

**Komposisi Genetik Penyu Hijau (*Chelonia mydas*) Hasil  
Tangkapan Liar dari Nusa Tenggara Barat  
(Bima dan Teluk Cempì)**

RUSMI AKIRA<sup>1</sup>, I NENGAH WANDIA<sup>1</sup>, I. B. WINDIA ADYANA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lab Anatomi, <sup>2</sup>Lab Patologi Sistemik,  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.  
Jl.P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp. 0361-223791

**ABSTRAK**

Penyu Hijau (*Chelonia mydas*) adalah salah satu anggota keluarga penyu yang paling intensif dieksploitasi. Alasan utama kegiatan perburuan ini pada umumnya karena nilai ekonomis dari satwa tersebut. Perilaku migrasi yang dapat mencapai ratusan bahkan ribuan kilometer dari habitat pakan hingga habitat peneluran, juga memudahkan terjadinya eksploitasi di perairan laut. Dan wilayah perairan laut Nusa Tenggara Barat merupakan salah satu daerah yang menjadi tempat penangkapan penyu Hijau yang berasal dari beberapa habitat peneluran disekitar Australasia.

Identifikasi asal usul dari penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat dilakukan dengan menggunakan marka molekuler, yaitu *mitochondrial* DNA (mtDNA). Penelitian ini menggunakan 35 sampel jaringan dari 35 individu penyu Hijau, yaitu 22 sampel dari Teluk Cempì dan 13 sampel dari Bima. Isolasi mtDNA menggunakan Qiamp<sup>TM</sup> DNA Mini Kit dari Qiagen. Segmen DNA target dihasilkan secara *in vitro* menggunakan teknik PCR (*Polimerase Chain Reaction*) dengan primer *foward* LTEi9 dan primer *reverse* H950. Pembacaan hasil urutan DNA dengan menggunakan program MEGA 4.0. Persentase kontribusi populasi dari beberapa habitat peneluran dan *manajement units* dihitung dengan menggunakan *Mixed Stock Analysis* (MSA) dengan metode BAYES.

Penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat terdiri atas 11 haplotipe yaitu C1 (25,8%), C3 (20%), C4 (2,8%), C5 (5,7%), C7 (5,7%), C9 (2,8%), C14 (11,5%), D2 (8,6%), A1 (5,7%), Orphan1 (8,6%), Orphan2 (2,8%). Analisis *Mixed Stock Analysis* (MSA) memperlihatkan bahwa penyu hasil penelitian tersebut berasal dari beberapa habitat peneluran di wilayah Australasia seperti Northwest Cape (28,77%), Pulau Sangalaki (22,34%), dan Pulau Sipadan (8,86%)

Genetik Kata Kunci : Komposisi, PCR, Haplotipe, *Mixed Stock Analysis*.

## **PENDAHULUAN**

Penyu laut merupakan salah satu satwa yang memiliki peranan penting bagi kehidupan masyarakat pesisir. Selain berperan diranah sosial dan ekonomi, penyu laut juga merupakan salah satu faktor penyangga ekosistem kehidupan perairan. Pada sebagian masyarakat pesisir, penyu dimanfaatkan sebagai sumber ekonomi kehidupannya. Apabila pemanfaatan penyu tidak dilakukan dengan bijaksana, maka hal ini dapat menyebabkan penurunan populasi secara permanen (Adnyana, 2004).

Penyu laut telah lama menjadi sasaran perburuan manusia, mulai dari penyu betina dewasa yang merayap menuju pantai, telur-telurnya yang ada di dalam sarang sampai penyu dewasa yang berada di laut lepas. Alasan utama kegiatan perburuan satwa ini pada umumnya karena nilai ekonomis satwa tersebut. Konsumsi telur dan daging semakin hari semakin meningkat dan hasil kerajinan karapas yang indah dan mahal harganya banyak dijajakan di lokasi-lokasi rekreasi seperti di tempat rekreasi pantai kawasan pulau Bali dan tempat rekreasi pantai lainnya di Indonesia (Priyono, 1989).

Penyu Hijau adalah salah satu anggota keluarga penyu yang paling intensif dieksploitasi. Daging dan telurnya merupakan sumber protein yang digemari masyarakat pesisir. Pemanfaatan penyu Hijau di Indonesia telah melewati sejarah yang panjang. Mitos yang berkembang tentang khasiat daging dan telur penyu ini mendorong permintaan penyu Hijau semakin meningkat dari

tahun ke tahun (Pramoto, 2004). Bali merupakan konsumen terbesar penyu Hijau. Pemanfaatan penyu Hijau oleh masyarakat Bali adalah untuk memenuhi tiga kepentingan yaitu kebutuhan ritual keagamaan, perdagangan tidak sah untuk konsumsi serta kepentingan pelepas-liaran tukik (Adnyana dkk., 2010). Akibat dari tindakan eksploitasi ini adalah penurunan populasi penyu secara drastis hingga mencapai 80% dibandingkan dengan jumlah populasi pada 15 tahun sebelumnya (Adnyana, 2005; Dermawan dan Adnyana, 2003).

Penyu memiliki perilaku ruaya atau migrasi yang dapat mencapai ratusan bahkan ribuan kilometer dari habitat pakan hingga habitat peneluran. Data molekuler dapat membantu menyediakan informasi penting mengenai pola penyebaran dan juga pola aliran gen antar populasi berdasarkan perilakunya tersebut (Allard *et al.*, 1994; FitzSimmons *et al.*, 1999; Peare and Parker, 1996). Marka molekuler yang digunakan dalam upaya mengidentifikasi pola aliran gen diantara populasi tersebut adalah DNA mitokondria atau *Mithochondrial DNA* (mtDNA). *Mithochondrial DNA* (mtDNA) merupakan materi genetik yang diturunkan secara maternal. Metode mtDNA dapat digunakan sebagai penanda genetik dan dalam studi genetika populasi penyu laut, mtDNA dapat digunakan untuk menentukan asal dari perkembangan penyu muda atau dewasa yang ditemukan diberbagai habitat hidupnya (Bass *et al.*, 2006; Lahana *et al.*, 1998; Luke *et al.*, 2004), bahkan pada penyu yang merupakan hasil tangkapan liar (Wandia, komunikasi pribadi 2010). Dan untuk mengidentifikasi kontribusi asal dari penyu Hijau hasil tangkapan liar digunakan *Mixed Stock Analysis* (MSA). *Mixed Stock Analysis* merupakan suatu metode yang menggunakan morfologi atau penanda genetik yang diukur dari populasi yang dicampur untuk memperkirakan proporsi kontribusi masing-masing sumber pada populasi campuran tersebut (Bolker *et al.*, 2007).

Sejauh ini, informasi penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat (Bima dan Teluk Cempì) sangat terbatas. Hubungan genetik dari penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat dan keterkaitannya dengan area peneluran lainnya di Australasia perlu lebih diperjelas. Disinilah pengetahuan

mengenai genetika populasi secara molekuler ini akan sangat membantu dalam membentuk jejaring area perlindungan penyu.

Permasalahan yang diangkat dari penelitian ini adalah: Bagaimana komposisi genetik penyu Hijau (*Chelonia mydas*) hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat (Bima dan Teluk Cempì)? Bagaimana hubungan komposisi genetik penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat (Bima dan Teluk Cempì) dengan komposisi genetik penyu Hijau di beberapa habitat peneluran di Australasia?

Tujuan dari penelitian ini adalah: Mengetahui komposisi genetik penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat (Bima dan Teluk Cempì). Dan mengetahui hubungan komposisi genetik penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat (Bima dan Teluk Cempì) dengan komposisi genetik penyu Hijau di habitat peneluran lainnya di Australasia.

## **MATERI DAN METODE**

### **Materi**

Sampel yang digunakan ada dua yaitu : data primer dan data sekunder. Data primer berupa 35 spesimen penyu Hijau yang diambil langsung dari Nusa Tenggara Barat, yaitu 22 sampel berasal dari Teluk Cempì dan 13 sampel berasal dari Bima. Sampel ini diambil dengan teknik biopsi jaringan, sedangkan teknik isolasi DNA dan teknik PCR di Laboratorium Pusat Penelitian Satwa Primata Lembaga Penelitian Universitas Udayana. Analisis genetik dengan fasilitas *sequencing* dilakukan di Macrogen Inc. Korea. Data sekunder berupa nukleotida mitokondria DNA yang dipublikasikan oleh Moritz *et al.*, (2002) dan Dethmers *et al.*, (2006).

Medium transport ethanol, perlengkapan ekstraksi DNA dengan Qiamp™ DNA Mini Kit dari Qiagen, 2 unit Taq DNA *Polymerase applied biosystem*, MgSO<sub>4</sub>, larutan buffer, dNTP, TAE (Tris Acetic EDTA),

agarose, etidium bromide, loading dye, marker (100-bpladder, Invitrogen) dan primer LTEI9 (GGGAATAATCAAAAAGAGAAGG) dan H950 (GTCTCGGATTTAGGGGTTT). Kedua primer tersebut adalah primer universal untuk mt-DNA penyu laut (Abreu-Grobois *et al.*, 2006).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sentrifugator, alat pendingin, tabung eppendof besar dan kecil beserta rak, thermocycler Eppendorf Mastercycler personal (PTC-100<sup>TM</sup> Programable Thermal Controller MJ Research Inc), gelas ukur, pinset, pipet mikro, tips, oven, laminar flow, incubator, alat elektroforesis, sinar ultraviolet, kamera digital serta sarung tangan dan masker.

## **Metode**

Isolasi DNA dilakukan dengan menggunakan Qiamp<sup>TM</sup> DNA Mini Kit dari Qiagen. Sampel dari lapangan dimasukkan dalam larutan ethanol dan disimpan pada suhu -20°C. Sampel sebanyak 25 mg diambil dan dipotong menjadi potongan kecil-kecil, tambahkan ke dalamnya Buffer ATL 180µL kemudian dihomogenkan kembali dengan mikropastel. Apabila sudah homogen tambahkan proteinase K sebanyak 20 µL, kemudian vorteks dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 56°C sampai lisis total selama 3 jam, sampelnya divortek 2-3 kali perjam agar selnya menyebar. Sentrifugasi tube sampel sebentar saja, sebelum ke langkah berikutnya. Buffer AL sebanyak 200 µL dimasukkan ke dalam tube, dicampur dengan cara vorteks berdenyut selama 15 detik dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 70°C. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 detik. Tambahkan 200 µL ethanol (96-100%) ke dalam larutan lalu divorteks selama 15 detik, kemudian disentrifugasi sebentar.

Setelah tahap itu, larutan dimasukkan ke dalam *QIAamp Mini spin column* (column berada dalam tube 2 ml) tanpa membasahi rim-nya, tutup kapnya dan disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8000 rpm. Kemudian buang tube 0,2 ml yang berisi filtrate. Secara berhati-hati, Buffer AW2 sebanyak 500 µL dimasukkan tanpa membasahi rim-nya dan tutup kembali kapnya. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit, lalu taruh column pada

tube 2 ml yang baru dan buang tube yang berisi filtrate. Buffer AW2 sebanyak 500  $\mu$ L ditambahkan tanpa membasahi rim-nya, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 3 menit. Buang tube 2 ml yang berisi filtrate dan pasangkan tube 2 ml yang baru, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit. Buang tube 2 ml yang berisi filtrate, kemudian tempatkan column pada tube 1,5 ml yang baru. Buffer AE sebanyak 200  $\mu$ L ditambahkan dan diinkubasikan pada suhu ruang selama 1 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit. Larutan DNA yang diperoleh dapat disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Total volume produk PCR adalah 25 $\mu$ L yang terdiri dari 2.5L DNA genom, 1.5 unit taq DNA polimerase (*applied biosystem*), 1 x PCR buffer (*applied biosystem*),  $\text{MgCl}_2$  25 mM, dNTP 1 mM, dan 10 mM primer. Sampel jaringan kemudian didenaturasi pada suhu  $94^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit, dilanjutkan dengan 40 siklus: 45 detik pada suhu  $94^{\circ}\text{C}$  (*denaturasi*), 45 detik pada suhu  $55^{\circ}\text{C}$  (*annealing*), 45 detik pada suhu  $72^{\circ}\text{C}$  (*extension*) dilanjutkan dengan *final extension* pada suhu  $72^{\circ}\text{C}$  selama 4 menit.

Untuk mengetahui panjang produk PCR dilakukan elektroforesis, dimana loading dye (*bromphenol-blue* dan *cyline cyanol*) sebanyak 1  $\mu$ L ditambahkan kedalam 2  $\mu$ L produk PCR, kontrol negatif dan kontrol positif (marker) selanjutnya dielektroforesis selama 30 menit dengan tegangan 50 Volt pada media gel agarose 1% dengan pewarnaan *etidum bromide*. Produk PCR kemudian dikirim ke Macrogen Inc. (Korea) untuk diurutkan (sekuensing).

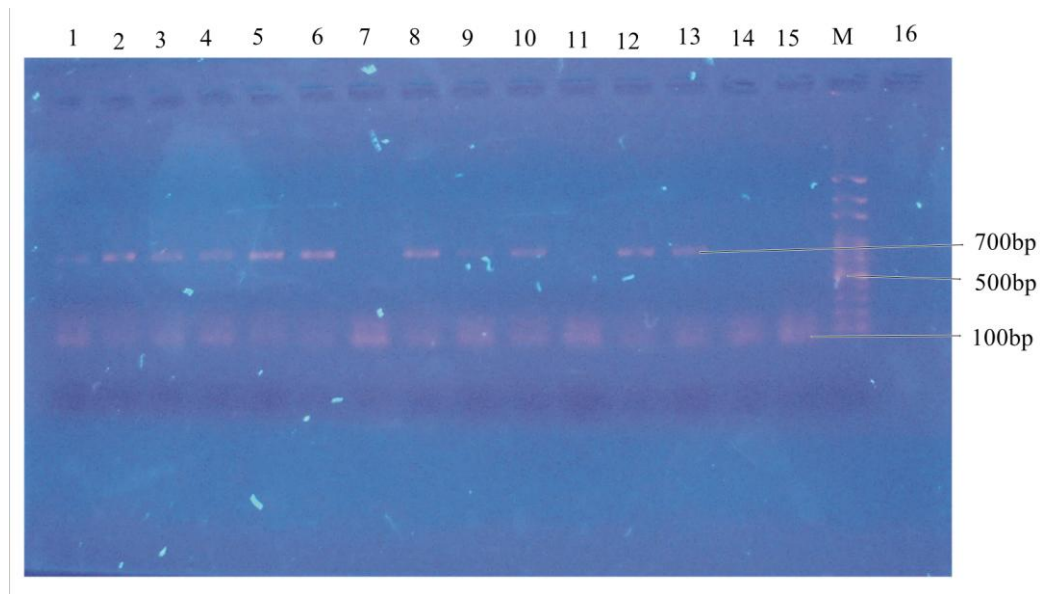
Hasil *Mitochondrial DNA* (mtDNA) yang sudah diurutkan dan dianalisis, dihitung jumlah haplotipe, tempat polimorfik (*polimorfik sites*), jarak genetik dan pohon asal usul (*phylogenetic tree*). Seluruh parameter dianalisis dengan menggunakan program MEGA 4.0 (Kumar et al., 2004).

Kontribusi individu dari beberapa populasi peneluran terhadap haplotipe penyusut Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat, dianalisis menggunakan *Mixed Stock Analysis* dengan program BAYES (Pella and Masuda, 2001). Analisis Bayesian menawarkan satu pendekatan dimana haplotipe yang ada dalam sampel yang kecil dapat dimasukkan dalam analisis BAYES sehingga

memberikan batas kepercayaan yang lebih akurat. Analisis ini membandingkan frekuensi haplotipe yang di temukan pada penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat dengan frekuensi haplotipe pada 27 daerah peneluran di Australasia berdasarkan penelitian Moritz *et al.*, (2002) dan Dethmers *et al.*, (2006). Analisis ini selain menganalisis kontribusi dari 27 daerah peneluran juga menganalisis kontribusi dari 17 *Management units* (unit manajemen) di Australasia dari penelitian sebelumnya.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 35 sampel *Mitochondrial DNA* (mtDNA) penyu Hijau dapat di amplifikasi dengan teknik PCR. Contoh hasil elektroforesis produk PCR ditampilkan pada gambar berikut.



**Gambar 5.** Hasil Elektroforesis produk PCR dengan gel agarose 1% yang telah diwarnai dengan etidium bromide dengan marker 100 pasang basa DNA ladder (invitrogen)

Hasil sekuensing (pengurutan) produk PCR dari 35 sampel jaringan penyu Hijau dapat dilihat pada **Lampiran 3** Panjang produk PCR yang di amplifikasi adalah sekitar 700 bp. Panjang sekuensing yang ditampilkan adalah 384 bp untuk

disesuaikan dengan fragmen mtDNA penyu Hijau Australasia yang telah dipublikasikan oleh Moritz *et.al.*, (2002) dan Dethmers *et al.*, (2006). Hasil analisis dari sekuen mtDNA tersebut menghasilkan sebelas haplotipe (**Tabel 1**) dengan 27 tempat polimorfik (**Tabel 2**).

**Tabel 1.** Frekuensi Haplotipe mtDNA Penyu Hijau Hasil Tangkapan Liar dari Nusa Tenggara Barat.

Haplotipe	Jumlah	Persentase (%)
C1	9	25.8
C3	7	20
C4	1	2.8
C5	2	5.7
C7	2	5.7
C9	1	2.8
C14	4	11.5
D2	3	8.6
A1	2	5.7
Orphan1	3	8.6
Orphan2	1	2.8
Jumlah	35	100

Keterangan: Penamaan haplotipe disesuaikan dengan penelitian Moritz *et al.*,(2002) dan Dethmers *et al.*, (2006). Sedangkan penamaan Orphan1 dan Orphan2, merupakan haplotipe yang tidak ditemukan pada penelitian sebelumnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa di Nusa Tenggara Barat didominasi oleh penyu berhaplotipe C1 dengan frekuensi 25,8%.



**Tabel 2.** Situs Polimorfik (*Polimorfik sites*) dari Sebelas Haplotipe Sekuen mtDNA Penyu Hijau yang Ditemukan di Nusa Tenggara Barat. Penomoran Menyatakan Situs Polimorfik.

Position	1 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 3 3 3 3 3 3 3																											
	5 6 6 6 7 7 7 5 6 8 4 5 5 5 5 6 7 7 9 9 1 1 1 1 2 7 7																											
Haplotypes	8 0 1 9 6 7 9 8 4 4 3 1 3 7 9 0 0 1 6 7 1 7 8 9 4 3 4																											
C3	A	C	C	T	A	T	A	C	A	G	G	T	G	A	A	G	C	C	C	T	C	G	T	A	C	A	A	
C5	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
A1	G	T	T	C	.	.	T	.	A	A	C	A	G	G	A	T	T	T	C	T	A	C	G	T	.	G	.	
D2	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
C9	.	.	.	.	.	G	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
C1	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
C14	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
C4	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
C7	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.
Orphan1	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	G	.
Orphan2	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Keterangan: Tidak terdapat tranversi pada tabel situs polimorfik di atas dan jumlah transisi adalah 27.

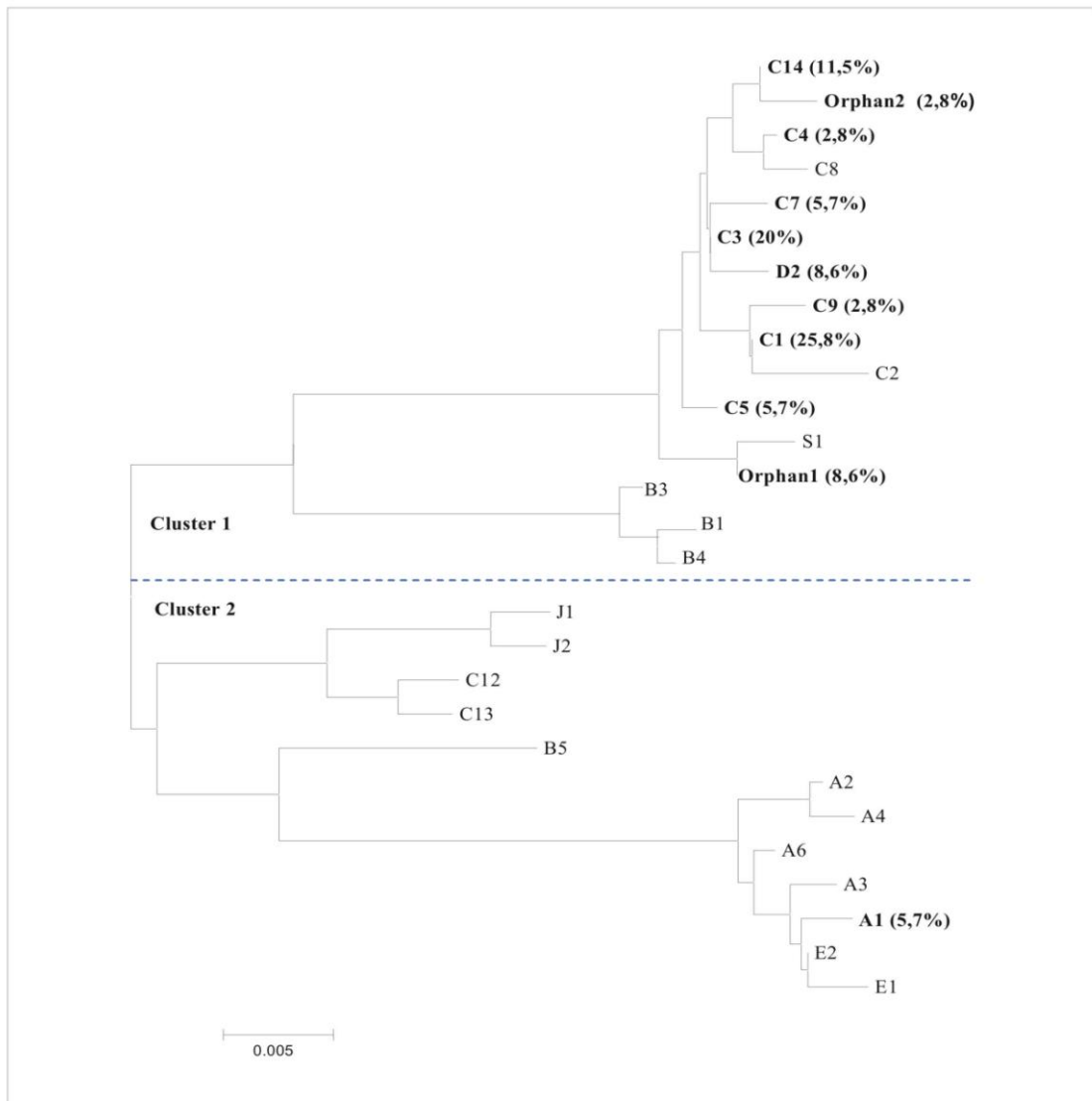
Penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat mempunyai keragaman haplotipe (*haplotype diversity* atau  $hd$ ) dan keragaman nukleotida ( $\pi$ ) yang tergolong tinggi yaitu sebesar  $0,879 \pm 0,031$  dan  $0,01016$ . Tingkat keragaman haplotipe menunjukkan derajat keragaman, semakin besar nilai keragaman genetik berarti keragaman semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin kecil nilai keragaman genetik berarti nilai keragamannya semakin rendah. Keragaman haplotipe ini dipengaruhi pemisahan populasi, *gen flow* dan mutasi. Tingkat keragaman individu dalam populasi maupun antar populasi menggambarkan status keadaan spesies tersebut di alam. Keragaman genetik ini dapat diartikan sebagai *fitnes*, yaitu semakin tinggi keragamannya maka peluang hidupnya akan lebih baik karena kemampuan untuk beradaptasi dengan lingkungan semakin baik (Meffe and Carrol, 1994).

**Jarak Genetik Dan Pohon Filogeni Sample Penyu Hijau Dari Nusa Tenggara Barat**

**Tabel 3.** Jarak Genetik Sampel Penyu Hijau Dari Nusa Tenggara Barat

	C2	C4	D2	C9	C1	C7	C5	ORPHAN1	C14	ORPHAN2	A1
C2											
C4	0,003										
D2	0,003	0,005									
C9	0,005	0,008	0,008								
C1	0,003	0,005	0,005	0,003							
C7	0,003	0,005	0,005	0,008	0,005						
C5	0,003	0,005	0,005	0,008	0,005	0,005					
ORPHAN1	0,005	0,008	0,008	0,011	0,008	0,008	0,008				
C14	0,003	0,005	0,005	0,008	0,005	0,005	0,005	0,008			
ORPHAN2	0,005	0,008	0,008	0,011	0,008	0,008	0,008	0,011	0,003		
A1	0,061	0,064	0,064	0,067	0,064	0,058	0,058	0,061	0,058	0,055	

Keterangan : Rata-rata jarak genetik (*genetic distance*) dari sebelas urutan haplotipe yang ditemukan adalah 0,016.



**Gambar 6.** Pohon Asal Usul Penyu Hijau di Australasia.

Keterangan: Haplotipe yang ditemukan pada penelitian dicetak tebal. Garis skala menunjukkan jarak genetik 0,005. Angka di dalam kurung menunjukkan persentase haplotipe pada lokasi penelitian.

Hasil analisis Bayesian dibagi menjadi dua. Pada **Tabel 4** diperlihatkan hasil analisis untuk memperkirakan persentase kontribusi 27 habitat peneluran di Australasia terhadap haplotipe penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat. Sedangkan pada **Tabel 5** diperlihatkan perkiraan persentase kontribusi 17 unit manajemen di Australasia yang ditemukan pada penelitian

sebelumnya (Moritz *et al.*, 2002 dan Dethmers *et al.*, 2006) terhadap haplotipe dari penyu Hijau yang berasal dari Nusa Tenggara Barat. Peta lokasi peneluran dengan berbagai unit manajemen ditampilkan pada **Gambar 7**.

**Tabel 4.** Rerata dan Simpangan Baku Kontribusi dari Beberapa Habitat Peneluran di Australasia (berdasarkan Moritz *et al.*, 2002 dan Dethmers *et al.*, 2006) untuk Penyu Hijau Hasil Tangkapan Liar dari Nusa Tenggara Barat.

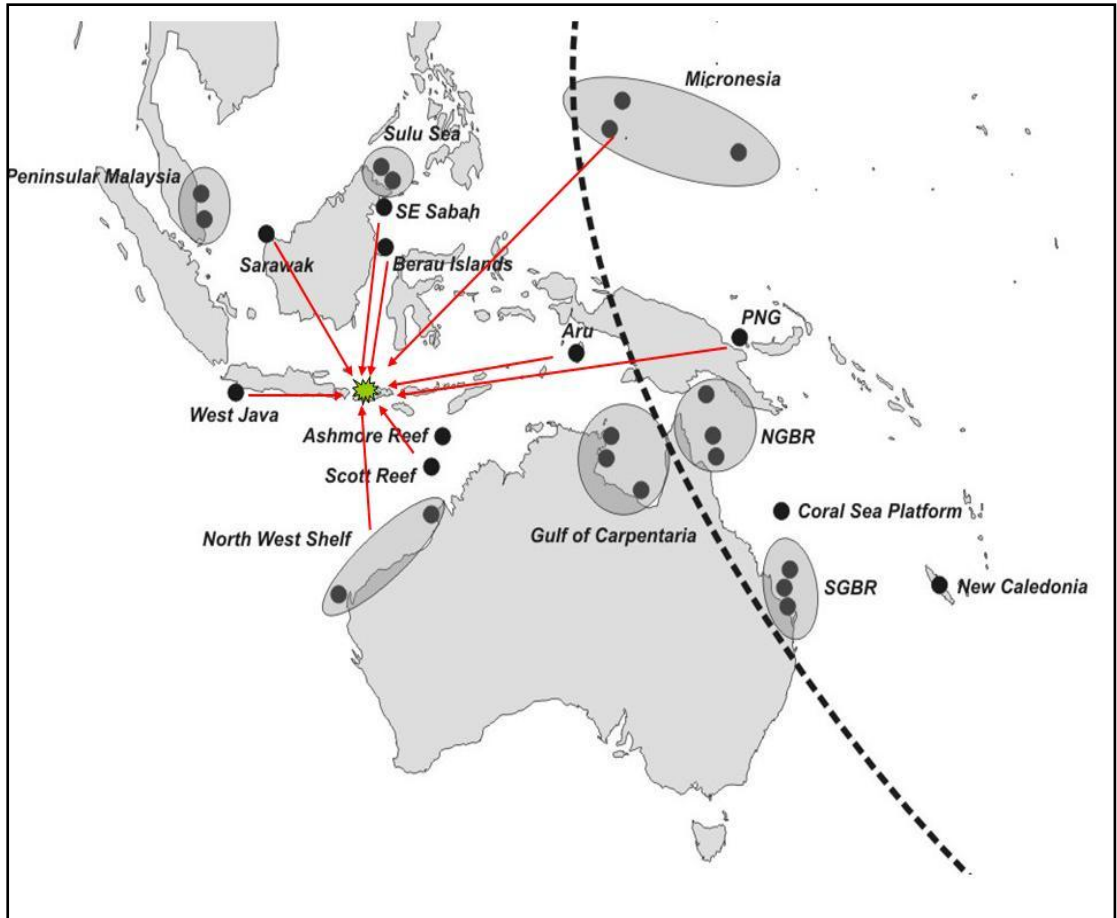
Habitat Peneluran	N	Rerata	SD	% Kontribusi
Raine	25	0.0019	0.0089	0.19
Coral Sea	41	0.0014	0.0067	0.14
New Caledonia	10	0.0018	0.0089	0.18
Atol Elato	15	0.0282	0.0484	2.82
Atol Ngulu	25	0.004	0.0161	0.4
Atol Ulithi	9	0.0089	0.029	0.89
Long Island	18	0.0235	0.044	2.35
Pulau Paka	15	0.0109	0.0396	1.09
Pulau Redang	12	0.0367	0.0858	3.67
<i>Sarawak Turtle Island</i>	22	0.0162	0.0312	1.62
<i>Malaysia Turtle Island</i>	28	0.0109	0.0348	1.09
<i>Philippine Turtle Island</i>	39	0.0154	0.047	1.54
<b>Pulau Sangalaki</b>	<b>29</b>	<b>0.2234</b>	<b>0.1885</b>	<b>22.34</b>
<b>Pulau Sipadan</b>	<b>30</b>	<b>0.0886</b>	<b>0.1545</b>	<b>8.86</b>
Pulau Enu	28	0.0182	0.0446	1.82
Pulau Bountiful	49	0.0069	0.032	0.69
Groote Island	23	0.0577	0.1412	5.77
Port Bradshaw	60	0.01	0.043	1
Ashomore Reef	20	0.0034	0.0163	0.34
Sandy Island	19	0.0462	0.1205	4.62
Pangumbahan (Jawa Barat)	23	0.0187	0.0573	1.87
<b>Northwest Cape</b>	<b>15</b>	<b>0.2877</b>	<b>0.2292</b>	<b>28.77</b>
Lacepedes	30	0.0716	0.1395	7.16
Sukamade	14	0.0077	0.0343	0.77

Hasil analisis menunjukkan habitat peneluran Northwest Cape memberikan proporsi kontribusi terbesar (28,77%), Pulau Sangalaki (22,34%), dan Pulau Sipadan (8,86%).

**Tabel 5.** Perkiraan Kontribusi dari Beberapa *Management Units (MU)* di Australasia (berdasarkan Dethmers *et al*, 2006) untuk penyu Hijau Hasil Tangkapan Liar dari Nusa Tenggara Barat.

Management Unit	N	Rerata	SD	% Kontribusi
NGBR	27	0.0023	0.0091	0.23
<b>Northwest Shelf</b>	<b>45</b>	<b>0.3274</b>	<b>0.154</b>	<b>32.74</b>
Coral Sea Platform	41	0.0021	0.0081	0.21
Gulfcarpent		0.012	0.0453	1.2
Ashomore Reef	20	0.0056	0.0236	0.56
<b>Scoot Reef</b>	<b>19</b>	<b>0.0778</b>	<b>0.1676</b>	<b>7.78</b>
Micronesia	<b>49</b>	0.037	0.046	3.7
Kepulauan Aru	28	0.035	0.0619	3.5
<b>Kepulauan Berau</b>	<b>29</b>	<b>0.263</b>	<b>0.1969</b>	<b>26.3</b>
Pengumbahan	23	0.02	0.0564	2
Peninsur Malaysia	27	0.016	0.0469	1.6
Sarawak	22	0.0229	0.0361	2.29
<b>Sabah</b>	<b>30</b>	<b>0.1042</b>	<b>0.1683</b>	<b>10.42</b>
New Caledonia	10	0.0026	0.0112	0.26
Papua Nugini	18	0.0465	0.0576	4.65
Laut Sulu	67	0.0143	0.0398	1.43
Sukamade	14	0.0113	0.0434	1.13

Hasil analisis menunjukkan bahwa kontribusi terbesar berasal dari Northwest Shelf (32,74%), Kepulauan Berau (26,30%), Sabah (10,42%) dan Scoot Reef (7,78%).



**Gambar 7.** Lokasi Peneluran dari Penyu Hijau di Asia Tenggara dan Pasifik Barat, Berdasarkan Atlas Analisis Struktur Geografis dan Variasi mtDNA.

Keterangan: Lingkaran menyatakan beberapa habitat peneluran yang menjadi bagian dari manajemen yang sama (Sumber: Moritz *et al.*, 2002). Dari peta tersebut dapat dilihat penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat berasal dari beberapa habitat peneluran yang tersebar di wilayah Australasia.

Analisis *mitochondrial* DNA (mtDNA) sangat berguna untuk menelusuri pertukaran genetik yang dimediasi oleh betina, karena ciri khas *mitochondrial* DNA (mtDNA) adalah diwariskan dari garis induk betina dan tidak mengalami rekombinasi (Wandia, 2001). Dari hasil penelitian yang dilakukan pada 35 sampel penyu Hijau (*Chelonia mydas*) hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat diketahui bahwa penyu tersebut masih merupakan bagian dari temuan terdahulu (Moritz *et al.*, 2002 dan Dethmers *et al.*, 2006).

Hasil pengurutan produk PCR dari 35 sampel penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat yang teramplifikasi adalah sekitar 700 bp. Analisis haplotipe 35 sampel penyu Hijau menghasilkan sebelas haplotipe, yang diberi nama yaitu C1, C3, C4, C5, C7, C9, C14, D2, A1, Orphan1, dan Orphan2. Penamaan haplotipe tersebut disesuaikan dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Moritz *et al.*, (2002) dan Dethmers *et al.*, (2006). Frekuensi haplotipe yang diidentifikasi dari penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat terdiri atas: C1 (25.8%), C3 (20%), C4 (2.8%), C5 (5.7%), C7 (5.7%), C9 (2.8%), C14 (11.5%), D2 (8.6%), A1 (5.7%), Orphan1 (8.6%), dan Orphan2 (2.8%). Berdasarkan data tersebut, penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat didominasi oleh haplotipe C1 dengan frekuensi 25.8%. sedangkan haplotipe terendah adalah C4, C9, Orphan2 dengan frekuensi masing-masing 2.8%.

Telah disinggung sebelumnya bahwa hasil penelitian menunjukkan bahwa haplotipe C1 merupakan haplotipe yang dominan pada penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat dengan persentase 25,8% (**Tabel 1**). Pada penelitian Moritz *et al.*, (2002) dan Dethmers *et al.*, (2006) yang menghasilkan komposisi genetik dari 27 habitat peneluran di Australasia, diketahui bahwa haplotipe C1 ditemukan di Northwest Cape, Lacepedes, Porth Bradshaw, dan Bountiful Island (**Lampiran 1**). Hal ini menunjukkan bahwa penyu tersebut dominan berasal dari wilayah perairan Australia. Haplotipe C3 juga cukup dominan dengan persentase 20%. Haplotipe C3 merupakan haplotipe yang paling sering ditemukan di semua habitat peneluran Australasia. Sedangkan haplotipe yang lainnya seperti C4, C5, C7, C9, C14, D2, dan A1 juga



tersebar di wilayah Australasia. Keunikan haplotipe penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat terletak pada haplotipe Orphan1 dan Orphan2, dimana haplotipe ini belum ditemukan pada penelitian sebelumnya. Penyu Hijau mempunyai karakteristik pada sebaran haplotipe. Ada jenis haplotipe tertentu yang menyebar hampir di setiap habitat peneluran dan mempunyai frekuensi yang tinggi (contohnya haplotipe C3). Kemudian terdapat beberapa haplotipe yang hanya terdapat di beberapa habitat peneluran saja (contohnya C1). Pola ini sesuai dengan pola populasi yang terjadi akibat adanya penurunan yang besar dalam populasi sebelumnya, dimana sebagian haplotipe tetap berada dalam sebuah populasi menjadi haplotipe yang dominan dan adanya mutasi haplotipe baru menjadi haplotipe yang unik pada populasi tersebut.

Hasil analisis dari 35 sampel dari urutan mtDNA penyu Hijau tersebut menghasilkan 27 situs polimorfik dengan komposisi 27 transisi dan tidak terdapat komposisi transversisi. Sebuah transisi terjadi ketika sebuah purin diganti oleh purin (*adenin* (A) dan *guanin* (G)), atau pirimidin oleh pirimidin (*cytosin* (C) dan *timin* (T)) (Kimura, 1980). Perubahan dari purin ke pirimidin, atau sebaliknya, adalah transversisi (Kimura, 1980). Pergantian basa *adenin* menjadi basa *guanin* dapat terlihat pada situs polimorfik 58, 76, 79, 164, 257, 259, 319, 373, dan 374. Pergantian basa *guanin* menjadi basa *adenin* dapat terlihat pada situs polimorfik 184, 243, 253, 260, dan 317. Pergantian basa *cytosin* menjadi basa *timin* dapat terlihat pada situs polimorfik 60, 61, 158, 270, 271, 296, 297, 311 dan 324. Sedangkan pergantian basa *timin* menjadi basa *cytosin* terlihat pada situs polimorfik 69, 77, 251, 297, dan 318.

Penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat mempunyai keragaman haplotipe (*haplotype diversity* atau  $h_d$ ) dan keragaman nukleotida ( $\pi$ ) yang tergolong tinggi yaitu sebesar  $0,879 \pm 0,031$  dan 0,01016. Tingkat keragaman haplotipe menunjukkan derajat keragaman, semakin besar nilai keragaman genetik berarti keragaman semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin kecil nilai keragaman genetik berarti nilai keragamannya semakin rendah (Meffe and Carrol., 1994). Pada penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat keragaman genetiknya tergolong tinggi. Hal ini kemungkinan

disebabkan oleh karena sampel penyu Hijau tersebut diambil dari penyu hasil tangkapan yang berasal dari berbagai lokasi peneluran sehingga semakin tinggi keragaman genetiknya.

Jarak genetik yang dianalisis menunjukkan seberapa besar adanya perbedaan genetik pada dua haplotipe yang berbeda. Hasil analisis menunjukkan jarak genetik yang paling dekat adalah 0,003, antara C2 dengan C4, C2 dengan D2, C2 dengan C1, C9 dengan C1, C2 dengan C7, C2 dengan C5, C2 dengan C14, serta C14 dengan Orphan1. Nilai tersebut menyatakan bahwa dari 1000 pasangan basa, hanya tiga pasangan basa yang berbeda. Dalam penelitian ini yang menggunakan rangkaian basa 384 bp, jarak genetik 0,003 menunjukkan bahwa dari 384 bp hanya ada 1 bp yang berbeda. Jarak genetik paling jauh 0,067, antara C9 dengan A1. Adanya perbedaan jarak genetik akan berhubungan langsung dengan kekerabatan dari penyu itu sendiri. Melihat data jarak genetik tersebut, haplotipe yang ditemukan pada penelitian ini digabungkan dengan data penelitian terdahulu (Moritz *et al.*, 2002 dan Dethmers *et al.*, 2006) dan ditampilkan dalam pohon asal usul. Haplotipe yang ditemukan terdiri dari dua *clusters*, dimana C1, C3, C4, C5, C7, C9, C14, D2, Orphan1 dan Orphan2 membentuk satu kelompok dan A1 juga terpisah membentuk kelompok lain. Hal ini berarti bahwa penyu Hijau tersebut berasal dari dua garis keturunan yang berbeda dan didominasi oleh kelompok genetik yang pertama (**Gambar 6**).

Dari hasil analisis yang dilakukan menunjukkan bahwa penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat berasal dari beberapa habitat peneluran seperti Northwest Cape, Pulau Sangalaki, dan Pulau Sipadan. Melihat hasil sebaran dari sebelas haplotipe yang ditemukan tersebut, maka 27 habitat peneluran dan 17 unit manajemen di Australasia memiliki peluang berkontribusi terhadap penyu Hijau hasil tangkapan liar tersebut.

### **SIMPULAN**

Hasil dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut : Penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat terdiri dari sebelas haplotipe yaitu A1, C1, C3, C4, C5, C7, C9, C14, D2, Orphan1, dan Orphan2 dan didominasi oleh Haplotipe C1. Dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa secara genetik penyu Hijau hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat sebagian besar merupakan penyu Hijau yang terdapat di beberapa habitat peneluran di wilayah Australasia.

### **SARAN**

Penyu Hijau merupakan salah satu satwa yang terancam punah. Oleh karena itu, eksploitasi terhadap penyu Hijau harus dikurangi atau bahkan ditiadakan serta tindakan konservasi lebih ditingkatkan. Hal ini dilaksanakan guna mempertahankan keanekaragaman genetik dan mencegah terjadinya kepunahan dari penyu Hijau tersebut.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Abreu-Grobois, FA., JA. Horrocks, A. Formia. 2006. New mtDNA dloop Primers Which Work for a Variety of Marine Turtles Species may Increase the Resolution Capacity of Mixed Stock Analyses. Annual Symposium on Sea Turtles Biology and Conservation. Greece.
- Adnyana, I.B.W., I.G.N.K. Mahardika, G. Budiana. 2003. Survei Pendahuluan Habitat dan Manajemen Konservasi Penyu di Taman Nasional Meru Betiri dan Alas Purwo. Laporan untuk Program Penyu WWF Indonesia Spesies Program. Bali.
- Adnyana, I.B.W. 2003. Ekowisata Penyu Laut: Harmoni Ekonomi dan Ekologi. Bali- Indonesia.
- Adnyana, I.B.W. 2004. *Turtle Trade in Bali: A Retrospective, Current Situations and Future Challenges for its Control*. Bali-Indonesia.
- Adnyana, I.B.W., IG NK Mahardika, Iramsyah, R. Andar, Mursalin. 2005. Survei Pendahuluan Komposisi Penyu Hijau dan Penyu Sisik di Ruaya Pakan Pulau

Panjang, Kabupaten Berau, Kalimantan Timur. Laporan untuk Program Konservasi Penyu WWF Indonesia, Desember 2005. Pg 10.

Adnyana, I.B.W., Creusa Hitipeuw, IGBN Trilaksana, I.M. Damriyasa, I.M. Jaya Ratha. 2010. Sigi Pemanfaatan dan Perdagangan Penyu di Bali serta Rekomendasi pengentasannya. Laporan untuk program Konservasi Penyu WWF Indonesia, Mei 2010.

Allard, M.W., M.M Miyamoto, K.A. Bjorndal, A.B. Bolten, and B. W. Bowen. 1994. *Support for Natal Homing in Green Turtles From Mitochondrial DNA Sequences*. *Copeia* (1):34-41.

Azkab, M.H. 1999. Penyu Hijau (*Chelonia mydas*) yang Senang Melahap Lamun Hijau Segar. Puslitbang Oseanologi-LIPI. Volume XXIV (2). 1999: 13-20.

Bass, A.L., S.P. Epperly, and J.B. McNeill. 2006. Green Turtle (*Chelonia mydas*) Foraging and Nesting Aggregations in the Caribbean and Atlantic: Impact of current ang Behavior Dispersal. *Jurnal of Heredity*. 2006 97(4):346-354.

Bjorndal, K.A. 1997. Foraging Ecology and Nutrition of Sea Turtles. P.201. *in*: P.L. Lutz and J. Musick (Editors). *The Biology of Sea Turtles*. RC Press. Boca Raton, Florida.

Bolker, Benjamin M., T. Okuyama, Karen A. Bjorndal, Alan. B Bolten. 2007. Incorporating multiple mixed stocks in mixed stock analysis: 'many-to-many' analyses. *Molecular Ecology*, Volume 16, Number 4, pp. 685-695(11).

Bowen, B.W., and S.A. Karl. 1997. *Population genetics, phylogeography, and molecular evolution*. p.29-50, *in*: P.L. Lutz and J. Musick (Editors). *The Biology of Sea Turtles*. RC Press. Boca Raton, Florida.

Dahuri, R., J. Rais, S.P. Ginting dan MJ. Sitepu. 1996. *Pengelolaan Sumberdaya Wilayah Pesisir dan Lautan Secara Terpadu*. PT Pradnya Paramita. Jakarta. Indonesia.

Dermawan, A. dan Adnyana. I.B.W. 2003. *Pedoman Pengelolaan Konservasi Penyu Dan Habitatnya*. Departemen Kelautan Dan Perikanan. Jakarta.

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 Australasia Green Turtle (Chelonia mydas): exploring*

*the geographical scale of genetic exchange.* Molecular ecology 15,3931-3946.

Eckert, K. L. 1995. Draft General Guidelines and Criteria for Management of Threatened and Endangered Marine Turtles in the Wider Caribbean Region. UNEP (OCA)/CAR WG.19/ INF.7. Prepared by WIDECASST for the 3rd Meeting of the Interim Scientific and Technical Advisory Committee to the SPAW Protocol. Kingston, 11-13 October 1995. United Nations Environment Programme, Kingston. 95 pp.

FitzSimmon, N.N., C. Moritz, It). Miller, and B.W.B. Bowen. 1999. *Population Identification* in: K.L. Eckert, K.A. Bjorndal, F.A. Abreu-Grobois, and M. Donnelly (Editors). *Research and Management Technich for Conservation Sea Turtle. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication No.4.*

Hirth, H. F. 1971. Some Aspect of the Nesting Behavior and Reproductive Biology of Sea Turtle. Amer. Zool. 20: 507-523.

Iguchi, K. Tanimura Y., Takeshima H., and Nishida M. 1999. *Genetic Variation and Geographic Population Structure of Amphidromous Ayu Plecoglossus altivelis as Examined by Mirochondrial DNA sequencing.* Fisheries Science 65(1): 63-67.

Kumar, S., K. Tamura, and M. Nei. 2004. MEGA 3: *Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Aligment.* Briefings in Bioinformatics 5:150-163.

Lahana, P.N., K.A. Bjorndal, A.B. Bolten, S.E. Encalda, 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.

Lee, M.S.Y. 1993. *The Origin of the Turtle Body Plan.: Bridging a Famous Morphological Gap.* Science 261: 1716-1720.

Luke, K., J.A. Horrocks, R.A. LeRoux, and P.A. Dutton. 2004. *Origins of Green Turtle (Chelonia mydas) Feeding Agregations around Barbados, West Indies.* Marine Biology (2004) 144:799-805.

Mahardika, I. G. N. K. 2003. *Polymerase Chain Reaction.* Laboratorium Virologi Fakultas Kedokteran hewan Universitas Udayana, Denpasar.

Meffe, G.K. and C.R. Carroll. 1994. *Principlesof Conservation Biology.* Meffe, G.K., and C.R. Carroll (Eds). Sinauer Associates, Inc. Sunderland.

- Miller, J. D. 1985. *Embriology of Marine Turtles*. Chapter 4. In: *Biology of The Reptilia. Volume 14*. Development A. A Wiley-Interscience Publ. John Wiley and Sons. USA.
- Miller, J.D. 1997. *Reproduction In Sea Turtle*. P 51-71. In: *The Biology of Sea Turtle*. Ed P. L. Lutz and J. A. Musick. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Moritz, C, D. Broderick, KL Dethmers, N.N. FitzSimmon, and C. Limpus. 2002. Population Genetics of Southeast Asian and Western Pasiflc Green Turtles, *Chelonia mydas*. Final Reportto UNEP/CMS.
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika Pustaka Wirausaha Muda*. Bogor. Indonesia.
- Norman, I, C. Moritz., C. Limpus, and R.Prince. 1990. *Population Genetics as a Tool for managing Marine Turtle Population*, in: *Proceeding of the Australian Marine Turtle Conservation Workshop*. Sea World Nara Resort, Gold Coast. 14-17 November 1990. Queensland Department of Environment and Heritage and Australian Nature Conservancy Agency.
- Nuitja, I.N.S. 1983. *Studi Ekologi Peneluran Penyu Daging, Chelonia mydas L. di Pantai Sukomade Kabupaten Banyuwangi*. Laporan Penelitian. Fakultas Perikanan. IPB. Bogor.
- Pella, J.J and M. Masuda. 2001. Bayesian Methods for Analysis of Stock Mixtures from Genetic Characters. *Fish Bull* 99:151-67.
- Peare, T. and P.G. Parker. 1996. *Local Genetic Structure Within Two Rookeries of Chelonia mydas (The Green Turtle)*. *Heredity* 77:619-628.
- Pramoto, Erna W. 2004. *Evaluasi Kebijakan Perlindungan Penyu Hijau Di Indonesia*. Pusat Penyelamatan Satwa Cikananga. Sukabumi.
- Prichard, P. C. 1999. *Galapagos Sea Turtle -preliminary Finding*. *J. Herpetology*. 5:1-9.
- Priyono, Agus. 1989. *Pengelolaan Habitat dan Satwa Penyu Laut*. Media Konservasi. Volume II (2).
- Purwana, H.N. 2010. *Identifikasi Komposisi Genetik Penyu Hijau (Chelonia mydas) di Pantai Peneluran Sukamade, Taman Nasional Meru Betiri, Jawa Timur dan Implikasi Pengelolaan Konservasinya* (Thesis). Program Pascasarjana, Program Studi Ilmu Lingkungan, Universitas Udayana, Denpasar, Bali.

- Spotila, James R. 2004. *Sea Turtles: A Complete Guide to Their Biology, Behavior, and Conservation*. Baltimore: John Hopkins University.
- Sutanto, A.B. 2002. *Analisis 16s rDNA-mtDNA Sebagai Marker Genetik Variabilitas Pertumbuhan Ikan Kerapu Macam (Epinephelus fuscogutatus) Melalui Metode PCR-RFLP*. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Suwarminiwati, I. G. A. Ayu. 2008. *Keragaman Genetik Abalon (Haliotis Asinina) Di Lokasi Pantai Yang Berbeda Di Bali Melalui Analisis DNA Mitokondria* (Thesis). Program Pasca Sarjana, Program Studi Bioteknologi Pertanian. Universitas Udayana, Denpasar, Bali.
- Thorgaard, G.H. 1992. *Application of Genetic Tehnologies to Rainbow Trout. Aquaculture*, 200 : 85-97.
- Tomascik, J. 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.
- Yuwono, T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Wandia, I.N. 2001. *Genom Mitokondria*. Jurnal Veteriner Volume 2 (4). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udayana. Denpasar.