

## Lumba-Lumba Hidung Botol Laut Jawa Adalah *Tursiops aduncus* Berdasar Sekuen Gen NADH *Dehidrogenase* Subunit 6

(*VERIFICATION BOTTLENOSE DOLPHINS FROM JAVA SEA IS TURSIOPS ADUNCUS BASED ON GENE SEQUENCES OF NADH DEHYDROGENASE SUBUNIT 6*)

Rini Widayanti<sup>1</sup>, Yuda Heru Fibrianto<sup>2</sup>, Woro Danur Wendo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bagian Biokimia, <sup>2</sup>Bagian Fisiologi, <sup>3</sup>Bagian Anatomi  
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada,  
Jln Faunan No 2 Kampus UGM, Yogyakarta.  
Telp: 0274 560865 E-mail: riniwida@yahoo.co.uk

### ABSTRAK

Lumba-lumba hidung botol (*Tursiops* sp.) merupakan salah satu mamalia air yang banyak tersebar di perairan Indonesia, salah satunya adalah di perairan Laut Jawa. Taksonomi genus *Tursiops* sampai saat ini masih kontroversial. Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji secara molekuler *Tursiops* sp. asal laut Jawa berdasar sekuen gen *NADH dehidrogenase* sub unit 6 (ND6). Sampel yang digunakan berasal dari darah lima ekor lumba-lumba hidung botol di penangkaran di Kendal, Semarang, Jawa Tengah. Sampel darah selanjutnya diisolasi DNANYa, diamplifikasi dengan teknik PCR, disekuensing, dan data dianalisis menggunakan program MEGA v. 5.1. Hasil amplifikasi diperoleh produk PCR sebesar 868 pasang basa (pb), hasil sekuensing DNA didapatkan 528 nukleotida penyusun gen ND6, dan ditemukan satu situs nukleotida ke 387 yang dapat membedakan lumba-lumba hidung botol asal Laut Jawa dengan *T. aduncus* pembandingan. Filogram menggunakan metode *Neighbor joining* berdasarkan urutan nukleotida gen *ND6* meneguhkan lumba-lumba hidung botol asal Laut Jawa berada dalam kelompok *T. aduncus*.

Kata-kata kunci: lumba-lumba hidung botol, gen ND6, nukleotida, Laut Jawa

### ABSTRACT

Bottlenose dolphins (*Tursiops* sp.) is one of the aquatic mammals widely spread in the marines of Indonesia archipelago, especially the Java Sea. The taxonomy of the genus *Tursiops* is still controversial. The purpose of this study was to examine the molecular basis of *Tursiops* sp of Java sea marine origin on the basis of its NADH dehydrogenase gene subunit 6 (ND6) sequences. Samples of blood were collected from five male bottle nose dolphins from captivity of PT. Wersut Seguni Indonesia. DNA was isolated, amplified by polymerase chain reaction (PCR), sequenced, and analyzed the data using the MEGA v. 5.1 program. The results of PCR amplification was 868 base pairs (bp), DNA sequencing showed that 528 nucleotides were ND6 gene, nucleotide at the position of 387 could be used to distinguish the bottle nose dolphins Java marine origin with *T. aduncus*. Filogram using Neighbor joining method based on the nucleotide sequence of the gene ND6, showed that bottle nose dolphins Java marine origin belong to group of *T. aduncus*.

Key words: bottlenose dolphins, ND6 gene, nucleotide, Java Sea

### PENDAHULUAN

Lumba-lumba hidung botol (*Tursiops* sp.) atau *bottlenose dolphin* adalah hewan yang dilindungi. Di perairan Laut Jawa, lumba lumba hidung botol sering kali tersangkut jaring nelayan saat mencari ikan, dan kemudian diserahkan kepada organisasi perlindungan satwa. Salah satu organisasi perlindungan satwa lumba-lumba tersebut berlokasi di Pantai Cahaya, Kendal, Jawa Tengah. Kajian tentang

lumba-lumba yang berasal dari Laut Jawa sangatlah minim, sehingga sangat sulit ditemukan profil lumba-lumba dari perairan Laut Jawa tersebut.

Taksonomi genus *Tursiops* saat ini masih kontroversial. Pembagian menjadi beberapa spesies lumba-lumba di masa lalu digambarkan berdasarkan distribusi dan variasi karakter morfologinya. Saat ini diakui terdapat dua spesies dalam genus *Tursiops*, lumba-lumba hidung botol Samudera India atau Indo-Pasifik,

*T. aduncus* (Ehrenberg 1832) dan lumba-lumba hidung botol, *T. truncatus*, yang diakui sebagai spesies yang tersebar luas (Rice, 1998). Lumba-lumba hidung botol kebanyakan berasal dari Laut Pasifik dengan morfologi yang sangat besar, mempunyai panjang 3,7 m (12 kaki) dan bobot 454 kg (1.000 lb). Di Laut Tengah/Mediterranean, lumba-lumba tumbuh sampai 3,7 m (12 kaki) atau lebih (Klinowska, 1991), sedangkan lumba-lumba yang ada di penangkaran maksimal panjangnya hanya 2,2 m dengan bobot badan 100 kg, sehingga perlu diteliti lebih lanjut apakah lumba-lumba ini berbeda secara genetik dari lumba-lumba dari pasifik atau yang lainnya. Menurut Rudolph *et al.*, (1997), spesies lumba-lumba hidung botol di Indonesia tersebar di Laut Jawa, Pulau Panaitan, sebelah barat Jawa, Pulau Sissie, sebelah timur Laut Seram, lepas pantai Papua, Samudera Pasifik, Lamalera, Pulau Solor, Pulau Biak, timur laut Papua, Selat Ambon, Selat Malaka, Selat Singapura, Kepulauan Riau, sebelah timur Pulau Bangka dan Selat Sunda.

Menurut Widayanti *et al.*, (2013, *in press*), sekuen gen *NADH dehydrogenase* sub unit 6 (*ND6*) pada tingkat nukleotida dan asam amino dapat digunakan sebagai penanda genetik antara *Tarsiops spectrum*, *T. diana* dan *T. bancanus*. Diharapkan bahwa sekuen gen *ND6* juga dapat digunakan sebagai penanda genetik mamalia air khususnya genus *Tarsiops* sp. sehingga usaha konservasi dan manajemen mamalia air dapat tepat dan berhasil guna.

**METODE PENELITIAN**

**Koleksi Sampel**

Sampel darah lima ekor *Tarsiops* sp. *Tarsiops* asal Laut Jawa diperoleh dari PT. Wersut Seguni Indonesia, Semarang, Jawa Tengah.

**Isolasi DNA Total**

DNA total diekstraksi dari darah. Darah diambil dari pembuluh darah pada pangkal ekor, ditambah larutan *ethylene diamine*

*tetraacetic acid* (EDTA) 10% sebagai antikoagulan. Isolasi dan purifikasi DNA yang berasal dari sampel darah menggunakan DNA Isolation Kit (*Genaid*).

**Desain Primer**

Primer untuk gen *ND6* didisain berdasarkan data urutan *T. aduncus* (Kode akses GenBank: EU557092.1). Program primer 3 output ([http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3.cgi/results\\_from-primer3](http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3.cgi/results_from-primer3)) digunakan untuk menyeleksi primer-primer mana saja yang diestimasi memberikan kemungkinan hasil yang baik.

**Amplifikasi Gen *ND6* dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**

DNA total hasil ekstraksi digunakan sebagai DNA cetakan untuk proses amplifikasi. Amplifikasi DNA dengan PCR pada penelitian ini menggunakan mesin PCR (Infinigen). Amplifikasi gen *ND6* menggunakan sepasang primer yang telah didisain sendiri berdasar sekuen genom mitokondria *T. aduncus* (Kode akses *Genbank*: EU557092.1), seperti disajikan pada Tabel 1. Amplifikasi DNA dilakukan dengan kondisi sebagai berikut: denaturasi awal selama dua menit pada suhu 94°C selanjutnya diikuti dengan 94°C selama 30 detik untuk denaturasi, 57-58°C selama 45 detik untuk penempelan primer (*annealing*), 72°C selama satu menit untuk pemanjangan (*elongation*); amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus kemudian diakhiri lima menit pada 72°C.

Produk PCR dideteksi dengan cara dimigrasikan pada gel agarosa 1% dengan menggunakan buffer 1xTris Borate EDTA(TBE) dalam piranti *Submarine Electrophoresis* (Hoefer, USA). Pengamatan dilakukan dengan bantuan sinar Ultra violet (UV) (λ = 300nm) setelah gel diwarnai dengan *good view*. Penanda DNA dengan ukuran 100 pb digunakan sebagai penunjuk panjang basa nukleotida.

**Sekuensing DNA**

Produk PCR hasil amplifikasi dimurnikan dengan menggunakan *GFX Column purification*

Tabel 1. Urutan basa primer untuk mengamplifikasi gen *ND6 Tarsiops aduncus*

Target	F dan R	Urutan Basa	Tm(°C)	Produk PCR (pb)
<i>ND6</i>	TRUNND6F	5'CCATGGCTTATCCCTTTCAA 3'	59,89	868
	TRUNND6R	5' TGCAAACAGGGTGAAGATCA 3'	60,24	



Produk PCR gen *ND6* adalah sekitar 868pb. Hasil ini diperoleh setelah primer yang digunakan diplotkan dengan data genom mitokondria *T. aduncus* dan *T. truncatus* yang ada di *Genbank*, dengan kode akses berturut-turut *T. aduncus* EU557092.1 dan EU557093.1. Letak penempelan primer untuk amplifikasi gen *ND6* disajikan pada Gambar 2.

Produk PCR sebesar 868 pb, terletak pada gen *ND5* parsial (89 pb), gen *ND6* (528 pb), gen *tRNA<sup>Glu</sup>* (68 pb), *spacer* (4pb), dan gen *Cyt b* parsial (179 pb) (Xiong *et al.*, 2009). Sekuen DNA

hasil penelitian dan spesies mamalia air lain yang diambil dari *Genbank* disejajarkan berganda (*multiple alignment*), dan selanjutnya dilakukan analisis keragaman nukleotida. Hasil sekuensing sepanjang 868 nukleotida (nt) setelah disejajarkan dengan sekuen yang ada di *Genbank*, dipilih 528 nt yang merupakan sekuen penyusun gen *ND6* yang akan menyandi 175 asam amino. Hasil sekuensing gen *ND6* *Tursiops* sp. dan mamalia air lainnya disajikan pada Gambar 3.

Tursiops aduncus	ATG GCA ATA TAT ATT GTT TTT ATT ATG AGC ACT ATT TTT GTA ATT	[ 45]
Tursiops sp.1	... .. G..	[ 45]
Tursiops sp.2	... .. G..	[ 45]
Tursiops sp.3	... ..	[ 45]
Tursiops sp.4	... ..	[ 45]
Tursiops sp.5	... ..	[ 45]
Delphinus capensis	... ..	[ 45]
Delphinus delphis	... ..	[ 45]
Sousa chinensis	... .. T.	[ 45]
Stenella attenuata	... ..	[ 45]
Stenella coeruleoalba	... ..	[ 45]
Tursiops truncatus	... ..	[ 45]
Tursiops aduncus	ACT CTT GTT GGG GTT TCT TCG AAA CCT TCG CCG ATT TAT GGT GGT	[ 90]
Tursiops sp.1	... ..	[ 90]
Tursiops sp.2	... ..	[ 90]
Tursiops sp.3	... ..	[ 90]
Tursiops sp.4	... ..	[ 90]
Tursiops sp.5	... ..	[ 90]
Delphinus capensis	... ..	[ 90]
Delphinus delphis	... .. C	[ 90]
Sousa chinensis	... .. C	[ 90]
Stenella attenuata	... .. A	[ 90]
Stenella coeruleoalba	... .. A	[ 90]
Tursiops truncatus	... .. A C A	[ 90]
Tursiops aduncus	TTA GGG TTG ATT GTG GGT GGT GCT ATG GGA TGT GGA ATT GTT TTT	[135]
Tursiops sp.1	... ..	[135]
Tursiops sp.2	... ..	[135]
Tursiops sp.3	... ..	[135]
Tursiops sp.4	... ..	[135]
Tursiops sp.5	... ..	[135]
Delphinus capensis	... ..	[135]
Delphinus delphis	... ..	[135]
Sousa chinensis	... .. C	[135]
Stenella attenuata	... ..	[135]
Stenella coeruleoalba	... ..	[135]
Tursiops truncatus	... ..	[135]
Tursiops aduncus	AGT TTT GGG GGC TCA TTT TTA GGT TTA ATA GTA TTT TTA ATT TAT	[180]
Tursiops sp.1	... ..	[180]
Tursiops sp.2	... ..	[180]
Tursiops sp.3	... ..	[180]
Tursiops sp.4	... ..	[180]
Tursiops sp.5	... ..	[180]
Delphinus capensis	... ..	[180]
Delphinus delphis	... ..	[180]
Sousa chinensis	... .. G..	[180]
Stenella attenuata	... .. T	[180]
Stenella coeruleoalba	... ..	[180]
Tursiops truncatus	... .. C	[180]



ursiops aduncus	TTA GGA GGA ATG TTA GTT GTG TTT GGT TAC ACA ACG GCT ATG GCT	[225]
ursiops sp.1	...	[225]
ursiops sp.2	...	[225]
ursiops sp.3	...G...	[225]
ursiops sp.4	...G...	[225]
ursiops sp.5	...G...	[225]
delphinus capensis	...A...	[225]
delphinus delphis	...G..A...	[225]
sousa chinensis	...G..A..G...C...T...	[225]
stenella attenuata	...G..A...	[225]
stenella coeruleoalba	...A...A...T...A...	[225]
ursiops truncatus	...G..A...	[225]
ursiops aduncus	ACT GAA CAG TAT CCC GAG GTT TGG GTT TCT AAT AAA GTT GTA CTT	[270]
ursiops sp.1	...	[270]
ursiops sp.2	...	[270]
ursiops sp.3	...	[270]
ursiops sp.4	...	[270]
ursiops sp.5	...	[270]
Delphinus capensis	...T...	[270]
Delphinus delphis	...G...T...	[270]
Sousa chinensis	...T...	[270]
Stenella attenuata	...T...	[270]
Stenella coeruleoalba	...T...G...	[270]
Tursiops truncatus	...T...	[270]
Tursiops aduncus	GGG GGA TTT GTT TTG GGT CTA GTG TTA GAG TTA TTA GTG GTA TTG	[315]
Tursiops sp.1	...T...T...T...T...T...	[315]
Tursiops sp.2	...T...T...T...T...T...	[315]
Tursiops sp.3	...T...T...T...T...T...	[315]
Tursiops sp.4	...T...T...T...T...T...	[315]
Tursiops sp.5	...T...T...T...T...T...	[315]
Delphinus capensis	...T...G...A...	[315]
Delphinus delphis	...T...G...A...	[315]
Sousa chinensis	...T...C...A...	[315]
Stenella attenuata	...T...A...A...	[315]
Stenella coeruleoalba	...T...A...G...	[315]
Tursiops truncatus	...T.G...G...	[315]
Tursiops aduncus	TAT GTT TTG GAG GGT GGA AAA GTG AAT ATT GTA TTT GAG TTT AAT	[360]
Tursiops sp.1	...	[360]
Tursiops sp.2	...	[360]
Tursiops sp.3	...	[360]
Tursiops sp.4	...	[360]
Tursiops sp.5	...	[360]
Delphinus capensis	...A...T...	[360]
Delphinus delphis	...A...T...	[360]
Sousa chinensis	...A...T...G...	[360]
Stenella attenuata	...A...G...G...	[360]
Stenella coeruleoalba	...A...A...	[360]
Tursiops truncatus	...A...A...	[360]
Tursiops aduncus	GGG TTG GGG GAT TGA GTT ATT TAT GAT ACA GGG GAC TCT GGA TTT	[405]
Tursiops sp.1	...C...C...C...C...C...	[405]
Tursiops sp.2	...C...C...C...C...C...	[405]
Tursiops sp.3	...C...C...C...C...C...	[405]
Tursiops sp.4	...C...C...C...C...C...	[405]
Tursiops sp.5	...C...C...C...C...C...	[405]
Delphinus capensis	...T...	[405]
Delphinus delphis	...T...	[405]
Sousa chinensis	...T...G...	[405]
Stenella attenuata	...A...T...	[405]
Stenella coeruleoalba	...A...A...	[405]
Tursiops truncatus	...C...G...	[405]
Tursiops aduncus	TTT AGT GAG GAG GCT ATG GGG ATT GCT GCG TTG TAC AGT TAT GGT	[450]
Tursiops sp.1	...A...	[450]
Tursiops sp.2	...A...	[450]
Tursiops sp.3	...A...	[450]
Tursiops sp.4	...A...	[450]
Tursiops sp.5	...A...	[450]
Delphinus capensis	...A...T...	[450]
Delphinus delphis	...A...T...	[450]
Sousa chinensis	...A...T...	[450]
Stenella attenuata	...A...T...	[450]

Stenella attenuata	... ..A	... ..T	[450]		
Stenella coeruleoalba	... ..T	[450]			
Tursiops truncatus	... ..A	... ..A	... ..T	[450]	
Tursiops aduncus	ACT TGA TTG GTT ATT GTT ACT GGG TGA TCT CTG TTT ATT GGT GTA	[495]			
Tursiops sp.1	[495]				
Tursiops sp.2	[495]				
Tursiops sp.3	[495]				
Tursiops sp.4	[495]				
Tursiops sp.5	[495]				
Delphinus capensis	... ..T	[495]			
Delphinus delphis	... ..T	[495]			
Sousa chinensis	... ..T	[495]			
Stenella attenuata	... ..A	... ..A	[495]		
Stenella coeruleoalba	...C	...G	...C	T	[495]
Tursiops truncatus	... ..A	... ..G	... ..T	[495]	
Tursiops aduncus	GTG GTT ATC ATG GAG ATT ACT CGG GGT AAT TAA	[528]			
Tursiops sp.1	[528]				
Tursiops sp.2	[528]				
Tursiops sp.3	[528]				
Tursiops sp.4	[528]				
Tursiops sp.5	[528]				
Delphinus capensis	... ..T	[528]			
Delphinus delphis	... ..T	[528]			
Sousa chinensis	... ..C	[528]			
Stenella attenuata	... ..T	[528]			
Stenella coeruleoalba	... ..T	[528]			
Tursiops truncatus	... ..T	[528]			

Gambar 3. Sekuen gen ND6 *Tursiops* sp. penelitian (528 nt) dengan mamalia air pembeding(Genbank)

Pada Gambar 3 disajikan bahwa ke lima sampel setelah di-*multiple alignment* dengan semua spesies pembeding semua nukleotida penyusun gen *ND6* semua masih berjumlah 528 nt. hasil ini menunjukkan bahwa kejadian mutasi yang terjadi adalah hanya berupa

substitusi, sedangkan mutasi berupa insersi dan delesi tidak ditemukan. Matriks perbedaan nukleotida dari ke lima sampel *Tursiops* sp. dengan mamalia air pembeding (*Genbank*) disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Matriks perbedaan nukleotida gen *ND6* (528 nt) *Tursiops* sp. dengan spesies mamalia air pembeding (*Genbank*)

No. Nama	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 <i>T. aduncus</i>												
2 <i>Tursiops sp. 1</i>	4											
3 <i>Tursiops sp. 2</i>	4	0										
4 <i>Tursiops sp. 3</i>	4	2	2									
5 <i>Tursiops sp. 4</i>	4	2	2	0								
6 <i>Tursiops sp. 5</i>	4	2	2	0	0							
7 <i>Delphinus capensis</i>	12	12	12	12	12	12						
8 <i>Delphinus delphis</i>	14	14	14	12	12	12	4					
9 <i>Sousa chinensis</i>	19	19	19	17	17	17	15	17				
10 <i>Stenella attenuata</i>	18	18	18	16	16	16	14	16	20			
11 <i>Stenella coeruleoalba</i>	18	20	20	20	20	20	16	18	21	22		
12 <i>Tursiops truncatus</i>	21	21	21	19	19	19	17	17	23	19	21	

Pada Tabel 2, disajikan perbedaan nukleotida yang paling kecil adalah perbedaan yang terjadi di antara ke lima sampel penelitian, yaitu sebesar nol (0), yaitu antara *Tursiops* sp. 3, 4 dan 5, dan di antara *Tursiops* sp. 1 dan 2. Hasil ini menunjukkan bahwa *Tursiops* sp.1 dan 2 memiliki tetua yang sama, demikian juga untuk *Tursiops* sp. 3,4, dan 5 juga memiliki tetua yang sama. Perbedaan *Tursiops* sp. 1,2 terhadap *Tursiops* sp. 3, 4 dan 5 adalah sebesar dua nukleotida. Hal ini kemungkinan *Tursiops* sp.1,2 berasal dari tetua yang berbeda dengan *Tursiops* sp. 3,4 dan 5. Besarnya perbedaan *Tursiops* sp. 1, 2, 3, 4, dan 5 terhadap *T. aduncus* (*Genbank*) adalah empat nukleotida, sedangkan perbedaan terhadap *T. truncatus* adalah antara 19-21 nukleotida. Hal ini menunjukkan bahwa *Tursiops* sp. pada penelitian ini lebih besar kemiripannya dengan *T. aduncus*. Dari empat nukleotida yang berbeda antara *T. aduncus* dan *Tursiops* sp. penelitian, ada satu nukleotida yaitu pada situs ke 387 yang dapat membedakan antara *Tursiops* sp. asal laut Jawa (sitosin) dengan *T. aduncus* (timin) (*Genbank*). Perbedaan ini kemungkinan karena asal dari kedua *T. aduncus* yang sangat berbeda, sehingga kemungkinan adanya variasi dari DNAny.

Jarak genetik *Tursiops* sp. penelitian dan mamalia air pembanding berdasar metode Kimura 2 parameter (Kumar *et al.*, 2008) (disajikan pada Tabel 3).

Pada Tabel 3 disajikan seperti pada Tabel 2, bahwa jarak genetik paling kecil adalah jarak genetik di antara *Tursiops* sp. penelitian (0% dan 0,4%), dan apabila dibandingkan dengan spesies pembanding paling dekat adalah

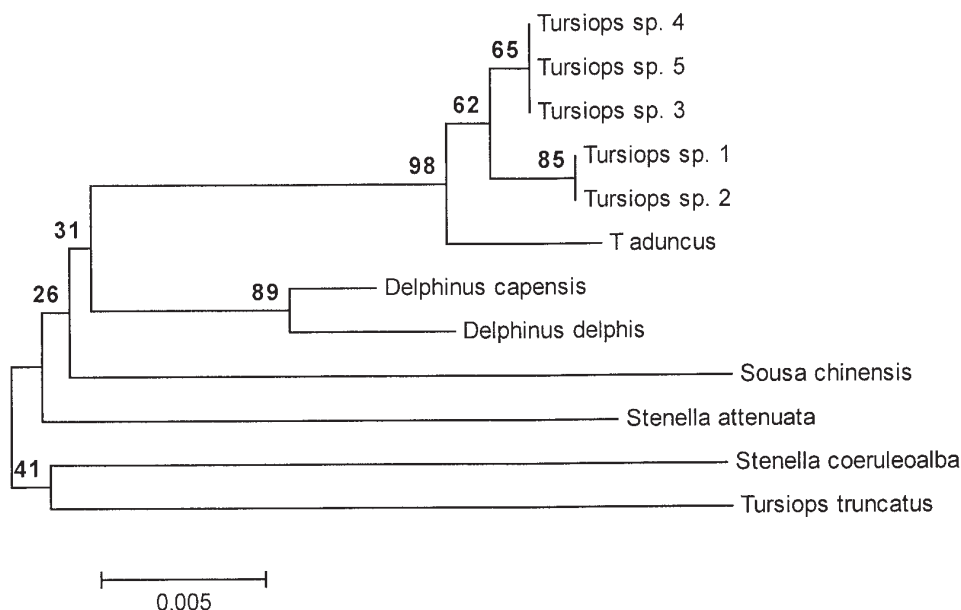
terhadap *T. aduncus*(0,8%). Selanjutnya berturut-turut jarak genetik antara *Tursiops* sp. penelitian terhadap spesies pembanding adalah 2,3% (*D. capensis*); 2,3% dan 2,7% (*D. delphis*); 3,3% dan 3,7% (*S. chinensis*); 3,1% dan 3,5% (*S. attenuata*); 3,7% dan 4,1% (*T. truncatus*), serta 3,9% (*S. coeruleoalba*). Hal ini menunjukkan bahwa kekerabatan yang paling dekat dengan *Tursiops* sp. pada penelitian ini adalah dengan *T. aduncus*.

Jarak genetik antar *Tursiops* sp. terhadap spesies mamalia pembanding selanjutnya divisualisasikan dalam bentuk filogram menggunakan metode *Neighbor joining* dengan *bootstrap* 1000 kali (Gambar 4).

Pada Gambar 4, disajikan *Tursiops* sp. pada penelitian ini berada dalam kelompok yang sama dengan *T.aduncus*, hal ini ditunjukkan dengan jarak genetik yang sangat kecil (0,8%). Namun, dari ke lima *Tursiops* asal laut Jawa nampak membentuk subcabang dengan *T. aduncus* (*Genbank*) dengan nilai *bootstrap* 98%. Selanjutnya terlihat bahwa kelompok *T. aduncus* paling dekat adalah dengan *Delpinus spp.*, dan selanjutnya terhadap *S. chinensis*, *S. attenuata*, *T. truncatus*, dan *S. coeruleoalba*. Hasil dari filogram ini sama seperti dengan jarak genetik spesies tersebut yang disajikan pada Tabel 3. Filogram yang dihasilkan pada penelitian ini juga sama dengan filogram menggunakan sekuen nukleotida gen sitokrom oksidase subunit II (COII) (Widayanti *et al.*, 2013, *un publish*), serta hasil penelitian Duchene *et al.*, (2011), Cunha *et al.*, (2011), dan Xiong *et al.*, (2009), yaitu bahwa *T. aduncus* berkerabat paling dekat dengan *D. capensis*, dan selanjutnya berturut-turut terhadap *S.*

Tabel 3. Jarak genetik *Tursiops* sp. dengan spesies mamalia air pembanding berdasar sekuen gen *ND6* (528 nt) menggunakan metode Kimura 2 parameter.

No. Nama	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1 <i>T. aduncus</i>											
2 <i>Tursiops</i> sp. 1	0.008										
3 <i>Tursiops</i> sp. 2	0.008	0.000									
4 <i>Tursiops</i> sp. 3	0.008	0.004	0.004								
5 <i>Tursiops</i> sp. 4	0.008	0.004	0.004	0.000							
6 <i>Tursiops</i> sp. 5	0.008	0.004	0.004	0.000	0.000						
7 <i>D. capensis</i>	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023	0.023					
8 <i>D. delphis</i>	0.027	0.027	0.027	0.023	0.023	0.023	0.008				
9 <i>S. chinensis</i>	0.037	0.037	0.037	0.033	0.033	0.033	0.029	0.033			
10 <i>S. attenuata</i>	0.035	0.035	0.035	0.031	0.031	0.031	0.027	0.031	0.039		
11 <i>S. coeruleoalba</i>	0.035	0.039	0.039	0.039	0.039	0.039	0.031	0.035	0.041	0.044	
12 <i>T. truncatus</i>	0.041	0.041	0.041	0.037	0.037	0.037	0.033	0.033	0.045	0.037	0.041



Gambar 4. Filogram berdasar sekuen nukleotida gen *ND6* (528 nt) *Tursiops* sp. dan spesies mamalia air pembanding (Genbank) menggunakan metode *Neighbor joining* dengan *bootstrap* 1000 kali.

*chinensis*, *S. attenuata*, *T. truncatus*, dan *S. coeruleoalba*.

### SIMPULAN

Lumba-lumba hidung botol asal Laut Jawa berdasar sekuen gen *ND6* termasuk dalam kelompok spesies *T. aduncus*. Lumba-lumba *T. aduncus* berkerabat paling dekat dengan *D. capensis*, dan selanjutnya berturut-turut terhadap *S. chinensis*, *S. attenuata*, *T. truncatus*, dan *S. coeruleoalba*.

### SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut dengan menggunakan sampel lumba-lumba hidung botol di habitat lainnya untuk mengetahui spesies dan hubungan kekerabatannya.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Madayang telah memberi dukungan dana, dan kepada PT. Wersut Seguni Indonesia, Kendal, Jawa Tengah yang telah memberikan sampel darahlumba-lumba hidung botol untuk penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Cunha HA, Moraes LC, Medeiros BV, Lailson-Brito J Jr, da Silva VMF. 2011. Phylogenetic status and timescale for the diversification of *Steno* and *Sotalia* dolphins. *Plos ONE* 6 (12): e28297. doi:10.1371/journal.pone.0028297
- Duchene S, Archer FI, Vilstrup J, Caballero S, Morin PA. 2011. Mitogenom Phylogenetics: The impact of using single regions and partitioning schemes on topology, substitution rate and divergence time estimation. *Plos ONE* 6 (11):e27138. Doi:10.1371/journal.pone.0027138
- Klinowska M. 1991. *Dolphins, Porpoises and Whales of the World: The IUCN Red Data Book*.
- IUCN - The World Conservation Union, Gland, Switzerland.
- Kumar S, Nei M, Dudley J, Tamura K. 2008. MEGA5: a biologistcentric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Brief Bioinform.* 9:299–306.
- Rice D. 1998. *Marine Mammals of the World: Systematics and Distribution*. San Francisco, CA: Society for Marine Mammalogy.
- Rudolph P, Smeenk C, Leatherwood S. 1997. Preliminary checklist of Cetacea in the Indonesian archipelago and adjacent waters.



- Zoologische Verhandelingen Leiden* 312:1–48.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 24,1596–1599.
- Thompson J.D, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, Position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acid Res* 22: 4673-4680.
- Widayanti R, FibriantoYH, Wendo WR. 2013. Kajian molekuler lumba-lumba hidung botol (*Tursiops* sp.) asal laut Jawa berdasar sekuen gen *Cytochrome Oxidase subunit II* (COII) (tidak dipublikasikan).
- Widayanti R, Susmiati T, Artama WT. 2013. Kajian keragaman gen *ND6* pada Tarsius endemis Indonesia (*in press*).
- XiongY, Brandley MC, Xu S, ZhouK, YangG. 2009. Seven new dolphin mitochondrial genomes and a time-calibrated phylogeny of whales. *BMC Evol. Biol.* 9 (20). <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/9/20>.