

**ANALISIS MIKROSATELIT PADA SAMPEL FESES
GAJAH SUMATERA (*Elephas maximus sumatranus*)
DI TAMAN NASIONAL TESSO NILO, RIAU**

Beno Fariza Syahri¹, Haris Gunawan¹, Herawati Sudoyo²

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

²**Lembaga Biologi Molekuler Eijkman
Jl. Diponegoro No.69. Jakarta, 10430, Indonesia
*benfariz@gmail.com***

ABSTRACT

Sumatran elephant (*Elephas maximus sumatranus*) is an endemic land mammal on Sumatra Island which now is on critically endangered. The population of Sumatran elephant in Riau Province spread in 9 pouches of population, one of them is population in Tesso Nilo National Park (TNNP). Habitat fragmentation and land conversion in protected areas caused condition of Sumatran elephant's population had deteriorated. Therefore, we need a precise conservation effort to save the population of Sumatran elephant in TNNP. These efforts require appropriate information on the number of individuals and population genetic. The aims of this study were to determine the number of individuals, variation and frequency of allele, and the level of heterozygosity of Sumatran elephant population in TNNP based on genetic information. Molecular analysis using microsatellite marker was performed on 108 non-invasive samples which were collected using CMR method. The result revealed that there were 73 individuals of Sumatran elephant in TNNP. The average number of allele variation from 13 microsatellite loci which were analyzed was 2.85 allele/locus with average observed heterozygosity (0.507) is higher than expected heterozygosity (0.490). Those indicates that allele frequencies found to be above of the Hardy-Weinberg equilibrium. This study proved that there is no genetic pressure of Sumatran elephant population in TNNP.

Keywords : Allele, Heterozygosity, Microsatellite, Sumatran Elephant, Tesso Nilo National Park (TNNP).

ABSTRAK

Gajah sumatera (*Elephas maximus sumatranus*) merupakan mamalia darat endemik di Pulau Sumatera yang status konservasinya terancam punah (*Critically Endangered*). Populasi gajah sumatera di Propinsi Riau tersebar dalam 9 kantong populasi salah satunya di kawasan Taman Nasional Tesso Nilo (TNTN), Riau. Fragmentasi habitat dan alih fungsi kawasan lindung mengakibatkan kondisi populasi gajah sumatera kian terpuruk. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu upaya konservasi yang tepat untuk menyelamatkan populasi gajah sumatera di TNTN, Riau. Upaya konservasi yang tepat

membutuhkan informasi mengenai jumlah individu dan kondisi genetik populasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah individu, variasi dan frekuensi alel, serta tingkat heterozigositas populasi gajah sumatera di TNTN, Riau berdasarkan informasi genetiknya. Analisis molekuler menggunakan 13 penanda mikrosatelit dilakukan pada 108 sampel non-invasif yang dikumpulkan dengan metode (CMR). Hasilnya ditemukan 73 individu gajah sumatera di TNTN. Rata-rata variasi alel dari 13 lokus mikrosatelit yang dianalisis adalah 2,85 allel/lokus dengan rata-rata heterozigositas teramati (0,507) lebih besar dari pada heterozigositas harapan (0,490) yang menunjukkan bahwa frekuensi alel yang ditemukan berada diatas keseimbangan Hardy-Weinberg. Penelitian ini membuktikan tidak terjadi tekanan seleksi terhadap kondisi genetik populasi gajah sumatera di TNTN, Riau.

Kata Kunci : Alel, Gajah Sumatera, Heterozigositas, Mikrosatelit, Taman Nasional Tesso Nilo (TNTN).

PENDAHULUAN

Gajah sumatera merupakan salah satu subspecies gajah asia yang endemik di Pulau Sumatera. Spesies ini termasuk dalam daftar merah IUCN (*International Union for Conservation of Nature*) dengan status terancam punah (*Critically Endangered*). Gajah sumatera merupakan mamalia darat dengan pola hidup berkelompok yang dipimpin oleh betina dewasa (matrilineal) (Vidya & Sukumar 2005). Hingga saat ini gajah sumatera dapat ditemukan di tujuh propinsi di Pulau Sumatera yaitu Nanggroe Aceh Darussalam (NAD), Sumatera Utara, Riau, Jambi, Bengkulu, Sumatera Selatan, dan Lampung (Sulandari & Zein 2012). Pada kenyataannya kondisi populasi gajah sumatera di masing-masing habitatnya sangat memprihatinkan dan memiliki ancaman kepunahan.

Propinsi Riau memiliki wilayah persebaran gajah sumatera terbesar dibandingkan propinsi lainnya di Pulau Sumatera. Pada tahun 1985, populasi gajah sumatera di Propinsi Riau diperkirakan mencapai 1067-1647 individu dalam 11 kantong populasi.

Sedangkan pada tahun 1999 terjadi penurunan populasi menjadi 700-800 individu dalam 16 kantong populasi. Data tahun 2009 berdasarkan penghitungan langsung di lapangan diperkirakan jumlah individu gajah sumatera stabil dalam 9 kantong populasi. Penurunan jumlah kantong populasi tersebut disebabkan oleh beberapa kantong populasi sudah tidak ditemukan gajah lagi karena aktivitas penangkapan dan pemindahan gajah ke kantong populasi yang lebih memadai. Sembilan kantong populasi yang ada di Riau saat ini adalah kantong populasi Pelayungan, Serangge, Tesso Utara, Tesso Selatan, Koto Tengah, Balai Radja, Giam Siak Kecil, Mahato, dan Tahura (Tapung) (Desai & Samsuardi 2009).

Taman Nasional Tesso Nilo merupakan salah satu habitat alami gajah sumatera yang terdapat di Propinsi Riau. Kondisi terkini Taman Nasional Tesso Nilo sangat memprihatinkan baik dari segi luasan wilayah maupun daya dukungnya bagi berbagai satwa seperti gajah sumatera. Hingga saat ini, belum pernah dilakukan penghitungan yang akurat terkait jumlah populasi gajah sumatera

yang berada di Taman Nasional Tesso Nilo. Pada tahun 2009 dengan penghitungan langsung dilapangan diperkirakan lebih dari 200 individu gajah sumatera terdapat di Taman Nasional Tesso Nilo (Desai dan Samsuardi 2009). Jumlah individu gajah sumatera di Taman Nasional Tesso Nilo hingga saat ini terus mengalami penurunan. Pada tahun 2012 saja tercatat 15 ekor gajah sumatera telah mati di Propinsi Riau (WWF Indonesia 2012). Penghitungan populasi gajah sumatera secara langsung sulit dilakukan mengingat hewan ini merupakan hewan yang elusif dan memiliki wilayah jelajah yang luas sehingga sulit untuk ditemukan secara langsung.

Informasi mengenai kondisi populasi gajah sumatera dapat diketahui dengan menggunakan metode genetik, salah satunya analisis berdasarkan pada molekul cetak biru pada makhluk hidup yang disebut asam deoksiribonukleat (DNA). Data genetik yang diperoleh dari metode tersebut dapat memberikan informasi mengenai jumlah individu, variasi genetik, dan mekanisme evolusi dalam populasi tersebut. Jumlah individu dan variasi genetik tersebut dapat diketahui dengan menggunakan penanda molekular salah satunya DNA mikrosatelit (Frankham dkk. 2002). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah individu, variasi dan frekuensi alel, serta tingkat heterozigositas populasi gajah sumatera di Taman Nasional Tesso Nilo, Riau.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dengan dua tahapan yaitu pengumpulan sampel di lapangan dan analisis laboratorium. Pengumpulan sampel di lapangan telah dilaksanakan sejak tanggal 1 Juli 2012 sampai dengan 4 November 2012 (5 kali ulangan) di Taman Nasional Tesso Nilo. Analisis laboratorium dilaksanakan mulai tanggal 21 Maret 2013 sampai dengan 19 September 2013 di laboratorium Mitokondria 1 Lembaga Eijkman, Jakarta.

Prosedur Penelitian

A. Pengambilan Sampel Feses

Pengambilan sampel feses dilakukan secara aseptis menggunakan sarung tangan dan stik kayu yang telah disterilisasi. Sampel feses diambil sebanyak ± 5 ml dan dilarutkan dengan 20 ml larutan buffer DETs di dalam tabung 50 ml. Tiap sampel yang diambil dilakukan pengambilan gambar serta dicatat data penting terkait kondisi dan titik lokasi temuan sampel kedalam lembar data survei. Seluruh sampel yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin (suhu -20°C).

B. Ekstraksi dan Kuantifikasi DNA

Proses ekstraksi DNA dilakukan di dalam ruangan khusus ekstraksi DNA yang dilengkapi dengan *BioSafety Cabinet* dan mesin Heraeus[®] Benchtop Microcentrifuge Type Biofuge Pico. Proses ekstraksi menggunakan QIAmp[®] DNA Stool Mini Kit (Qiagen 2001) dengan protokol mengikuti modifikasi oleh (Archie dkk 2007). Proses

kuantifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan alat Nanodrop Spectrophotometer ND-1000 dan aplikasi ND-1000 Versi 3.5.2.

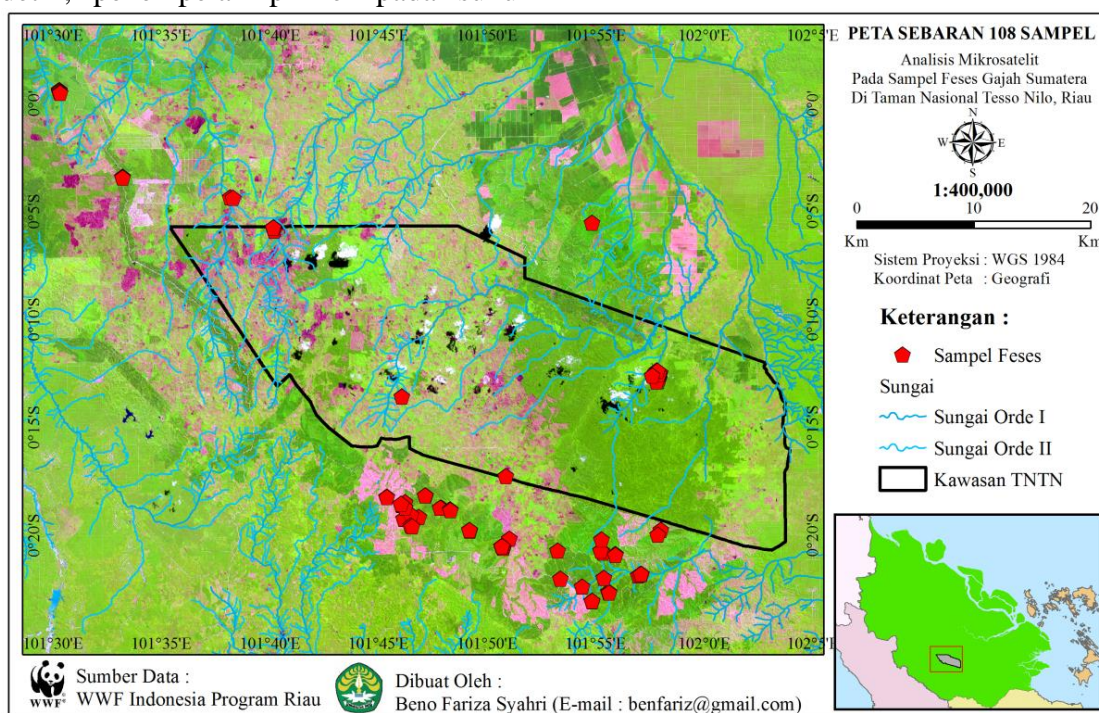
C. PCR Multipleks (*Multiplex PCR*)

Proses aplikasi DNA dilakukan dengan PCR Multipleks berdasarkan protokol QIAGEN® Multiplex PCR Kit (Qiagen 2010). Proses ini menggunakan 13 primer yang terdiri dari 4 lokus gajah afrika (LafMS002, LafMS005, FH60, dan FH94R2) dan 9 lokus gajah asia (EMU03, EMU04, EMU07, EMU10, EMU12, EMU13, EMU14, EMU15, dan EMU17) yang dibagi dalam 2 panel reaksi (Nyakaana & Archtander 1998; Comstock dkk. 2000; Siripunkaw 2003; Kongrit dkk. 2007). Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan mesin *Thermal Cycler* dengan diawali tahap predenaturasi pada suhu 95°C selama 15 menit. Kemudian dilanjutkan dengan 35 kali siklus PCR yang meliputi tahap denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu

57°C selama 90 detik, dan ekstensi pada suhu 72°C selama 60 detik. Tahap ekstensi akhir dilakukan pada suhu 60°C selama 30 menit, dan untuk penyimpanan pada suhu 25°C. Selanjutnya, produk PCR yang diperoleh disimpan pada suhu 4°C.

D. Analisis Fragmen dan Analisis Data

Analisis fragmen menggunakan mesin ABI 3130 Genetic Analyzer 4 x 36 cm *capillary array* berdasarkan protokol GeneScan® (Applied Biosystem 2002). Data hasil analisis dibaca menggunakan aplikasi GeneMapper® Versi 4.0. Data hasil pembacaan fragmen dimasukkan ke dalam lembar data Microsoft Exel. Kemudian dianalisis menggunakan aplikasi GenAlex, Microsatelit Toolkit (Ms. Exel add-ins), Genepop on the Web Versi 4.2 (<http://genepop.curtin.edu.au/>) dan ArcGIS Versi 10.1. Data yang dianalisis meliputi identifikasi individu, variasi dan



Gambar 1. Sebaran 108 sampel feses gajah sumatera

frekuensi alel tiap lokus, serta tingkat heterozigositas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis dilakukan terhadap 108 sampel feses gajah sumatera yang diperoleh pada survei juni-november 2012. Rata-rata konsentrasi DNA yang diperoleh 209.18 ng/ μ l dengan kisaran 68.3-556.4 ng/ μ l. Sedangkan kemurnian DNA berkisar 1.32-2.00 dengan rata-rata 1.69 dengan pengukuran panjang gelombang (A: 260/280). 108 sampel berhasil dianalisis menggunakan 13 penanda mikrosatelit dan menunjukkan 73 individu gajah sumatera. Gambar 1 menunjukkan sebaran 108 sampel yang membentuk pola mengelompok dan sebagian besar berada diluar kawasan Taman Nasional Tesso Nilo bagian selatan. Hal ini mengindikasikan bahwa populasi gajah sumatera di Taman Nasional Tesso Nilo cenderung memilih daerah yang lebih terbuka berupa kawasan Hutan Tanaman Industri akasia setelah terjadi perubahan tutupan lahan.

A. Variasi dan Frekuensi Alel

Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa semua lokus mikrosatelit yang digunakan berada dalam kesetimbangan Hardy-Weinberg. Hal ini dibuktikan dengan hasil uji Hardy-Weinberg pada Genepop on the Web Versi 4.2 yang menunjukkan nilai *P-Value* >0,05 pada semua lokus mikrosatelit yang digunakan. Sehingga membuktikan bahwa tidak ada lokus mikrosatelit yang mengalami tekanan seleksi.

Tabel 1 menunjukan variasi alel terbanyak ditemukan pada lokus Emu07 yang memiliki 5 alel yaitu 103, 115, 117, 119, dan 123. Sedangkan variasi alel paling sedikit adalah 2 alel/lokus

Tabel 1. Variasi dan frekuensi alel

Lokus	Variasi Alel	Frekuensi
Emu03	138	0,158
	140	0,678
	142	0,164
Emu04	99	0,055
	105	0,945
Emu07	103	0,281
	115	0,260
	117	0,308
	119	0,130
	123	0,021
Emu10	95	0,363
	97	0,267
	103	0,171
	108	0,199
Emu12	142	0,466
	154	0,534
Emu13	103	0,719
	107	0,281
Emu14	127	0,205
	132	0,562
	134	0,233
Emu15	143	0,397
	152	0,603
Emu17	119	0,397
	121	0,267
	129	0,336
FH60	155	0,842
	157	0,158
FH94R2	112	0,397
	118	0,603
LafMS02	133	0,459
	135	0,041
	137	0,486
	139	0,014
LafMS05	152	0,747
	156	0,253
Rata-rata	2,85 alel/lokus	0,253

yang ditemukan pada lokus Emu03, Emu12, Emu13, Emu15, FH60, FH94R2 dan LafMS05. Rata-rata

variasi alel yang ditemukan adalah 2,85 alel/lokus. Nilai ini tergolong rendah dan lebih sedikit dari variasi alel gajah asia yang terdapat di Dataran Tinggi Nakai, Laos (Ahlering dkk. 2010). Penelitian yang dilakukan di Dataran Tinggi Nakai, Laos menggunakan 10 lokus mikrosatelit yang juga digunakan dalam penelitian di Taman Nasional Tesso Nilo, Riau menunjukkan variasi alel yang lebih tinggi yaitu mencapai 8,1 alel/lokus.

B. Heterozigositas

Penghitungan tingkat heterozigositas menggunakan data hasil penentuan jumlah individu (sampel dengan genotipe unik) yang telah berhasil mengidentifikasi 73 individu dari 108 sampel yang dianalisis. Dari ke-73 individu tersebut, didapatkan rata-rata alel yaitu 2,85 alel/lokus dengan nilai rata-rata heterozigositas teramati (H_o) mencapai 0,507 dan nilai heterozigositas harapan (H_e) 0,490. Tabel 2. menunjukkan nilai heterozigositas 73 individu gajah sumatera di taman Nasional Tesso Nilo, Riau.

Ditemukan 9 lokus mikrosatelit yang memiliki nilai heterozigositas teramati lebih besar dari pada heterozigositas harapan ($H_o > H_e$) yaitu lokus Emu03, Emu04, Emu07, Emu10, Emu13, Emu14, Emu15, FH60, dan LafMS02. Sedangkan 4 lokus lainnya yaitu Emu12, Emu17, FH94R2, dan LafMS05 memiliki nilai heterozigositas teramati yang lebih rendah dari pada nilai heterozigositas harapan ($H_o < H_e$). Nilai heterozigositas tertinggi ditemukan pada lokus Emu10 yang memiliki 4

alel dengan nilai heterozigositas teramati mencapai 0,795 dan heterozigositas harapan 0,728. Sedangkan nilai heterozigositas terendah ditemukan pada lokus Emu04 yang memiliki 2 alel dengan nilai heterozigositas teramati mencapai 0,110 dan heterozigositas harapan 0,104.

Tabel 2. Variasi alel dan nilai heterozigositas populasi gajah sumatera di TNTN, Riau

Lokus	Na (alel/lokus)	H_o	H_e
Emu03	3	0,493	0,488
Emu04	2	0,110	0,104
Emu07	5	0,753	0,741
Emu10	4	0,795	0,728
Emu12	2	0,438	0,498
Emu13	2	0,479	0,404
Emu14	3	0,644	0,588
Emu15	2	0,493	0,479
Emu17	3	0,630	0,658
FH60	2	0,315	0,265
FH94R2	3	0,425	0,487
LafMS02	4	0,644	0,551
LafMS05	2	0,370	0,378
Rata-rata	2,85	0,507	0,490

Keterangan : Na: *Number of Alleles* (jumlah alel), H_o : *Observed Heterozygosity* (heterozigositas teramati), H_e : *Expected Heterozygosity* (heterozigositas harapan).

Menurut Prahasta (2001), semakin banyak jumlah alel yang ditemukan pada suatu alel maka semakin tinggi nilai heterozigositasnya. Nilai heterozigositas yang tinggi mengindikasikan bahwa dalam populasi tersebut tidak terdapat hambatan bagi individu-individu anggota populasi untuk dapat saling kawin. Sehingga keberagaman alel yang terdapat

dalam populasi tersebut dapat terjaga dan terkonservasi. Hal ini perlu dipertahankan agar kelestarian gajah sumatera di Taman Nasional Tesso Nilo tidak hanya menyelamatkan individu-individu gajah saja, melainkan juga mampu mempertahankan keberagaman genetik yang terdapat didalamnya.

KESIMPULAN

Terdapat 73 individu gajah sumatera dari 108 sampel yang dianalisis pada periode survei Juni sampai November 2012. Rata-rata variasi alel yang teramati mencapai 2,85 alel/lokus dari 73 individu gajah sumatera dengan variasi alel tertinggi ditemukan pada lokus Emu07 dengan 5 alel dan terendah pada lokus Emu03, Emu12, Emu13, Emu15, FH60, dan LafMS05 dengan 2 alel/lokus. Nilai heterozigositas yang teramati dari 13 lokus mikrosatelit mencapai 0.507 dengan nilai heterozigositas harapan 0.490 yang menunjukkan tidak adanya tekanan seleksi pada populasi gajah sumatera di Taman Nasional Tesso Nilo, Riau.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada *World Wide Fun For Nature* (WWF) Indonesia Program Riau dan Lembaga Biologi Molekular Eijkman, Jakarta yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ini. Selanjutnya kepada Sunarto, Ph. D dan Wishnu Sukmantoro, M.Si atas saran dan bimbingannya hingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahlering MA, Hedges S, Johnson A, Tyson M, Schuttler SG, Eggert 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.* 1: 1-10
- Applied Biosystem. 2002. *BigDye[®] Terminator v3.1. Cycle Sequencing Kit.* California; hlm. 27-163.
- Archie EA, Moss CJ, Alberts SC. 2003. Characterization of Tetranucleotide Microsatellite Loci In The African Savannah Elephant (*Loxodonta africana africana*). *Mol. Ecol.* 3: 244-246.
- Comstock KE, Wasser SK, Ostrander EA. 2000. Polymorphic Microsatellite DNA Loci Identified In The African Elephant (*Loxodonta africana*). *Mol. Ecol.* 9: 1004-1006.
- Desai AA. Samsuardi. 2009. Status of Elephants In Riau Province, Sumatra. WWF-Indonesia.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA. 2002. *Introduction to Conservation Genetics.* Cambridge: Cambridge University Press. hlm: 1-94.

- Kongrit C, Siripunkaw C, Brockelman WY, Akkarapatumwong V, Wright TF, Eggert LS. 2008. Isolation and Characterization of Dinucleotide Microsatellite Loci In The Asian Elephant (*Elephas maximus*). *Mol. Ecol. Res.* 8: 175-177.
- Nyakaana S, Arctander P. 1998. Isolation And Characterization Of Microsatellite Loci In The African Elephant (*Loxodonta africana*). *Mol. Ecol.* 7: 1436-1437.
- Prahasta P. 2001. Derajat Heterozigositas DNA Mikrosatelit pada Populasi Sapi Fries Holland (FH) [Skripsi]. Bogor: Fakultas Peternakan, IPB.
- Qiagen. 2010. *QIAmp[®] Multiplex PCR Handbook*. California: Forest Stewardship Council (FSC).
- Sirinpukaw C. 2003. Evaluation Of Microsatellite Loci Polymorphism In The Asian elephant, *Elephas Maximus* [Thesis]. Thailand: Mahidol University, Nakhornpathorn Thailand.
- Sulandari S, Zein MSA. 2012. Mitochondrial DNA Variation of The Sumatran Elephant Populations In Sumatra, Indonesia. *Biotrop.* 19: 92-102.
- Vidya TNC, Sukumar R. 2005. Social Organization of The Asian Elephant (*Elephas maximus*) in Southern India Inferred from Microsatellite DNA. *J. Ethology* 23: 205-210.
- WWF-Indonesia. 1 November 2012. Gajah Sumatra Kritis. Suara Tesso Nilo. Edisi: Juli-September 2012. 3 [Kolom 1-6].