tahap *extention* dan 72°C selama 7 menit untuk *post-extention*. Proses *denaturation*, *annealing*, dan *extention* diulangi sebanyak 34 kali.

### 3. Elektroforesis gel agarosa 2%

Elektroforesis merupakan tahap visualisasi hasil amplifikasi untuk mengetahui keberadaan DNA melalui mendaran sinar UV pada sumuran agarosa dengan menggunakan UV transiluminator. Tahap elektroforesis gel agarosa 2% dilakukan dengan mencampurkan bubuk agarosa 2 mg yang dilarutkan dalam buffer TBE 100 ml dan dipanaskan menggunakan hot plate selama 3 menit. Larutan gel agarosa diletakkan dalam cetakan gel yang telah diberi sisir pembuat sumuran gel. Larutan gel agarosa yang telah padat dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah ditambahkan buffer TBE hingga gel agarosa terendam. Larutan DNA hasil

ekstraksi sebanyak 5 µl dimasukan ke dalam sumuran gel agarosa. Elektroda kemudian dihubungkan dengan *power supply* selama 30 menit dengan tegangan 80 V. Setelah selesai, gel dipindahkan ke dalam *digital document* untuk divisualisasi.

#### 4. Sekuensing

Sekuensing dilakukan dengan mengirimkan sampel hasil amplifikasi kepada *1<sup>st</sup> Base* melalui PT. Genetica Science untuk dianalisis urutan basa nitrogen dari sampel DNA gajah sumatera liar yang telah diamplifikasi dengan menggunakan primer *Chytocrome Oxydase Sub Unit I (COI)* (Susanto, 2021). Sekuensing bertujuan untuk mengetahui urutan basa nitrogen pada DNA sampel. Sekuensing dilakukan dengan menggunakan alat bernama *sequencer* yang akan menjalankan proses PCR pada sampel.

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 dideoksinuleotida trifosfat (ddNTP) yang telah diberi penanda fluoresen. 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 (Hofmann and Clokie, 2018).

#### 5. Analisis data

Analisis data hasil sekuensing dilakukan dengan menggunakan aplikasi Genestudio untuk menggabungkan sekuens DNA bagian *forward* dan *reverse* sampel yang terpisah menjadi satu sekuens DNA, mesquite untuk mengkonversi format data sekuens DNA untuk dapat dianalisis, Mega 11 dan DNASp berfungsi untuk mengetahui variasi genetik, jarak genetik dan membangun peta filogenetik dari sekuens DNA sampel. Analisis yang dilakukan adalah analisis tingkat variasi genetik, tingkat mutasi dan jarak genetik gajah sumatera liar di daerah Padang Simpang Heran.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Hasil Penelitian yang telah dilakukan tentang analisis molekuler DNA Mitokondra *Cythochrome Oxydase Sub-Unit 1 (COI)* untuk konfirmasi gajah sumatera berbasis kotoran di Kantong Habitat Sugihan Simpang Heran yaitu area konsesi PT. Bumi Khatulistiwa Mandiri dengan Desa Simpang Tiga Abadi, Tulung Selapan menunjukkan hasil sebagai berikut:

1. *Cythochrome Oxydase Sub-Unit 1 (COI)* dapat digunakan sebagai gen penyandi untuk konfirmasi spesies gajah sumatera melalui analisis molekuler berbasis sampel kotoran
2. Nilai variasi genetik berdasarkan keragaman nukleotida hasil analisis molekuler sampel kotoran gajah sumatera di area PT. BKM dan Desa Simpang Tiga Abadi termasuk dalam kategori sedang ( $P_i: 0,67$ ) dengan dua jenis mutasi yaitu insersi dan delesi.

### 5.2. Saran

Masukan dan saran yang dapat dilakukan yaitu melakukan analisis genetik dengan metode mikrosatelit dan analisis paternal individu untuk pengumpulan data yang lebih lengkap sebagai upaya meminimalisir kemungkinan terjadinya perkawinan silang dalam (*inbreeding*). Sebagai upaya untuk mengurangi konflik manusia dan gajah di area PT. BKM dapat dilakukan sosialisasi peran penting gajah Sumatera bagi ekosistem dan pembuatan demplot pakan gajah alami berlapis sebagai barrier gajah untuk dapat masuk ke area perkebunan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., dan Japisa, T. 2012. Karakteristik Habitat Gajah Sumatra (*Elephas maximus sumatranus*) di Kawasan Ekosistem Seulawah Kabupaten Aceh Besar. Aceh. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi*. 4(1):41-45
- Abukari, H., and Mwalyosi, R.B. 2020. Local communities' perceptions about the impact of protected areas on livelihoods and community development. *Global Ecology and Conservation*. 22(e00909): 1-12.
- Anggrita, A., Nasihin, I., and Hendrayana, Y. 2018. Keanekaragaman Jenis dan Karakteristik Habitat Mamalia Besar di Kawasan Hutan Bukit Bahohor Desa Cipaten Kecamatan Hantara Kabupaten Kuningan. *Wanaraksa*. 11(01): 21–29.
- Ahlering, M. A., Hedges S., Johnson A., Tyson M., Schuttler S. G., and Eggert L.S. 2010. Genetic Diversity, Social Structure, and Conservation Value of The Elephants of the Nakai Plateau, Lao PDR, Based On Non-invasive Sampling. *Conservation genetics*. 12 (2): 413-422
- Asiyah, S. 2016. *Teknik pengambi lan sampel darah gajah sumatra (Elephas maximus sumatranus ) di Pusat Latihan Gajah, Taman Nasional Way Kambas*. Laporan Kerja Praktek. Lampung. Jurusan Biologi, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- Asiyah, S. 2017. *Uji Kualitatif DNA Gajah Sumatra (Elephas maximus sumatranus) di Pusat Latihan Gajah Taman Nasional Way Kambas*. Skripsi. Lampung. Jurusan Biologi, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- Chen, M., Shelton A.M., Wang P., Hoepting C.A., Kain W., and Brainard D.C. 2009. Occurrence of the new invasive insect, *Contarinia nasturtii* (Kieffer) (Diptera: Cecidomyiidae), on cruciferous weeds. *Journal of Economic Entomology*. 102(1): 115–120.
- CITES. 2021. *Appendices I, II, and III*. <https://www.cites.org/eng/app/appendices.php>. diakses pada Sabtu, 01 Mei 2021 pukul 19.03 WIB.

- Dewi, W. Parameita. 2017. *Analisa Kekerabatan Gajah Sumatra (Elephas maximus sumatranus) Melalui Identifikasi Gen Cytochrome Oxidase Subunit I Dengan Metode Polymerase Chain Reaction*. Skripsi. Malang. Program Studi Pendidikan Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
- Eltringham, S. K. 1982. *Elephants*. Dorset: Blanford Press Book.
- Febriyanto. 2015. Analisis peran Taman Nasional Way Kambas (TNWK) terhadap aktivitas perekonomian masyarakat: Studi kasus pada masyarakat sekitar TNWK. *Dinamika*. 1(1):31-48.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using The Bootstrap. *Evolution*. 39(57):783-791.
- Fernando, P., Frender M.E., Encalada S.E., and Lande R. 2000. Mitochondrial DNA Variation, Phyleogeography and Population Structure of the Asian Elephant. *Heredity*. 84(27): 362-72.
- Fernando, P., Vidya T.N.C., Rajapakse C., Dangolla A., and Melnick D.J. 2003. Reliability of non-invasive genotyping: Fantasy or reality?. *Heredity*. 94(15): 115–123.
- Fernando, P., Payne J., Davison G., Alfred R. J., Stuewe M., and Melnick D.J. 2006. Genetic assessment of Borneo elephants: origin and conservation Implications. *Jurnal Gajah*. 24(4):54-69.
- Firqan, I. 2012. *Melirik Peran dan Daya Guna Taman Konservasi Gajah di Lampung - ASTACALA*. <https://astacala.org/2012/03/melirik-peran-dan-daya-guna-taman-konservasi-gajah-di-lampung/>. diakses pada Sabtu, 01 Mei 2021. Pukul.19.45 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(102):1882–1892.
- Frankham, R., Ballou J.D., and Briscoe D.A. 2004. *A Primer Of Conservation Genetics*. Cambridge University Press. ISBN 0521538270.
- Gopala, A., Hadian O., Sunarto, Sitompul A., Williams A., Leimgruber P., Chambliss S.E., and Gunaryadi D. 2011. *Elephas maximus* ssp. *sumatranus*. *The IUCN Red List of Threatened species* 2011. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T199856A9129626.en>. diakses pada Sabtu, 01 Mei 2021 pukul 09.13 WIB.
- Handayani. 2008. *Analisis DNA Mitokondria Badak Sumatra Dalam Konservasi Genetik*. Bogor. Institut Pertanian Bogor

- Hidayat dan Herman. 2011. *Politik Ekologi Pengelolaan Taman Nasional Era Orda*. LIPI Press. Jakarta
- IUCN. 2012. *IUCN Red List Of Threatened Species: Version 2013*. <https://www.iucnredlist.org/> diakses pada 31 Oktober 2020.
- Jajak, M.D. 2004. *Binatang-Binatang yang Dilindungi*. Progres. Jakarta.
- Kementrian Kehutanan. 2006. *Peraturan Menteri Kehutanan Nomor: P. 52/Menhut II/2006. Tentang Peragaan Jenis Tumbuhan dan Satwa Liar Dilindungi*. Jakarta. Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia.
- Kementerian Kehutanan. 2011. *Balai Konservasi Sumber Daya Alam Sumatra Selatan: Laporan Tahunan 2011: Brigade Pengendalian Kebakaran Hutan Manggala Agni Sumatra Selatan*. Jakarta. Direktorat Konservasi Keanekaragaman Hayati, Direktorat Jendral Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem, Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia.
- Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia. 2020. *Rencana Tindakan Mendesak Penyelamatan Populasi Gajah Sumatra (Elephas maximus sumatranus) 2020-2023*. Jakarta. Direktorat Konservasi Keanekaragaman Hayati, Direktorat Jendral Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem, Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia.
- Kemf, E. and Santiapillai C. 2000. *Asian Elephants in the Wild*. A WWF Species Status Report. WWF International, Gland, Switzerland.
- Konsorsium YOSL/OIC-PILI. 2018. *Rencana Pengelolaan Kolaboratif Taman Nasional Way Kambas, Provinsi Lampung Tahun 2018-2023*. Lampung. YOSL/OIC-PILI.
- Lekagul, B., and J.A. McNeely, 1977. *Mammals of Thailand*. Sahakarnbhat Co. Bangkok.
- Mahanani, A.I. 2012. *Strategi Konservasi Gajah Sumatra (Elephas maximus sumatranus Temminck) di Suaka Margasatwa Padang Sugihan Provinsi Sumatra Selatan Berdasarkan Daya Dukung Habitat*. Tesis. Ilmu Lingkungan. Semarang. Universitas Diponegoro.
- Mercy, A.D. 2009. Feeding of Elephant. *Healthcare Management of Captive Asian Elephants*. 6(8): 59 – 63.
- Moeliono, M., Limberg, G., Minnigh, P., Mulyana, A., Indriatmoko, Y., Utomo, N.A., Saparuddin, Hamzah, Iwan, R., and Purwanto, E. 2010. *Meretas*

*kebuntuan: Konsep dan panduan pengembangan zona khusus bagi Taman Nasional di Indonesia*. Bogor, Indonesia: Centre for International Forestry Research (CIFOR).

Mukhtar. 2004. *Taman Nasional Way Kambas Daya Tarik Kepariwisata Lampung*. <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/1841>, diakses pada Kamis, 10 September 2020 pukul 21.08 WIB.

Nyhus P., and R. Tilson . 2004. Agroforestry, elephants, and tigers: balancing conservation theory and practice in human-dominated landscapes of Southeast Asia. *Jurnal Agriculture, Ecosystems and Environment*. 104 (9):87-97

O’Riordan, T., and Stoll-Kleemann, S. 2002. *Biodiversity, sustainability and Humancommunities: Protecting beyond the protected*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Padang, K., Satya, D., Rejeki, I.S., Rangga, F., Samedi, Rahmadetiassani, A., Gunaryadi, D., Gumay, D., Muslich, M., Imansyah, M.J., Budiana, R., Sukmantor, W., Syarif, A., Hardianto, R.I., Putra, R., Riana, N., Sarwono, L.A., Nazaruddin, Wahyu, M., Azmi, W., Setiawan, D.H., dan Sunarto. 2020. *Rencana Tindakan Mendesak Penyelamatan Populasi Gajah Sumatera (Elephas maximus sumatranus) 2020-2023*. Jakarta. Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan. Republik Indonesia.

Pentinsaari, M., H. Salmela, M. Mutanen, and T. Roslin. 2016. Molecular evolution of a widely-adopted taxonomic marker (COI) across the animal tree of life. *Scientific Reports*. 6(1):1-12

Perrera, B.M.A.O. 2009. The human elephant conflict: A review of current status and mitigation methods. *Gajaha*. 30(3):41-52.

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 Application*. Dordrecht: Springer

Pratiwi, P., Rahayu, P.S., Rizaldi, A., Iswandaru, D., dan Winarno, G.D. 2020. Persepsi masyarakat terhadap konflik manusia dan Gajah Sumatra (*Elephas maximus sumatranus* Temminck 1847) di Taman Nasional Way Kambas. *Jurnal Sylva Lestari*.8(1): 98-108.

Rakatama. A. 2016. Impacts, patterns, influencing factors and policies of fuelwood extraction in Way Kambas National Park, Indonesia. *Journal of Forestry Research*. 3(1): 33-47,

- Rood, E., Ganie A.A., and Nijman V. 2010. Using presence-only modeling to predict Asian elephant habitat use in tropical forest landscape implications for conservation. *Diversity and Distributions*. 16(6): 975–984.
- Rustiati E.L., J. Master, D. Wibowo, Priyambodo, E. S. Ariyanti, E. V. Renata, dan N. Nurcahyani. 2017. Indirect approach on wildlife mitigation conflict in Way Kambas National Park: Ecotourism building in Braja Harjosari of Wisata Desa Way Kambas. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat Sakai Sambayan*. 1(2): 41-45,
- Rustiati, E.L., Junaidi, and Priyambodo. 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.
- Rustiati, E.L., Priyambodo, N. Nurcahyani, D. Candra, D.E. Anggraini, E.D. Krismuniarti, E. Saswiyanti, E.A. Srihanto, L. Angeliya, S. Asiyah. 2018. DNA Isolation on captive sumatran elephant in Elephant Training Center, Way Kambas National Park: A first step towards its ID card. *The international journal of tropical veterinary and biomedical research (UTVBR)*. 3(1): 4-6.
- Rustiati, E.L., Priyambodo, T. Novianasari, D.N. Pratiwi, E.A. Srihanto and L. Angeliya. 2019. Comparative study on DNA Extraction's qualitative analysis of captive Sumatran elephant in Elephant Training Center, Way Kambas National Park. *Journal of Physics: Conference Series*. 1338 (2019) 012029.
- Rustiati, E.L., Priyambodo, Y. Yulianti, E. A. Srihanto, D. N. Pratiwi, E. Virnarenata, T. Novianasari, E. D. Krismuniarti, E. Saswiyanti. 2020. The Essential Contribution of Captive Sumatran Elephant in Elephant Training Center, Way Kambas National Park for Wildlife Genetics Conservation. *Biovalentia: Biological Research Journal*. 6 (1):38-42.
- Santiapillai C., and Jackson P. 1990. *The Asian Elephant: An Action Plan for its Conservation*. IUCN/SSC Asian Elephant Specialist Group. IUCN, Gland Switzerland
- Shehnam, S. 2012. *Polymerase Chain Reaction*. Germany. Lap Lambert Academic Publishing GmbH KG.
- Soehartono, T., Herry, D.S., Arnold, R.S., Donny, G., Elisabet, M.P., Wahdi, A., Nurchalis, F., dan Christopher, F. 2007. *Strategi dan Rencana Aksi Konservasi Gajah Sumatra dan Gajah Kalimantan 2007-2017*. Direktorat Jenderal Perlindungan Hutan dan Konservasi Alam. Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Sukumar, R. 2003. *The Living Elephants*. Oxford University Press. Oxford.

- Tarmizi. 2008. *Pemilihan Habitat Gajah Sumatra (Elephas maximus sumatranus) di Cagar Alam Jantho Kabupaten Aceh Besar*. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- Veriasa, T.O., dan Indraswati, E. 2021. *Hasrat di Tepi Rimba: Memahami Faktor Penentu Sikap dan Perilaku Masyarakat di Pinggiran Taman Nasional*. Jakarta: Asean Center for Biodiversity and Pusat Informasi Lingkungan Indonesia (PILI Green Network)
- Vidya, T.N.C. 2016. Evolutionary History and Population Genetic Structure of Asian Elephants in India. *Indian Journal of History of Science*. 51.2.2: 391-405.
- Wiratno. 2018. *Sepuluh cara baru kelola kawasan konservasi di Indonesia: Membangun 'Organisasi Pembelajar'*. Jakarta. Direktorat Konservasi Keanekaragaman Hayati, Direktorat Jendral Konservasi Sumber Daya Alam dan Ekosistem, Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia.
- World Wildlife Fund [WWF]. 2010. *Gajah Sumatra*. <https://www.wwf.id/spesies/gajah>. diakses pada Sabtu, 01 Mei 2021 pukul 19.17