

Keragaman Genetik Telur Penyu Gagal Tetas di Penangkaran Buleleng, Bali Indonesia Berdasarkan Locus *Control region*

Genetic Diversity of Unhatched Sea Turtle Eggs in Buleleng, Bali Indonesia Hatchery Based on The Mitochondrial *Control region* Locus

Immanuel Pratama^{1*}, Ni Putu Dian Pertiwi^{1,2}, I Made Oka Riawan¹, Ni Luh Astria Yusmalinda², Adrianus Sembiring^{2**}, Luh Putu Candra Apriliani², Ni Komang Rossa Sri Savitri², Ketut Srie Marhaeni Julyasih¹, Moh Jafron Syah¹, Rita Rachmawati³

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja, Bali, Indonesia.

²Yayasan Biodiversitas Indonesia (BIONESIA), Denpasar, Bali, Indonesia

³Pusat Riset Konservasi Sumber Daya Laut dan Perairan Darat, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Jawa Barat, Indonesia

Article Info

Received: 2025-08-05

Revised: 2025-09-01

Accepted: 2025-09-03

Online: 2025-09-29

*Koresponding: Immanuel Pratama, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja, Bali, Indonesia

E-mail:
immanuel@undiksha.ac.id

**Koresponding: Adrianus Sembiring, Yayasan Biodiversitas Indonesia (BIONESIA), Denpasar, Bali, Indonesia

E-mail:
andsembiring@gmail.com

Abstrak

Penyu merupakan satwa dilindungi yang terancam punah akibat faktor alami dan *antropogenik* seperti erosi pantai dan perdagangan ilegal. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keanekaragaman genetik penyu di Buleleng dengan DNA mitokondria dari sampel telur gagal tetas. Sampel diambil dari dua sarang di beberapa lokasi penangkaran untuk mengetahui variasi genetik di satu area konservasi. Analisis molekuler dilakukan pada lokus *control region* dengan panjang sekuen 869 bp. Hasil identifikasi menunjukkan terdapat tiga spesies penyu yang ditemukan, yaitu: penyu hijau (*Chelonia mydas*), penyu lekang (*Lepidochelys olivacea*), dan penyu sisik (*Eretmochelys imbricata*), dengan kemiripan sekuen 99,44%–99,77%. Pohon filogenetik membentuk empat *clade* dengan nilai bootstrap 79–100%, mendukung klasifikasi dan hubungan kekerabatan antar spesies. Analisis jarak genetik intraspesifik yang rendah (0–0,2%) dan jarak genetik interspesifik (16,4–21,4%) mengindikasikan kemiripan tinggi dalam satu spesies dan perbedaan signifikan antar spesies. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk memperkuat program konservasi penyu berbasis genetika yang efektif di wilayah Buleleng, Bali Utara.

Kata kunci: *control region*, DNA barcoding, keragaman genetik, penyu

Abstract

Sea turtles are protected animals that are threatened with extinction due to natural and anthropogenic factors such as coastal erosion and illegal trade. This study aims to analyze the genetic diversity of sea turtles in Buleleng using mitochondrial DNA from unhatched egg samples. Samples were collected from two nests at several breeding sites to determine genetic variation within a single conservation area. Molecular analysis was conducted on the control region locus with a sequence length of 869 bp. The results of the identification showed that the samples originated from three species: green sea turtles (*Chelonia mydas*), olive ridley sea turtles (*Lepidochelys olivacea*), and hawksbill sea turtles (*Eretmochelys imbricata*), with sequence similarities of 99.44%–99.77%. The phylogenetic tree formed four clades with bootstrap values of 79–100%, supporting the classification and kinship relationships between species. Low intraspecific genetic distance (0–0.2%) and interspecific genetic distance (16.4–21.4%) indicate high similarity within a species and significant differences between species. The results of this study can be used to strengthen effective genetics-based sea turtle conservation programs in the Buleleng region of North Bali.

Keywords: control region, DNA barcoding, Genetic diversity, sea turtle

1. Pendahuluan

Penyu merupakan reptil yang bermigrasi hingga 16.000 km melintasi kawasan Samudera Hindia, Samudera Pasifik dan Asia tenggara untuk kawin, mencari makan dan menemukan lokasi bertelur (*breeding ground*) (Akira et al., 2012; Airaud et al., 2024). Penyu berperan penting dalam menjaga keseimbangan ekosistem pesisir dan juga sebagai indikator penting dalam pemantauan lingkungan laut (Kurniarum et al., 2015). Enam dari tujuh spesies penyu yang ada di dunia ditemukan di Indonesia, yaitu penyu hijau (*C. mydas*), penyu lekang (*L. olivacea*), penyu tempayan (*C. caretta*), penyu belimbang (*D. coriacea*), penyu pipih (*N. depressus*), dan penyu sisik (*E. imbricata*) yang semuanya tergolong ke dalam spesies yang terancam punah dan masuk dalam *red list* IUCN (Widaysari et al., 2023).

Penurunan populasi penyu disebabkan oleh faktor alami seperti erosi pantai, perubahan iklim, dan faktor ancaman manusia (*anthropogenik*) seperti degradasi habitat, serta perdagangan ilegal (Pertiwi et al., 2022; Yusup et al., 2024). Pemerintah Indonesia telah melakukan berbagai upaya konservasi termasuk membuat Peraturan Pemerintah (PP) (No. 7/1999 dan No. 526/MEN-KP/VII/2015) tentang perlindungan terhadap enam spesies penyu. Konservasi penyu tersebar diseluruh Indonesia termasuk di kabupaten Buleleng, Bali. Berbagai

upaya konservasi telah dilakukan seperti pemindahan telur penyu dari sarang alami ke penangkaran semi-alami dan pelepasan tukik ke laut. Namun, kendala dalam identifikasi spesies dan keberhasilan konservasi masih ada, terutama di kawasan penangkaran Buleleng, di mana telur penyu berasal dari berbagai lokasi sehingga sulit diidentifikasi secara morfologis.

Informasi mengenai spesies penyu di penangkaran Buleleng untuk saat ini belum diketahui, sehingga analisis DNA barcoding berdasarkan lokus *control region* perlu dilakukan karena dapat digunakan sebagai bahan evaluasi keberhasilan program konservasi dan memastikan keberlanjutan populasi penyu (Jensen et al., 2018). Telur penyu gagal tetas dapat digunakan sebagai sampel untuk identifikasi spesies, selama telur tersebut tidak dalam keadaan busuk akibat serangan bakteri dan jamur yang dapat mendegradasi DNA (Fredricks et al., 2005; Hays et al., 2025). Mengetahui tingkat keragaman genetik juga penting untuk mengetahui perubahan suatu populasi di alam, karena semakin tinggi tingkat keragaman genetik suatu populasi maka semakin baik juga beradaptasi dalam menghadapi perubahan yang terjadi di lingkungannya (Ketchum et al., 2016).

Aplikasi DNA barcoding berdasarkan lokus *control region* telah berhasil dilakukan seperti pada penelitian Bahri et al. (2022) untuk identifikasi spesies dan keanekaragaman genetik

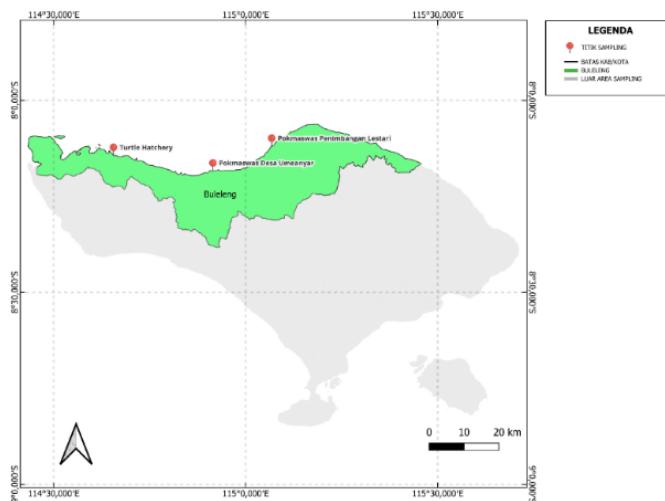
pada penyu lekang (*L. olivacea*) di Samudra Hindia dan perairan tengah Indonesia pada sampel indukan penyu, dan dilakukan Pertiwi *et al.* (2020) di perairan Bali bagian selatan pada makanan olahan berbasis penyu dan indukan penyu. Saat ini belum ada penelitian yang secara spesifik mengkaji mengenai identifikasi spesies dan keragaman genetik menggunakan metode DNA barcoding di kawasan Buleleng khususnya pada telur penyu.

2. Material dan Metode

Material

Sampel telur penyu gagal tetas dikoleksi dari tiga lokasi penangkaran yang ada di Buleleng yaitu Penangkaran *Turtle Hatchery*, Gerokgak ($8^{\circ}08'37"S$

$114^{\circ}39'20"E$), dengan kode sampel BIO07.009.003 dan BIO07.009.022; Pokmaswas Desa Umeanyar, Seririt ($8^{\circ}11'04"S$ $114^{\circ}54'53"E$) dengan kode sampel BIO07.009.015 dan BIO07.009.016; Pokmaswas Penimbangan Lestari, Singaraja ($8^{\circ}07'11"S$ $115^{\circ}04'04"E$) dengan kode sampel BIO07.009.005 dan BIO07.009.029 (Gambar 1). Pengumpulan sampel dilakukan dari April 2024 – Agustus 2024 dengan total sampel enam telur penyu gagal tetas. Setiap penangkaran penyu diambil dua telur yang berasal dari sarang yang berbeda. Uji molekuler dilakukan di Laboratorium Yayasan Biodiversitas Indonesia (BIONESIA), Denpasar Bali.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel di penangkaran *turtle hatchery*, Gerokgak; Pokmaswas Desa Umeanyar, Seririt; Pokmaswas Penimbangan Lestari, Singaraja.

Ekstraksi DNA

Isolasi DNA dilakukan menggunakan metode *Genomic DNA Mini Kit Tissue* (GENEAIID) sesuai penelitian (Shamblin *et al.*, 2011). Bagian kuning telur (*yolk*) diambil sebanyak ± 30 mg dan dimasukkan ke dalam tabung *microcentrifuge* 1,5 ml. GT buffer 200 μ l dan 20 μ l *proteinase-K* ditambahkan ke dalam *tube*, kemudian dihomogenisasi dengan *vortex* lalu diinkubasi selama 30 menit. Selanjutnya, GBT Buffer 200 μ l dimasukkan dan dihomogenisasi dengan menggunakan *vortex* lalu diinkubasi kembali selama 20 menit. Cairan disentrifuse dengan kecepatan 14.000-

16.000 rpm selama 2 menit. Etanol absolut 200 μ l ditambahkan ke dalam tabung mikro, kemudian kolom GS dimasukkan ke dalam tabung penampung 2 ml. Campuran dimasukkan ke dalam kolom GS dan disentrifuge kecepatan 14.000-16.000 rpm selama 2 menit. Cairan *flow-through* dibuang dari tabung penampung dan kolom GS dimasukkan lagi ke dalam kolom GS. Campuran dimasukkan 400 μ l buffer W1 kemudian disentrifugasi 15.000 rpm selama 30 detik. Cairan dimasukkan 600 μ l *wash buffer* dan disentrifugasi 15.000 rpm selama 30 detik, lalu sentrifugasi kembali selama 3 menit dengan kecepatan yang sama. Kolom GS dipindahkan ke dalam

tabung mikro baru, lalu 50 μ l *elution buffer* ditambahkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit, dan kemudian disentrifugasi selama 3 menit.

Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi sampel telur penyu gagal tetas dilakukan menggunakan *primer forward* LCM-15382 (5'-GCTTAACCCTAAAGCATTGG-3') dan *primer reverse* H950 (5'-GTCTCGGATTTAGG-GTTG-3') (Abreu-Grobois *et al.*, 2006). Amplifikasi dilakukan dengan campuran reagen dengan volume 25 μ l yang terdiri dari 40 μ l ddH₂O; 5 μ l primer 1; 5 μ l primer 2; 50 μ l ready mix dan 2 μ l sampel DNA. Seluruh reagen kemudian dicampurkan dalam sebuah *tube* dan dimasukkan ke dalam mesin *Thermal Cycler* dengan siklus *pra denaturation* pada suhu 94°C selama 3 menit *denaturation* pada suhu 94°C selama 45 detik; *annealing* pada suhu 55°C selama 30 detik; *extention* pada 72°C selama 1 menit dan *finally extention* pada 72°C selama 2 menit dengan siklus sebanyak 38 siklus (Barber *et al.*, 2006).

Elektroforesis

Pengamatan hasil PCR menggunakan elektroforesis gel agarose 1% dengan melarutkan 0,2 gr agarosa ke dalam 20 ml buffer SB (*sodium borate*). *Running* elektroforesis dilakukan dengan

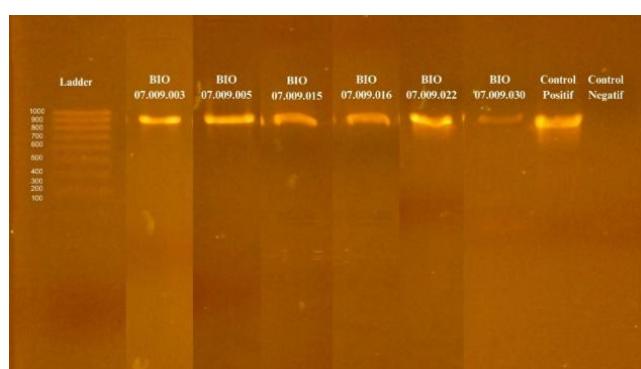
memasukkan 2 μ l biotium, 1 μ l loading dye, 2 μ l PCR product, dan *hyper ladder* pada tegangan 140 Volt, 200 Ampere selama 35 menit. Produk PCR yang berhasil diamplifikasi selanjutnya dilanjutkan ke tahap sekuening.

Analisis Data

Sekuen yang diperoleh dilakukan penjajaran (*alignment*) pada data sekuen menggunakan *software* MEGA 11 (Tamura *et al.*, 2021) lalu data sekuen dikonsensus (*consensus sequence*) kemudian dibandingkan dengan *database* Genbank dengan metode BLAST (*Basic Local Aligment Search Tool*). Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode *Neighbor Joining* dan *Maximum Likelihood* model Kimura 2 - Parameter dengan *bootstrap* 1000. Analisis keanekaragaman genetik dilakukan dengan menggunakan *software* DnaSP v.6 (Rozas *et al.*, 2017) dengan memperhatikan beberapa parameter seperti keragaman haplotip (*Hd*), jumlah haplotip (*Nhp*) dan keragaman nukleotida (π).

3. Hasil dan Pembahasan

Keberhasilan amplifikasi enam sampel ditunjukan dengan munculnya pita DNA (*band*). Berdasarkan hasil sekuening diperoleh panjang urutan DNA 869 bp.



Gambar 2. Hasil amplifikasi lokus control region sampel telur penyu gagal tetas dengan gel agarose 1% dan perbandingan dengan marker DNA.

Identifikasi spesies dilakukan menggunakan BLAST dengan membandingkan sekuen DNA sampel terhadap *database* Genbank (Tabel 1) dan

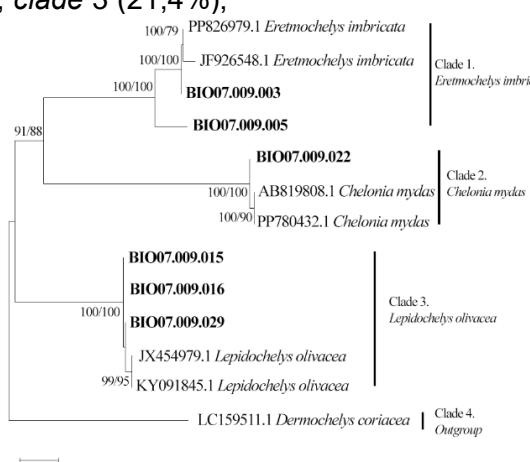
didukung oleh analisis pohon filogenetik (Gambar 2). Hasil pohon filogenetik menunjukkan sampel yang berasal dari penangkaran Turtle Hatchery, Gerokgak

(BIO07.009.003 dan (BIO07.009.022) teridentifikasi sebagai penyu sisik (*E. imbricata*) dan penyu hijau (*C. mydas*). Sementara itu, dua sampel yang berasal dari Pokmaswas Penimbangan Lestari, Singaraja teridentifikasi sebagai penyu lekang (*L. olivacea*) (untuk kode BIO07.009.015 dan BIO07.009.016). Pada Pokmaswas Desa Umeanyar, Seririt, ditemukan sampel penyu lekang (*Lepidochelys olivacea*) dengan ID BIO07.009.029. serta penyu sisik (*E. imbricata*) dengan ID BIO07.009.005. Hasil identifikasi spesies sesuai juga dengan penelitian yang dilakukan Pertiwi *et al.* (2020) bahwa *C. mydas*, *L. olivacea* dan *E. imbricata* merupakan tiga dari enam spesies yang ditemukan di perairan Indonesia.

Konstruksi pohon filogenetik didukung oleh hasil analisis jarak genetik. Nilai jarak genetik intraspesifik (jarak antar individu dalam 1 *clade*) memiliki nilai yang rendah yaitu pada *E. imbricata* yaitu 0,02 (0,2%), *C. mydas* yaitu 0,00 dan pada *L. olivacea* 0,01 (0,1%), yang berarti bahwa setiap sampel dalam 1 *clade* memiliki similaritas yang tinggi. *Clade* adalah kelompok organisme yang berasal dari satu nenek moyang yang sama yang berfungsi untuk membantu mengetahui hubungan kekerabatan suatu spesies berdasarkan data genetik (Yang *et al.*, 2015). Sedangkan nilai jarak genetik interspesifik (jarak antar *clade*) memiliki nilai yang tinggi antara *clade* 1 dengan *outgroup* masing-masing yaitu *clade* 1 (18,5%), *clade* 2 (16,4%), *clade* 3 (21,4%),

hasil ini juga ditemukan pada penelitian Madduppa *et al.* (2021) yang mendapatkan hasil jarak genetik interspesifik sekitar 11,9% pada penyu lekang (*L. olivacea*) yang ditemukan di serangan, Bali. Nilai jarak genetik interspesifik yang tinggi menunjukkan perbedaan genetik yang signifikan antar *clade* dan menandakan bahwa setiap *clade* merepresentasikan spesies yang berbeda.

Persentase komposisi nukleotida menunjukkan hasil bahwa seluruh sampel menunjukkan variasi genetik yang dapat dilihat dari komposisi nukleotida pada setiap spesies. Pada penyu sisik (*E. imbricata*) komposisi nukleotida A+T yang mirip sekitar 65% dan G+C sekitar 34% yang menandakan kedua sampel tersebut memiliki komposisi genetik yang mirip, penyu lekang (*L. olivacea*) dengan kode BIO07.009.015, BIO07.009.016 dan BIO07.009.029 menunjukkan hasil bahwa komposisi nukleotida pada BIO07.009.015 dengan BIO07.009.016 memiliki komposisi nukleotida yang lebih mirip jika dibandingkan dengan BIO07.009.029. Komposisi nukleotida pada penyu hijau (*C. mydas*) dengan kode BIO07.009.022 memiliki Timin (T) yang lebih rendah dibandingkan dengan penyu sisik (*E. imbricata*) dan penyu lekang (*L. olivacea*) sekitar 30,23%, persentase kandungan G+C yang rendah mempermudah dalam tahapan amplifikasi karena G+C dapat mempengaruhi kestabilan heliks DNA dan tingkat mutasi yang terjadi.



Gambar 3. Pohon filogenetik sampel telur penyu gagal tetas dengan metode Neighbor Joining dan Maximum Likelihood (NJ/ML), model Kimura 2-parameter, dengan Bootstrap 1000 pengulangan.

Tabel 1. Hasil identifikasi menggunakan BLAST pada lokus control region

Lokasi	ID Sampel	Panjang sekuens (bp)	Nama Spesies	Query cover (%)	identity (%)	Accession Number
Penangkaran Turtle Hatchery, Gerogak	BIO07.009.003	904	<i>E. imbricata</i>	99	99.77	PP826979.1
	BIO07.009.022	914	<i>C. mydas</i>	97	99.77	PP780432.1
Pokmaswas Penimbangan Lestari, Singaraja	BIO07.009.015	912	<i>L. olivacea</i>	98	99.66	JX454987.1
	BIO07.009.016	920	<i>L. olivacea</i>	100	99.44	JX454987.1
Pokmaswas Desa Umeanyar, Seririt	BIO07.009.005	902	<i>E. imbricata</i>	100	99.66	JX454980.1
	BIO07.009.029	916	<i>L. olivacea</i>	99	99.77	JX454987.1

Tabel 2. Jarak genetik lokus control region pada sampel

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. BIO07.009.003												
2. BIO07.009.005	0.029											
3. BIO07.009.015	0.126	0.131										
4. BIO07.009.016	0.128	0.134	0.000									
5. BIO07.009.022	0.160	0.154	0.151	0.153								
6. BIO07.009.029	0.132	0.137	0.001	0.001	0.156							
7. PP826979.1 <i>E.im</i>	0.001	0.030	0.126	0.126	0.160	0.127						
8. JF926548.1 <i>E.im</i>	0.007	0.036	0.132	0.132	0.166	0.139	0.005					
9. PP780432.1 <i>C.myd</i>	0.160	0.157	0.157	0.157	0.001	0.158	0.160	0.166				
10. AB819808.1 <i>C.myd</i>	0.160	0.157	0.157	0.157	0.001	0.158	0.160	0.166	0.000			
11. KY091845.1 <i>L.oliv</i>	0.134	0.139	0.002	0.024	0.157	0.001	0.136	0.134	0.159	0.164		
12. JX454979.1 <i>L.oliv</i>	0.130	0.134	0.001	0.001	0.153	0.000	0.137	0.130	0.154	0.155	0.001	
13. LC159511.1 <i>D.cori</i>	0.184	0.180	0.171	0.170	0.211	0.172	0.195	0.192	0.212	0.213	0.180	0.174

Tabel 3. Jarak genetik interspesifik (jarak antar clade)

Clade	1	2	3	4
1				
2	0.131			
3	0.161	0.158		
4	0.185	0.164	0.214	

Tabel 4. Komposisi nukleotida (dalam %) telur penyu gagal tetas

Lokasi	ID Sampel	T(U)	C	A	G	A+T	G+C
Penangkaran Turtle Hatchery, Gerogak	BIO07.009.003	32,31	20,83	33,33	13,51	65,64	34,34
	BIO07.009.022	30,23	20,35	34,26	13,32	64,49	33,67
Pokmaswas Penimbangan Lestari, Singaraja	BIO07.009.015	32,84	20,33	33,96	12,89	66,8	33,22
	BIO07.009.016	32,81	20,31	33,92	12,94	66,73	33,25
Pokmaswas Desa Umeanyar, Seririt	BIO07.009.005	32,17	21,37	33,29	13,16	65,46	34,53
	BIO07.009.029	33,22	20,22	34,33	12,77	67,55	32,99

Pada penyu sisik (*E. imbricata*) komposisi nukleotida A+T yang mirip sekitar 65% dan G+C sekitar 34% yang menandakan ke 2 sampel tersebut memiliki komposisi genetik yang mirip, penyu lekang (*L. olivacea*) dengan kode BIO07.009.015, BIO07.009.016 dan

BIO07.009.029 menunjukkan hasil bahwa komposisi nukleotida pada BIO07.009.015 dengan BIO07.009.016 memiliki komposisi nukleotida yang lebih mirip jika dibandingkan dengan BIO07.009.029. Komposisi nukleotida pada penyu hijau (*C. mydas*) dengan

kode BIO07.009.022 memiliki Timin (T) yang lebih rendah dibandingkan dengan penyu sisik (*E. imbricata*) dan penyu lekang (*L. olivacea*) sekitar 30,23%, persentase kandungan G+C yang rendah mempermudah dalam tahapan amplifikasi karena G+C dapat memengaruhi kestabilan heliks DNA (Yu *et al.*, 2021). Komposisi nukleotida pada penyu hijau (*C. mydas*) dengan kode BIO07.009.022 memiliki Timin (T) yang lebih rendah dibandingkan dengan penyu sisik (*E. imbricata*) dan penyu lekang (*L. olivacea*) sekitar 30,23%. Begitu juga dengan

penyu lekang (*L. olivacea*) memiliki nilai keragaman nukleotida yang rendah yaitu 0,00079 dan nilai keanekaragaman haplotipe yang sedang yaitu 0,66. Nilai keragaman nukleotida dan nilai keanekaragaman haplotipe yang rendah ditemukan juga pada penelitian yang dilakukan oleh Bahri *et al.* (2022) pada penyu lekang (*L. olivacea*) yang berasal dari Serangan, Bali yang menunjukkan nilai keragaman nukleotida yang rendah yaitu 0,00244 dan nilai keanekaragaman haplotipe yaitu 0,4814.

Tabel 5. Distribusi haplotipe dan variasi genetik lokus *control region* pada penyu sisik (*E. imbricata*) dan distribusi Haplotype

Kode	Haplotype	N	Hd	π
BIO07.009.003	HA-1			
BIO07.009.005	HA-2	2	1	0,02976

Ket: N = jumlah sekuen; Hd = keanekaragaman haplotipe; π = keanekaragaman nukleotida

Tabel 6. Distribusi haplotipe dan variasi genetik lokus *control region* pada penyu lekang (*L. olivacea*) dan distribusi Haplotype

Kode	Haplotype	N	Hd	π
BIO07.009.015	HA-1			
BIO07.009.016	HA-2	3	0,66	0,00079
BIO07.009.029	HA-3			

Ket: N = jumlah sekuen; Hd = keanekaragaman haplotipe; π = keanekaragaman nukleotida

Perolehan hasil tersebut menunjukkan bahwa populasi penyu yang ada di Buleleng memiliki nilai keanekaragaman genetik yang rendah, dikarenakan rendahnya nilai keragaman nukleotida keanekaragaman haplotipe maka nilai keanekaragaman genetik juga semakin rendah. Rendahnya keragaman haplotipe dan keragaman nukleotida disebabkan *bottleneck* populasi dan eksploitasi berlebihan yang berpengaruh terhadap menurunnya kemampuan adaptasi, peningkatan *inbreeding* dan peningkatan kemungkinan terjadi kepunahan (Yang *et al.*, 2015; Madduppa *et al.*, 2021). Analisis keragaman genetik didukung melalui keragaman haplotipe (Hd) dan keragaman nukleotida (π). Nilai keragaman nukleotida pada penyu sisik (*E. imbricata*) 0,02976 namun nilai keragaman hapotipe tinggi yaitu 1. Tingkat keanekaragaman genetik

dидukung oleh analisis polimorfisme pada sekuen sampel. Polimorfisme ditunjukkan oleh *variable sites* yang terdiri atas *singleton sites* dan *parsimony sites*. Hasil analisis polimorfisme menunjukkan bahwa sekuen sampel memiliki 33 situs polimorfik pada lokus *control region* mtDNA. Semakin banyak situs polimorfisme yang ada, semakin beragam pula kombinasi haplotipe yang bisa terbentuk, sehingga nilai keragaman haplotipe (Hd) meningkat. Sementara itu, semakin besar perbedaan nukleotida antar individu di masing-masing situs, maka nilai keragaman nukleotida (π) juga akan mengalami peningkatan (Kusuma *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil analisis polimorfisme, dapat disimpulkan bahwa situs polimorfik yang cukup banyak akan mendukung tingginya tingkat keragaman genetik pada populasi sampel, yang tercermin dari nilai keragaman haplotipe

dan keragaman nukleotida yang juga meningkat.

4. Kesimpulan

Spesies penyu yang teridentifikasi dari sampel telur penyu gagal tetas yang ditangkap di kawasan Buleleng: penyu sisik (*E. imbricata*), penyu lekang (*L. olivacea*), dan penyu hijau (*C. mydas*). Nilai jarak genetik intraspesifik yang rendah mengindikasikan bahwa setiap spesies memiliki kemiripan genetik yang tinggi di dalam populasinya, sedangkan jarak genetik interspesifik yang signifikan menegaskan perbedaan genetik antar spesies yang jelas. Hasil ini memperkuat pentingnya penggunaan pendekatan genetik untuk identifikasi spesies dan pemantauan keragaman genetik yang bermanfaat dalam perencanaan dan implementasi program konservasi penyu yang lebih efektif dan berkelanjutan di wilayah Buleleng, Bali Utara.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi berharga dalam penelitian ini.

Kontribusi Penulis

Semua penulis telah berkontribusi pada naskah akhir. Kontribusi seluruh penulis: Immanuel Pratama, Ni Putu Dian Pertiwi, I Made Oka Riawan, Ni Luh Astria Yusmalinda, Adrianus Sembiring: konseptualisasi, metodologi, analisis format, penyusunan *draft asli*, penulisan *review* dan *editing*. Luh Putu Candra Apriliani, Ni Komang Rossa Sri Savitri, Ketut Srie Marhaeni Julyasih, Moh Jaftron Syah, Rita Rachmawati: menulis *review* dan mengedit. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan.

Konflik Kepentingan

Penulis tidak memiliki konflik kepentingan terkait penelitian ini.

Pendanaan

Penelitian ini menggunakan dana mandiri.

Daftar Pustaka

- Abreu-Grobois, A., Horrocks, J., Formia, A., Dutton, P., LeRoux, R., Vélez Zuazo, X., Soares, L., & Meylan. (2006). New mtDNA D-loop primers which work for a variety of marine turtle species may increase the resolution of mixed stock analysis. In M. Frick, A. Panagopoulous, A. Rees, K. Williem (Eds.), Book of Abstracts 16th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation (16th ed.). <http://www.seaturtle.org/ists/>
- Airaud, B. F., Vieira, S., Branco, M., Pina, A., Soares, V., Tiwari, M., Witt, M., Castilho, R., Teodósio, A., & Hawkes, L. A. (2024). Green and Hawksbill Sea turtles of Eastern Atlantic: New insights into a globally important rookery in the Gulf of Guinea. *Ecology and Evolution*, 14(3):81-95. <https://doi.org/10.1002/ece3.11133>
- Akira, R., Wandia, I. N., & Adnyana, W. (2012). Komposisi genetik penyu hijau (*Chelonia mydas*) hasil tangkapan liar dari Nusa Tenggara Barat (Bima dan Teluk Cempedak). *Journal Indonesia Medicus Veterinus*, 1(1):22-36. <https://www.researchgate.net/publication/342639900>
- Bahri, S., Madduppa, H. H., & Atmadipoera, A. S. (2022). Keragaman genetik penyu lekang (*Lepidochelys olivacea*) dan kaitannya dengan pola arus di perairan Samudera Hindia dan perairan tengah Indonesia. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*, 8(2):254-266. <https://doi.org/10.24843/jmas.2022.v08.i02.p10>
- Barber, P. H., Erdmann, M. V., & Palumbi, S. R. (2006). Comparative phylogeography of three codistributed stomatopods: Origins and timing of regional lineage diversification in the coral triangle. *Evolution*, 60(9):1825-1839.

- <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2006.tb00526>.
- Fredricks, D. N., Smith, C., & Meier, A. (2005). Comparison of six DNA extraction methods for recovery of fungal DNA as assessed by quantitative PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(10):5122-5128.
<https://doi.org/10.1128/JCM.43.10.5122-5128.2005>
- Hays, G. C., Laloë, J.-O., & Seminoff, J. A. (2025). Status, trends and conservation of global sea turtle populations. *Nature Reviews Biodiversity*, 1(2):119-133.
<https://doi.org/10.1038/s44358-024-00011-y>
- Jensen, M. P., Allen, C. D., Eguchi, T., Bell, I. P., LaCasella, E. L., Hilton, W. A., Hof, C. A. M., & Dutton, P. H. (2018). Environmental warming and feminization of one of the largest sea turtle populations in the World. *Current Biology*, 28(1):154-159.e4.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.11.057>
- Ketchum, R. N., Dieng, M. M., Vaughan, G. O., Burt, J. A., & Idaghdour, Y. (2016). Levels of genetic diversity and taxonomic status of *Epinephelus* species in United Arab Emirates fish markets. *Marine Pollution Bulletin*, 105(2):540-545.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.042>
- Kurniarum, M., Prihanta, W., & Wahyuni, S. (2015). Pengetahuan dan sikap masyarakat terhadap konservasi penyu dan ekowisata di Desa Hadiwarno Kabupaten Pacitan sebagai sumber belajar biologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 1(2):124-137.
<https://doi.org/10.22219/jpbi.v1i2.3321>
- Kusuma, R. O., Dadiono, M. S., Kusuma, B., & Syakuri, H. (2021). Keragaman genetik ikan uceng (*Nemacheilus*) di Sungai Wilayah Banyumas berdasar sekuen gen cytochrome oxidase subunit I (COI). *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 23(2):89-94.
<https://doi.org/10.22146/jfs.61167>
- Madduppa, H., Bahri, S., Ghozali, A. T., Atmadipoera, A. S., Subhan, B., Santoso, P., Natih, I. N. M., & Arifat, D. (2021). Population genetic structure of olive ridley (*Lepidochelys olivacea*) across Indonesian archipelago revealed by mitochondrial DNA: Implication for management. *Regional Studies in Marine Science*, 41(101600).
<https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101600>
- Pertiwi, N. P. D. (2022). Identifikasi spesies ikan pelagis yang dijual di pasar Kota Denpasar menggunakan marka control region mitokondria (mtDNA). *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, 9(1):95-102.
<https://ejournal.undiksha.ac.id/index.php/JJPB/index>
- Pertiwi, N. P. D., Suhendro, M. D., Yusmalinda, N. L. A., Putra, I. N. G., Putri, I. G. R. M., Artiningsih, E. Y., Al-Malik, M. D., Cahyani, N. K. D., & Sembiring, A. (2020). Forensic genetic case study: Species identification and traceability of sea turtle caught in illegal trade in Bali, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(9):4276-4283.
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d210945>
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sanchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., & Sanchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12):3299-3302.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
- Shamblin, B. M., Dodd, M. G., Williams, K. L., Frick, M. G., Bell, R., & Nairn, C. J. (2011). Loggerhead turtle eggshells as a source of

- maternal nuclear genomic DNA for population genetic studies. *Molecular Ecology Resources*, 11(1):110-115.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02910.x>
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7):3022-3027.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Widaysari, F., Nugroho, A., Arafat, G., Sunoko, R., Wahyudin, R. A., Sayuti, M., Bakkula, E., & Ballamu, F. (2023). The first occurrence of Kemp's Ridley turtle (*Lepidochelys kempii*) in Raja Ampat, Indonesia. *Journal Biodiversitas*, 24(9):4934-4942.
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d240936>
- Yang, W., Wang, Y., & Chen, M. (2015). Genetic structure and diversity of green sea turtle (*Chelonia mydas*) from South China Sea inferred by mtDNA control region sequence. *Biochemical Systematics and Ecology*, 60(1):95-98.
<https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.04.007>
- Yu, Y., Li, H.-T., Wu, Y.-H., & Li, D.-Z. (2021). Correlation analysis reveals an important role of GC content in accumulation of deletion mutations in the coding region of angiosperm plastomes. *Journal of Molecular Evolution*, 89(1–2):73-80.
<https://doi.org/10.1007/s00239-020-09987-5>
- Yusup, M. W., Amiin, M. K., & Nainggolan, D. (2024). Husbandry Techniques of *Lepidochelys olivacea* at Raksa Bintana Sea Turtle Conservation, Indonesia. *Jurnal Biologi Tropis*, 24(2):281-286.
<https://doi.org/10.29303/jbt.v24i2.6687>