

**IDENTIFIKASI JEJARING PENGELOLAAN KONSERVASI PENYU HIJAU
(*Chelonia mydas*) MELALUI PENENTUAN KOMPOSISI GENETIK DAN METAL TAG DI LAUT SULU
SULAWESI**

Ni Kadek Dita Cahyani¹⁾, I.B. Windia Adnyana²⁾, I W. Arthana¹⁾

¹⁾Program Magister Ilmu Lingkungan Unud

²⁾Fakultas Kedokteran Hewan Unud

ABSTRAK

Penelitian ini menggunakan 51 sampel jaringan dari 51 individu penyu Hijau yang diambil di habitat pakan, Pulau Panjang, Kalimantan Timur. Isolasi mtDNA dilakukan melalui teknik penambahan Proteinase K dilanjutkan dengan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

Penyu Hijau yang ditemukan pada habitat pakan Pulau Panjang, Kalimantan Timur terdiri dari tujuh haplotipe yaitu A3 (N=7; 13,73%), A4 (N=1; 1,96%), A6 (N=2; 3,92%), C3 (N=5; 9,80%), C5 (N=6; 11,76%), C14 (N=5; 9,80%) dan D2 (N=25; 49,02%). Temuan tag memperlihatkan bahwa penyu Hijau yang mencari makan di Pulau Panjang, berasal dari beberapa daerah peneluran, yaitu Sabah-Malaysia, Trengganu-Malaysia, Filipina, Sangalaki dan Derawan. Analisis *Mixed Stock Analysis* (MSA) memperlihatkan bahwa populasi penyu Hijau di habitat pakan Pulau Panjang merupakan kontribusi dari beberapa unit manajemen (daerah peneluran) yaitu Berau sebanyak 47%, diikuti oleh Laut Sulu (34%) dan Mikronesia (6%).

Kata Kunci: Habitat pakan, PCR, haplotipe, *Mixed Stock Analysis*.

ABSTRACT

The research used 51 tissue samples taken from 51 individual Green Turtles in Pulau Panjang, East Kalimantan. The isolation of mtDNA was achieved by adding Proteinase K into the samples prior to the utilization of the PCR (Polimerase Chain Reaction) technique. The MEGA 3.1 computer program was employed to read the DNA sequences obtained through the PCR technique.

Seven different haplotypes were identified from the analyzed samples. The haplotypes are: A3 (N=7; 13.73%), A4 (N=1; 1.96%), A6 (N=2; 3.92%), C3 (N=5; 9.80%), C5 (N=6; 11.76%), C14 (N=5; 9.80%) dan D2 (N=25; 49.02%). Tag findings clearly demonstrated that the Green Turtles, which feed on the seagrass beds of Pulau Panjang, originated in different nesting sites, including Sabah and Trengganu in Malaysia, Sangalaki and Derawan in Indonesia, and Phillipine. The MSA (Mixed Stock Analysis) showed that the Green Turtles population in Pulau Panjang was composed of several management units (nesting sites), which were Berau (47%), Sulu Sea (34%) and Micronesia (6%).

Key words: Feeding ground, PCR, haplotype, Mixed Stock Analysis.

PENDAHULUAN

Kepulauan Derawan, Kalimantan Timur yang terletak di kawasan laut semi tertutup Sulu Sulawesi, adalah kawasan peneluran serta pakan terbesar bagi penyu Hijau (*Chelonia mydas*) (Tomascik *et al.*, 1999). Kepulauan Derawan mengalami tekanan lingkungan yang

cukup besar, diantaranya karena aktivitas perikanan yang tidak ramah lingkungan, sedimentasi dan pembangunan yang relatif pesat di daerah pesisir. Aktivitas yang paling mengancam populasi penyu laut di wilayah ini adalah pengambilan telur dan perburuan dagingnya

Tekanan yang terjadi pada daerah pakan maupun di koridor migrasinya juga mengancam keberlangsungan

populasi di habitat peneluran. Selain menggunakan “*metal tag*”, kini “*tagging*” juga dilakukan dengan teknik genetika molekuler yang dapat mengidentifikasi hubungan antar struktur populasi penyu pada suatu pantai peneluran dengan penyu di daerah pakan. Dengan teknik ini juga dapat ditentukan pola migrasi penyu sejak masih berupa anakan (tukik) hingga dewasa (FitzSimmons *et al.*, 1999).

Sementara hubungan antara populasi di ruaya pakan yang ada di Kepulauan Derawan belum diketahui selengkapnyanya, Bali *et al.* (2001) berhasil menunjukkan setidaknya sebagian dari populasi penyu yang mencari makan di perairan sekitar Pulau Panjang (salah satu habitat pakan di Kepulauan Derawan) adalah penyusun populasi petelur di Pulau Talang-talang Besar dan Talang-Talang Kecil di Sarawak, Malaysia. Empat ekor penyu Hijau yang telah melengkapinya prosesi bertelurnya di pulau-pulau ini dipasang satelit telemetri. Satu dari keempat penyu itu, yang diberi nama Putri Bintulu (diberi kode TTB4) diketahui bermigrasi melalui Sandakan dan Sipidan (Sabah), sebelum akhirnya “menetap” di ruaya pakan di sekitar Pulau Panjang. Gambaran ini menunjukkan bahwa keutuhan populasi petelur di Pulau Talang-Talang Besar dan Talang-Talang Kecil (Sarawak) juga dipengaruhi oleh keutuhan populasi penyu yang berada di ruaya pakan sekitar Pulau Panjang (Berau), dan demikian pula sebaliknya (Adnyana, 2003).

Mitochondrial DNA atau DNA mitokondria (mtDNA) merupakan materi genetik yang diturunkan secara maternal. MtDNA dapat digunakan sebagai penanda genetik dan dalam studi genetika populasi penyu laut, mtDNA dapat digunakan untuk menentukan asal dari perkembangan penyu muda yang ditemukan pada

habitat pakan, habitat perkembangan dan sepanjang jalur migrasinya (Bass *et al.*, 2000; Bowen *et al.*, 1996; Lahanas *et al.* 1998; Luke *et al.*, 2004).

Sejauh ini, informasi tentang peneluran dan habitat pakan penyu laut, utamanya penyu Hijau di Pulau Panjang, masih sangat terbatas. Hubungan genetik dari populasi penyu Hijau di Derawan dan keterkaitannya dengan area peneluran di wilayah *Sulu Sulawesi Marine Eco-region* (SSME) perlu lebih diperjelas. Disinilah pengetahuan mengenai genetika populasi secara molekuler akan sangat membantu dalam menentukan jejaring area perlindungan penyu.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan komposisi genetik penyu Hijau di habitat pakan Pulau Panjang, Kalimantan Timur, mengestimasi pergerakan penyu Hijau di habitat pakan Pulau Panjang melalui temuan penanda (*metal tag*) serta mengestimasi jejaring pengelolaan konservasi penyu Hijau di Laut Sulu Sulawesi melalui penentuan komposisi genetik dan temuan *metal tag*.

Hasil penelitian ini kedepan, diharapkan dapat menyediakan informasi akurat mengenai komposisi genetik penyu Hijau di habitat pakan Pulau Panjang, Kalimantan Timur sebagai dasar mengestimasi jejaring pengelolaan konservasi penyu laut yang meliputi habitat pakan dan lokasi peneluran serta penentuan jejaring daerah perlindungan laut (*Marine Protected Area*).

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel dilakukan di Pulau Panjang, Kepulauan Derawan, Kalimantan Timur yang merupakan bagian dari Kawasan Konservasi Laut (KKL) Berau.

Secara geografis lokasinya berada pada 02° 49' 42.6"- 01° 2' 0.06" LU; 117° 59' 17.16" -119° 2' 50.30" LS, diantara Karang Pulau Panjang, Tanjung Karangtigau dengan Karang Baliktaba di utara, menghadap ke selat Makasar ke arah timur dan Semenanjung Mangkalihat di sebelah Selatan (TNC dan Pemda Berau, 2004).

Sampel jaringan penyu Hijau dari daerah pakan diambil dan ditransport menggunakan prosedur standar yang direkomendasikan oleh FitzSimmons *et al.* (1999). Jumlah total sampel kurang lebih 30 sampel dari setiap lokasi sesuai dengan rekomendasi dari penulis yang sama. Sampel disimpan dalam media transport berupa larutan NaCl dalam DMSO (*dimethyl sulfoxide*).

Isolasi DNA dilakukan dengan penambahan Proteinase K. DNA dari sampel jaringan otot penyu diisolasi menggunakan PureLink™ Genomic DNA Purification Kit dari Invitrogen. Segmen DNA target dihasilkan secara *in vitro* menggunakan teknik PCR dengan primer depan LTEi9 (GGGAATAATCAAA AGAGAAGG) dan primer belakang H950 (GTCTC GGATTTAGGGGTTT) yang direkomendasikan oleh Alberto Abreu-Grobois (kom.pri). Teknik PCR dilakukan dengan SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen). PCR dilakukan dalam kondisi 0,2 mM dNTP, 1,6 mM MgSO₄, dengan buffer yang disediakan oleh produsen. Setiap produk PCR dianalisis menggunakan reaksi sekuensing rantai tunggal (*single-stranded sequencing reaction*) dan dianalisis dengan menggunakan *automated DNA sequencer* di Eijkman Institute, Jakarta.

Sekuen diurutkan (*aligned*) menggunakan Clustal W dalam Program MEGA 3.1 (Kumar *et al.*, 2004). Setiap haplotipe dibandingkan dengan 25 haplotipe penyu Hijau Australasia (sepanjang 384 bp) yang telah diidentifikasi oleh Moritz *et al.* (2002) dan Dethmers *et al.*, (2006) Kontribusi individu dari beberapa populasi peneluran pada habitat pakan, dianalisis menggunakan *Mixed Stock Analysis* dengan program BAYES (Pella and Masuda, 2001). Frekuensi haplotipe di 27 daerah peneluran dan tiga habitat pakan di Australasia (Moritz *et al.*, 2002 dan Dethmers *et al.*, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi dan Frekuensi Haplotipe

Lima puluh satu sampel jaringan penyu Hijau di habitat Pakan Pulau Panjang diproses dengan metode PCR. Hasil analisis menghasilkan sekuen dengan panjang 384 bp (base pair), 24 tempat polimorfik (23 transisi, satu transversi dan transisi) serta tujuh haplotipe berbeda.

Panjang produk PCR yang diamplifikasi adalah sekitar 800 *base pair* (bp). Sekuensing produk PCR yang dapat dibaca dengan baik adalah 732 bp. Panjang sekuen yang digunakan dalam penelitian ini adalah 384 bp sesuai dengan fragmen mtDNA penyu Hijau Australasia yang telah dipublikasi oleh Dethmers *et al.* (2006) untuk keperluan perbandingan haplotipe.

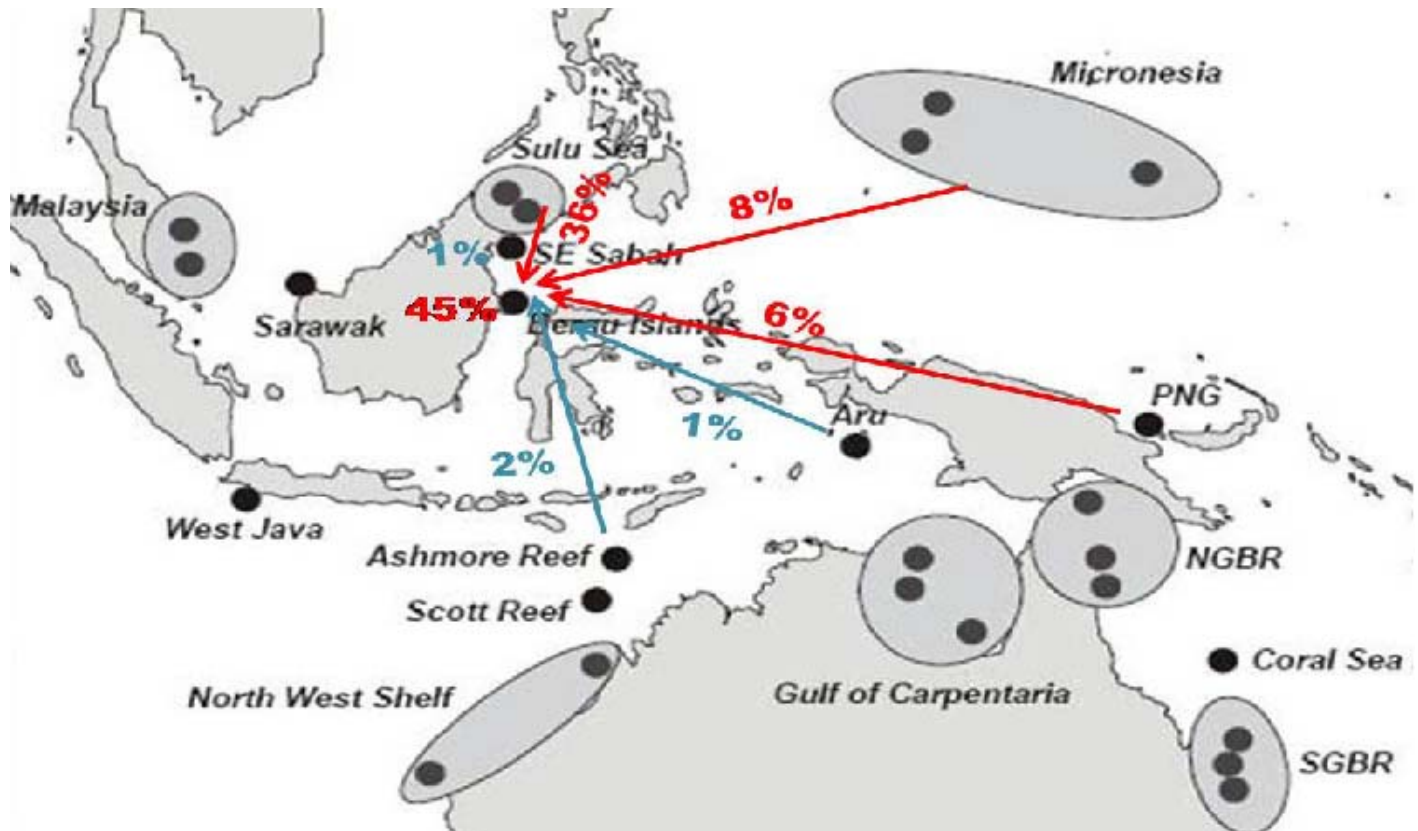
Tabel 1. menampilkan frekuensi haplotipe yang diidentifikasi dari populasi penyu Hijau di habitat pakan Pulau Panjang. Dari Tabel tersebut, diketahui bahwa Pulau Panjang didominasi oleh penyu berhaplotipe D2, dengan frekuensi 49,02%. Jarak genetik (*genetic distance*) dari semua sampel adalah $0,021 \pm 0,004$.

Tabel 1. Jenis dan Frekuensi Haplotipe Penyu Hijau di Perairan Pulau Panjang, Kabupaten Berau, Kalimantan Timur

Haplotipe	Jumlah sampel	Persentase
Haplotipe A3	7	13,73
Haplotipe A4	1	1,96
Haplotipe A6	2	3,92
Haplotipe C3	5	9,80
Haplotipe C5	6	11,76
Haplotipe C14	5	9,80
Haplotipe D2	25	49,02
Total	51	100

Analisis Bayesian memperkirakan persentase kontribusi 22 habitat peneluran terhadap habitat pakan serta perkiraan persentase kontribusi 15 unit manajemen di Australasia terhadap habitat pakan.

Dari 22 habitat peneluran di Australasia, proporsi kontribusi terbesar (49%) diberikan oleh habitat peneluran Pulau Sangalaki, diikuti dengan *Malaysia Turtle Island* (23%), *Philippine Turtle Island* (10%) dan Atol Ulithi di Mikronesia (10%), sedangkan dari 15 unit manajemen di Australasia, kontribusi terbesar berasal dari Kepulauan Berau (45%), diikuti unit manajemen Laut Sulu (36%), Mikronesia (8%), dan Papua Nugini (6%).



Gambar 1. Peta Kontribusi Populasi Penyu Hijau di Habitat Pakan Pulau Panjang dari Beberapa Unit Manajemen di Australasia.

Data Tagging dan Pola Penyebaran Penyu Hijau

Pendataan mengenai komposisi penyu Hijau di area pakan Pulau panjang melalui *metal tag* telah

dilakukan oleh Adnyana dkk. (2005) mulai 12 Mei 2005 sampai 16 Juni 2005. Penelitian tersebut menemukan 86 ekor penyu Hijau, dengan rerata panjang karapas

88,43±10,17 cm. Hasil pendataan mencatat, empat ekor penyu diketahui memakai tag asal ruaya peneluran di *Turtle Island, Sabah Park*-Malaysia, dan masing-masing seekor memakai tag asal ruaya bertelur di Filipina, Trengganu-Malaysia, Pulau Sangalaki dan Pulau Derawan. Sisanya dipasang tag baru dengan kode (27XXXX), dimana dua angka pertama merupakan kode area untuk Kalimantan Timur. Pada saat pengambilan sampel jaringan di Pulau Panjang pada bulan Juli 2006, ditemukan juga dua ekor penyu Hijau yang memakai tag asal *Sabah Park*, Malaysia dan satu tag asal Filipina.

Implikasi Pengelolaan Konservasi Penyu Hijau di Sulu Sulawesi

Melihat data temuan penanda metal tag, terlihat bahwa penyu Hijau yang makan di Pulau Panjang berasal dari beberapa daerah peneluran yaitu Sabah-Malaysia (enam ekor penyu Hijau), Trengganu-Malaysia (satu ekor penyu Hijau), Filipina (dua ekor), serta masing-masing satu ekor dari Sangalaki dan Derawan.

Data genetik memperlihatkan kontribusi daerah peneluran Berau (habitat peneluran di Kepulauan Derawan) serta unit manajemen Laut Sulu (*Malaysia Turtle Island* dan *Philippine Turtle Island*) terhadap habitat pakan Pulau Panjang. Hasil analisis MSA menyatakan unit manajemen Berau berkontribusi sebanyak 45% dan Laut Sulu sebanyak 36%. Hasil ini juga didukung dengan proporsi haplotipe dominan di Pulau Panjang (D2) yang juga merupakan haplotipe yang dominan ditemui di Laut Sulu (79%) dan Berau (24%) (Dethmers *et al.*, 2006).

Sedangkan unit manajemen Sabah, walaupun tidak menunjukkan persentase kontribusi yang tinggi,

berpotensi untuk berkontribusi melalui dominansi haplotipe C3 yang dimilikinya. Dalam Dethmers *et al.* (2006) dinyatakan, haplotipe C3 di Sabah memiliki frekuensi 60% dan merupakan haplotipe dominan kedua setelah Port Bradshaw di Teluk Carpentaria, Australia.

Habitat pakan Pulau Panjang juga mendapat kontribusi dari daerah peneluran Papua Nugini dan Pulau Enu seperti juga habitat pakan Aru. Akan tetapi kontribusi kedua unit manajemen tersebut hanya 1% dan 6% sehingga untuk menentukan jejaring pengelolaan konservasi, terkait dengan habitat pakan Pulau Panjang, kedua daerah tersebut serta habitat pakan Aru, bukan merupakan prioritas sebagai bagian dari jejaring. Akan tetapi tetap merupakan daerah penting bagi konservasi penyu Hijau secara luas.

Keberlangsungan populasi di Pulau Panjang harus didukung dengan kesinambungan dari besar populasi di Pulau Panjang, kondisi dari individu di populasi serta kondisi habitat pakan, terutama padang lamun. Konservasi yang dilakukan pada habitat pakan Pulau Panjang juga harus didukung dengan melakukan pengelolaan di daerah-daerah peneluran yang memiliki peluang sebagai kontributor genetik.

Daerah-daerah yang dimaksudkan di atas adalah daerah kepulauan Berau, *Malaysia Turtle Island* dan *Phillipine Turtle Island* di Laut Sulu Sulawesi. Daerah peneluran lainnya tetap harus mendapat perhatian, begitu juga keterkaitan dengan habitat pakan Aru, akan tetapi jika melihat skala prioritas, maka daerah dengan kontribusi genetik yang kecil, dapat diabaikan sementara.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Kesimpulan yang diperoleh dalam penelitian ini adalah:

1. Penyu Hijau yang ditemukan pada habitat pakan Pulau Panjang, Berau, Kalimantan Timur terdiri dari tujuh haplotipe yaitu A3 sebanyak 13,73%, A4 (1,96%), A6 (3,92%), C3 (9,80%), C5 (11,76%), C14 (9,80%) dan D2 (49,02%).
2. Temuan *tag* memperlihatkan bahwa penyu Hijau yang makan di Pulau Panjang, berasal dari beberapa daerah peneluran, diantaranya Sabah-Malaysia (enam ekor penyu Hijau), Trengganu-Malaysia (satu ekor penyu Hijau), Filipina (dua ekor), serta masing-masing satu ekor dari Sangalaki dan Derawan.
3. Berdasarkan temuan *tag* dan data genetik, jejaring pengelolaan konservasi penyu Hijau di Sulu Sulawesi meliputi habitat pakan Pulau Panjang dan habitat peneluran yang berkontribusi yaitu habitat peneluran di Kepulauan Derawan, *Malaysia Turtle Island* dan *Phillipine Turtle Island*.

Saran

Studi-studi terkait komposisi genetik sebagai dasar pengelolaan konservasi jenis khususnya penyu Hijau, diharapkan mencakup lebih banyak daerah peneluran dan daerah pakan utamanya di Indonesia, serta keterkaitannya satu dengan yang lain guna mengetahui pola penyebaran; sebagai dasar untuk melakukan proteksi terhadap habitat pakan dan peneluran; sebagai dasar penyusunan kebijakan konservasi serta menjadi dasar bagi pelaksanaan kerjasama antar negara terkait konservasi penyu Hijau.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang besar kepada IGNK Ngurah Mahardika dan segenap staf Laboratorium Biomedika Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Ximena Velez-Zuazo dari Laboratory of Molecular Evolution and Ecological Genetics, Departement of Biology, University of Puerto Rico-Rio Piedras serta *Conservation International* (CI)-Indonesia Programs yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian di bidang genetika molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyana, I.B.W. 2003. Penyu Laut di Kepulauan Derawan, Kalimantan Timur. Laporan untuk WWF Indonesia.
- Bali J., H.C. Liew, E.H. Chan, and O.B. Tisen. 2001. Long Distance Migration of Green Turtle From The Sarawak Islands, Malaysia. Paper presented in the 20th Annual Sea Turtle Symposium. Orlando, Florida. NOAA Tech. Memo, 5 pp.
- Bass, A.L., W.N. Witzell. 2000. Demographic composition of immature green turtles (*Chelonia mydas*) from the east central Florida coast: evidence from mtDNA markers. *Herpetologica* 56:357–367.
- Bowen, B.W., and J.C. Avise. 1996. Conservation genetics of marine turtles. p.190-237. *in*: J.C. Avise and J.L. Hamrick (Editors). *Conservation Genetics: Case Histories from Nature*. Chapman and Hall. New York.
- Dethmers K.E.M., D. Broderick, C. Moritz, N.N. Fitzsimmons, C.J. Limpus, S. Lavery, S. Whiting, M. Guinea, R.I.T. Prince, and R. Kennett. 2006. The genetic structure of

- Australasian green turtles (*Chelonia mydas*): exploring the geographical scale of genetic exchange. *Molecular Ecology* 15, 3931-3946.
- FitzSimmons, N.N., C. Moritz, and B.W. Bowen. 1999. Population Identification in: K.L.Eckert, K.A. Bjorndal, F.A. Abreu-Grobois, and M. Donnelly (Editors). *Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles*. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No. 4.
- Kumar, S., K. Tamura, and M. Nei. 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163.
- Lahanas P.N., K.A. Bjorndal, A. B.Bolten, S.E. Encalada, M.M. Miyamoto, R.A. Valverde, and B.W. Bowen. 1998. Genetic composition of a green turtle feeding ground population: evidence for multiple origins. *Mar Biol* 130:345-352.
- Luke, K., J.A. Horrocks, R.A. LeRoux, and P.A. Dutton. 2004. Origins of green turtle (*Chelonia mydas*) feeding aggregations around Barbados, West Indies. *Marine Biology* (2004) 144:799-805.
- Moritz, C., D. Broderick, K. Dethmers, N.N. FitzSimmons, and C. Limpus. 2002. Population Genetics of Southeast Asian and Western Pasific Green Turtles, *Chelonia mydas*. Final Report to UNEP/CMS.
- Pella, J.J. and M. Masuda. 2001. Bayesian Methods for Analysis of Stock Mixtures from Genetic Characters. *Fish Bull* 99:151-67
- The Nature Conservancy dan Pemerintah Daerah Berau. 2004. *Profil Kepulauan Derawan, Berau, Kalimantan Timur*.
- Tomascik T., A.J. Mah, A. Nontji, and M.K. Moosa. 1997. *The Ecology of Indonesian Seas. Part Two, Vol VIII, Chapter 21*. Periplus Edition. pp 1101-1131.