

RASIO SEKS DAN SEBARAN SPASIAL POPULASI GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus sumatranus*) DI TAMAN NASIONAL TESSO NILO, RIAU

Nico Herlambang¹, Haris Gunawan¹, Herawati Sudoyo²

¹Bidang Ekologi Departemen Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Indonesia

²Lembaga Biologi Molekular Eijkman, Jakarta, 10430, Indonesia

jr.nico13@gmail.com

ABSTRACT

The Sumatran Elephant (*Elephas maximus sumatranus*) is one of the largest mammal and endemic species on the island of Sumatra. It's conservation status is critically endangered. The information about sex ratio and spatial distribution is an important component to make a priority in conservation strategy. The aims of this study were to determine sex ratio and spatial distribution of Sumatran Elephant in Tesso Nilo National Park. The multiplex PCR method was used in this study to amplify fragments *SRY1* and *AMELY2* on the Y chromosome and fragment *PLP1* on the X chromosome for sex identification in Sumatran Elephant. The analysis of spatial distribution were conducted using Arc GIS 10.1. The result indicated that sex ratio of Sumatran Elephant population in TNNP is 1:3 and the distribution of Sumatran Elephant is generally spread outside of the region TNNP.

Keywords : Conservation strategies, Multiplex PCR, Sex ratio, Spatial distribution, Sumatra elephant

ABSTRAK

Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) merupakan mamalia darat terbesar dan endemik di Pulau Sumatera dan berstatus terancam (*critically endangered*). Informasi mengenai rasio seks dan sebaran spasial merupakan komponen penting untuk menentukan strategi konservasi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan rasio seks dan mengetahui sebaran spasial gajah sumatera di Taman Nasional Tesso Nilo. Penelitian ini menggunakan metode multipleks PCR untuk mengamplifikasi fragmen *SRY1* dan *AMELY2* pada kromosom Y dan fragmen *PLP1* pada kromosom X dalam identifikasi jenis kelamin. Analisis sebaran spasial menggunakan program Arc GIS 10.1. Hasil penelitian menunjukkan rasio seks populasi gajah di TNTN ialah 1:3 dan individu gajah sumatera umumnya tersebar di luar kawasan TNTN.

Kata kunci : Gajah sumatera, Multipleks PCR, Rasio seks, Sebaran spasial, Strategi konservasi

PENDAHULUAN

Gajah Sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) merupakan salah satu subspesies Gajah Asia yang endemik di Pulau Sumatera. Gajah Sumatera tersebar di tujuh provinsi yaitu Nanggroe Aceh Darussalam, Sumatera Utara, Riau, Jambi, Bengkulu, Sumatera Selatan dan Lampung (Soehartono dkk. 2007). Tingginya angka kerusakan habitat dan konversi lahan mengakibatkan semakin hilangnya habitat gajah, sehingga IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) mengkategorikan gajah sumatra masuk kedalam *Red List* dengan status *critically endangered* (Desai & Samsuardi 2009; IUCN 2011).

Taman Nasional Tesso Nilo (TNTN) merupakan salah satu kantong populasi gajah sumatera yang tersisa di Provinsi Riau dengan luas 83068 ha dan didominasi oleh dataran rendah dan hutan rawa gambut dangkal yang sesuai dengan habitat gajah sumatera, sehingga menjadikan TNTN sebagai kawasan perlindungan gajah sumatera terbesar di Riau (Desai & Samsuardi 2009).

Informasi mengenai rasio seks dan sebaran spasial dapat digunakan sebagai acuan menentukan strategi konservasi gajah sumatera di Riau (Santiapillai 1997). Rasio seks akan memberikan gambaran ukuran minimum populasi yang mampu bertahan. Pendekatan secara genetika molekular dapat digunakan untuk memperlihatkan identifikasi jenis kelamin secara pasti suatu populasi, sehingga dapat digunakan sebagai dasar penentuan rasio seks pada populasi gajah sumatera (Ahlering dkk. 2011).

Pola dan persebaran gajah dapat memberikan informasi mengenai daya

jelajah serta kemungkinan konflik antara gajah dengan manusia. Informasi tersebut dapat digunakan sebagai upaya pencegahan terjadinya konflik serta gangguan lain yang dapat mengancam populasi gajah (Powel 2000; Rood 2010).

Penelitian secara mendalam dan menyeluruh mengenai rasio seks dan sebaran spasial penting dilakukan pada populasi gajah di TNTN, sehingga tujuan dari penelitian ini adalah Menentukan rasio seks dan sebaran spasial populasi gajah sumatera di Taman Nasional Tesso Nilo.

METODE PENELITIAN

a. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap, yaitu Tahap Lapangan untuk pengumpulan sampel feses pada tanggal 1 Juli 2012 hingga 5 November 2012 di Taman Nasional Tesso Nilo. Tahap Laboratorium untuk identifikasi jenis kelamin pada bulan februari hingga september 2013 di Lembaga Biologi Molekular Eijkman, Jakarta. Analisis sebaran spasial di Laboratorium Ekologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau.

b. Prosedur Penelitian

1. Koleksi Sampel

Sampel diambil secara aseptis, permukaan sampel yang mengkilat dan berlendir yang mengkilat dan berlendir diambil menggunakan stik kayu dan dimasukkan dalam tabung sentrifuse yang berisi 20 ml buffer DETs hingga volume tabung menjadi 25 ml. Feses kemudian disimpan dalam suhu -20°C untuk menjaga kualitas sampel.

2. Identifikasi Jenis Kelamin

i. Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan selama dua hari, tahapan hari pertama ialah sebanyak 800 μL sampel ditambahkan dengan Buffer ASL sebanyak 1000 μL dan 50 μL Proteinase-K, kemudian sampel diikubasi minimal 16 jam dalam *waterbath* pada suhu 55°C.

Tahapan hari kedua ialah sampel hasil inkubasi disentrifugasi pada kecepatan 14000 rpm selama 1 menit, diambil supernatant sebanyak 1400 μL kemudian ditambahkan InhibitEX lalu divorteks. Sampel disentrifugasi pada kecepatan 14000 rpm selama 5 menit, semua supernatant dipipet ke tabung mikrosentrifus yang telah label sebelumnya, kemudian disentrifugasi pada 14000 rpm selama 3 menit.

Sebanyak 600 μL supernatant sampel ditambahkan 600 μL Buffer AL kemudian diinkubasi dalam *thermomixer* pada suhu 70°C, waktu 10 menit dan kecepatan 350 rpm, setelah inkubasi sampel ditambah 600 μL ethanol absolut. Sebanyak 600 μL sampel dimasukkan ke *qiagen spin column*, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 14000 rpm selama 1 menit. Setelah itu, *collecting tube* yang berisi supernatant dibuang dan *qiagen spin column* dipasang pada *collecting tube* baru lalu 600 μL sisa sampel dimasukkan ke *qiagen spin column* kemudian disentrifugasi pada kecepatan 14000 rpm selama 1 menit. Setelah itu, dibuang *collecting tube* yang berisi supernatant dan *qiagen spin column* dipasang pada *collecting tube* yang baru, sisa sampel dimasukkan ke *qiagen spin column*, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 14000 rpm selama 1 menit.

Qiagen spin column dipasang pada *collecting tube* baru lalu ditambah 500 μL Buffer AW1 dan disentrifugasi pada kecepatan 14000 rpm selama 1 menit. Setelah itu, *qiagen spin column* dilepas dari *collecting tube* kemudian sisa Buffer AW1 dibuang dari *collecting tube* dan dipasang kembali. Buffer AW2 sebanyak 500 μL ditambahkan ke *qiagen spin column* kemudian disentrifugasi pada kecepatan 14000 rpm selama 3 menit. Setelah itu, *qiagen spin column* dipasang pada *collecting tube* baru untuk disentrifugasi pada kecepatan 14000 rpm selama 2 menit. *Qiagen spin column* dilepas dari *collecting tube* lalu *qiagen spin column* dipasang pada *tube* 1.5 mL.

Sebanyak 50 μL Buffer AE dipipet kedalam *qiagen spin column*, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu ruang dan disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 1 menit. Setelah itu, *qiagen spin column* dilepas dari *tube* 1,5 mL dan dipasang pada *collecting tube* untuk disimpan pada suhu ruang. Tabung mikrosentrifus 1,5 mL yang berisi DNA kemudian dikuantifikasi dengan menggunakan Nanodrop Spectrophotometer ND-1000 lalu DNA disimpan didalam *freezer* pada suhu -20° C.

ii. Amplifikasi DNA

Amplifikasi menggunakan metode multipleks PCR yang terdiri atas campuran 1X AmpliTaq Gold® 360 DNA Polymerase (PCR Kit), 0,4 pmol primer *SRY1 forward*, 0,4 pmol primer *SRY1 reverse*, 0,4 pmol primer *AMELY2 forward*, 0,4 pmol primer *AMELY2 reverse*, 0,4 pmol primer *PLP1 forward*, 0,4 pmol primer *PLP1 reverse*, 2,0 mM MgCl₂ dan DNA template. Proses

amplifikasi sebanyak 40 siklus, dengan predenaturasi pada 95°C selama 10 menit, denaturasi pada 95°C selama 30 detik, tahap *annealing* pada 59°C selama 30 detik, dan tahap ekstensi pada 72°C selama 45 detik. Selanjutnya tahap ekstensi akhir pada 4°C selama 10 menit.

iii. Identifikasi Jenis Kelamin

Proses identifikasi jenis kelamin menggunakan elektroforesis, produk hasil PCR divisualisasi menggunakan elektroforesis gel agarose. Pemisahan fragmen menggunakan 2% gel agarosa SeaKem LE (Lonza, Rockland, United states) yang dicampur 1X Buffer TBE, kemudian ditambahkan 1% ETBR (Ethidium Bromida). Produk hasil PCR dijalankan pada tegangan sebesar 70 volt selama 1 jam 20 menit.

Gel divisualisasi menggunakan GelDoc® 1000 (Biorad, California, United States) dan program Quantity One 4.6.1. Hasil positif untuk sampel jantan ialah 3 pita (*PLP1*, *AMELY2*, *SRYI*) dan hasil positif untuk betina ialah 1 pita (*PLP1*) (Ahlering dkk. 2011).

3. Penentuan Rasio Seks

Data individu dikomparasi dengan data identifikasi jenis kelamin pada seluruh sampel, kemudian data diolah menggunakan program Microsoft Excel 2007 untuk menentukan rasio seks.

4. Penentuan Sebaran Spasial

Data koordinat penemuan sampel dilapangan akan dikomparasikan dengan data hasil *recapture* dari hasil analisis mikrosatelit. Individu yang memiliki minimal 3 kali hasil *recapture* akan

dihitung daya jelajahnya (*home range*). Estimasi daya jelajah menggunakan *Minimum Convex Polygon* (MCP). Data sebaran spasial akan dipetakan dengan menggunakan program Arc GIS 10.1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Koleksi Sampel, Ekstraksi dan Kuantifikasi DNA

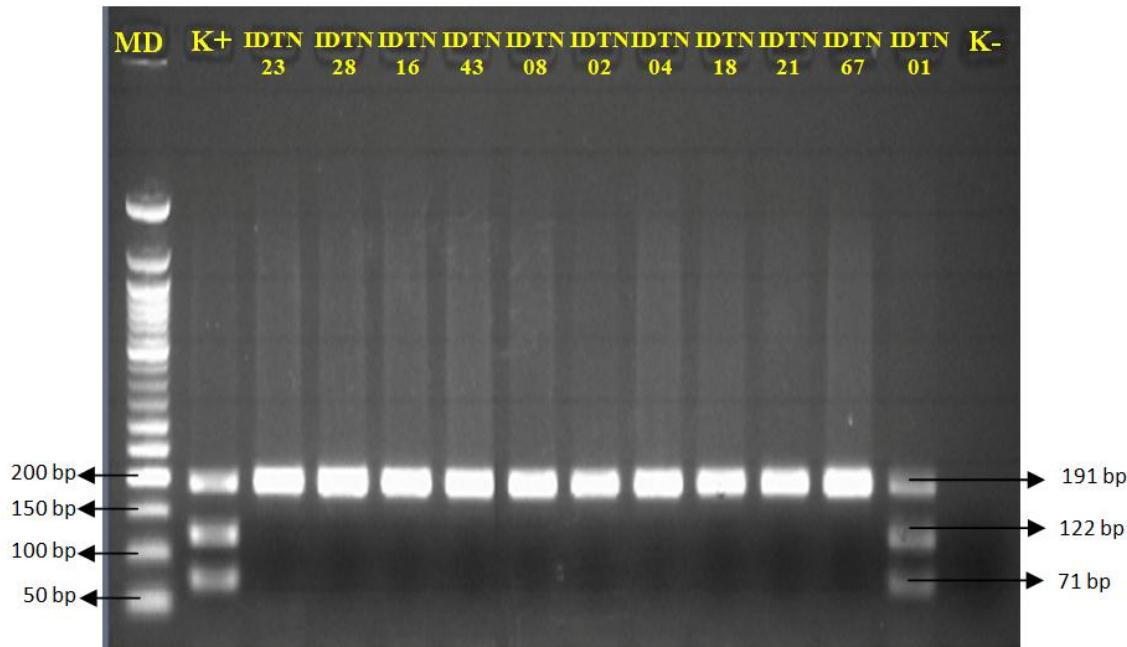
Survei lapangan di Taman Nasional Tesso Nilo berhasil mengumpulkan 147 sampel selama 5 kali ulangan. Sebanyak 108 sampel dari 147 sampel diekstraksi menggunakan QIAamp® DNA Stool Mini Kit. Hasil kuantifikasi DNA menunjukkan bahwa 108 sampel berhasil diekstraksi dengan rerata konsentrasi DNA sampel sebesar 210,8 ng/µL, dengan nilai tertinggi yaitu 499,8 ng/µL dan nilai terendah yaitu 68,3 ng/µL. Tingkat kemurnian DNA (A260/280) pada keseluruhan sampel memiliki rerata 1,69 dengan nilai tertinggi yaitu 2,00 dan nilai terendah yaitu 1,32. Sebanyak 80 sampel dengan absorbansi dibawah 1,80 serta 28 sampel dengan absorbansi 1,80 – 2,00.

Penggunaan metode ekstraksi DNA menggunakan QIAamp® DNA Stool Mini Kit cocok digunakan pada sampel yang bersifat nonivasif seperti feses. Hal ini dapat dilihat dari tingginya rerata konsentrasi DNA dan tingkat kemurnian yang relatif baik pada keseluruhan sampel yang berhasil diekstraksi.

B. Identifikasi Jenis Kelamin

Berdasarkan hasil amplifikasi menggunakan multipleks PCR kemudian pemisahan frgamen menggunakan gel elektroforesis, diperoleh sebanyak 28 sampel gajah jantan dan 80 sampel gajah

betina. Hasil visualiasi pada Gambar 1 menunjukkan bahwa sampel jantan akan menunjukkan 3 pita (*PLP1*, *AMELY2*, *SRYI*) sedangkan sampel betina akan menunjukkan 1 pita (*PLP1*).



Gambar 1. Visualisasi produk PCR menggunakan gel elektroforesis (Ket: MD = Marka DNA (NEB 50bp ladder); K+ = Kontrol Positif; K- = Kontrol Negatif), individu jantan akan menunjukkan tiga buah pita (*PLP1*, *AMELY2*, *SRYI*) sedangkan individu betina akan menunjukkan satu pita (*PLP1*)

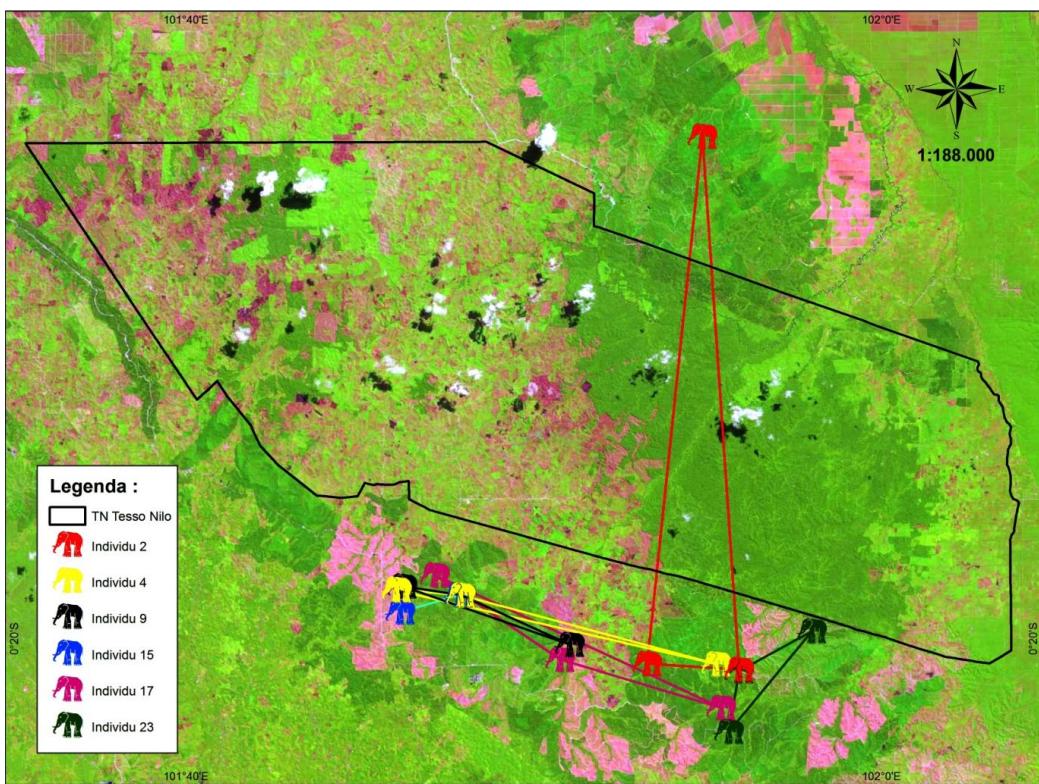
C. Penentuan Rasio Seks

Komparasi data analisis mikrosatelit dengan identifikasi jenis kelamin menghasilkan 73 individu gajah sumatera dari 108 sampel. Rasio seks pada populasi gajah sumatera di TNTN ialah 1:2,65 (1:3) dengan 20 individu jantan dan 53 individu betina. Rasio ini tergolong cukup ideal menurut penelitian Williams (2007) di Taman Nasional Rajaji, India dengan rasio seks 1:1,87 (1:2) dan Katugaha dkk. (1999) di Taman Nasional Sri Lanka dengan rasio seks 1:1,85 (1:2).

D. Penentuan Sebaran Spasial

Hasil *re-capture* sampel feses gajah sumatera berdasarkan analisis mikrosatelit menunjukkan bahwa enam individu gajah sumatera betina dapat

dihitung luas jelajahnya, hal ini disebabkan hanya data *recapture* dari individu tersebut yang membentuk *polygon* dan dapat dihitung. Hasil penghitungan luas jelajah menunjukkan bahwa daerah jelajah terluas ialah 69,40 Km² dan wilayah jelajah ter sempit ialah 1,92 Km². Sedangkan untuk IDTN 04, 09, 17 dan 23 memiliki luas jelajah berturut-turut ialah 4,66 Km², 2,71 Km², 10,61 Km² dan 5,68 Km². Luas jelajah dipengaruhi oleh ketersediaan sumber daya pakan dan air, fragmentasi habitat dan pola reproduksi.



Gambar 2. Peta daerah jelajah individu gajah sumatera menggunakan MCP, IDTN02 memiliki daya jelajah terluas ($69,40 \text{ Km}^2$) sedangkan IDTN15 memiliki luas jelajah tesempit ($1,92 \text{ Km}^2$)

KESIMPULAN

Rasio seks pada populasi gajah sumatera di TNTN ialah 1:2,65 (1:3) dan individu gajah sumatera di TNTN memiliki luas jelajah yang bervariasi dengan daerah jelajah terluas ialah $69,40 \text{ Km}^2$ dan wilayah jelajah ter sempit ialah $1,92 \text{ Km}^2$. Pada umumnya sebaran individu gajah sumatera di TNTN berada di luar kawasan TNTN.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada *World Wild Fund for Nature* (WWF) Indonesia Program Riau yang telah memberikan dukungan selama

pengambilan sampel di lapangan dan proses analisis sampel di Lembaga Eijkman. Terima kasih disampaikan kepada lembaga Eijkman yang telah menyediakan fasilitas selama melakukan analisis molekuler. Terima kasih kepada Sunarto Ph.D dan Wishnu Sukmantoro, M.Si atas saran yang diberikan selama survei di Lapangan serta kepada rekan-rekan Tim I faecal DNA dan rekan-rekan Laboratorium Mitokondria I Lembaga Eijkman.

DAFTAR PUSTAKA

Ahlering MA, Hailer F, Roberts MT, Foley C. 2011. A simple and accurate method to sex savannah forest, and asian elephants using

- noninvasive sampling techniques. *Mol. Ecol. Res.* 11: 831-834.
- Ahlering MA, Hedges S, Johnson A, Tyson M, Schuttler SG, Eggerts LS. 2010. Genetic diversity, social structure, and conservation value of the elephants of the Nakai Plateau, Lao PDR, based on non-invasive sampling. *Conserv. Genet.* 413-422.
- Desai AA. & Samsuardi. 2009. *Status of Elephants In Riau Province, Sumatra*. WWF-Indonesia.
- IUCN. 2011. Sumatran Elephant (*Elephas maximus sumatranus*): 1-7.
- Katugaha HIE, de Silva M. & Santiapillai. 1999. A long-term study on the dynamics of the elephant (*Elephas maximus*) in Ruhuna National Park, Sri Lanka. *Biol. Conserv.* 89: 51-59.
- Powell RA. 2000. Animal home ranges and territories and home range estimators. Di dalam: Boitani L, Fuller TK. *Research technique in animal ecology*. New York: Columbia University Press.
- Soehartono T, Susilo HD, Sitompul AF, Gunaryadi D, Purastuti EM, Azmi W, Fadhl N, Stremme C. 2007. *Strategi dan rencana aksi konservasi Gajah Sumatera dan Gajah Kalimantan*. Departemen Kehutanan. Jakarta: Indonesia.
- Williams C, Jhonsingh AJT, Krausman PR. 2007. Population estimation and demography of the Rajaji National Park elephants, North-West India. *J. of Bombay Natl. Hist. Soc.* 104: 145-152.