

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



BERITA BIOLOGI

Vol. 18 No. 1 April 2019

Terakreditasi Berdasarkan Keputusan Direktur Jendral Penguanan Riset dan
Pengembangan, Kemenristekdikti RI
No. 21/E/KPT/2018

Tim Redaksi (*Editorial Team*)

Andria Agusta (Pemimpin Redaksi, *Editor in Chief*)
(Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Kusumadewi Sri Yulita (Redaksi Pelaksana, *Managing Editor*)
(Sistematika Molekuler Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Gono Semiadi
(Mammalogi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Atit Kanti
(Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Siti Sundari
(Ekologi Lingkungan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Arif Nurkanto
(Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Kartika Dewi
(Taksonomi Nematoda, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dwi Setyo Rini
(Biologi Molekuler Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Desain dan Layout (*Design and Layout*)

Liana Astuti

Kesekretariatan (*Secretary*)

Nira Ariasari, Budiarjo

Alamat (*Address*)

Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)
Jalan Raya Jakarta-Bogor KM 46,
Cibinong 16911, Bogor-Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067
Faksimili (021) 8765059
Email: berita.biologi@mail.lipi.go.id
jurnalberitabiologi@yahoo.co.id
jurnalberitabiologi@gmail.com

Keterangan foto cover depan: Beberapa jenis makromakrofungi yang dijumpai di Cagar Alam Tangale
(Notes of cover picture): (*Some of the macrofungi species were found in Tangale Nature Reserve*) sesuai dengan halaman 109 (as in page 109).



Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751
Terakreditasi Peringkat 2
21/E/KPT/2018
Volume 18 Nomor 1, April 2019

Berita Biologi	Vol. 18	No. 1	Hlm. 1 – 123	Bogor, April 2019	ISSN 0126-1754
----------------	---------	-------	--------------	-------------------	----------------

**Ucapan terima kasih kepada
Mitra Bebestari nomor ini
18(1) – April 2019**

**Prof. Dr. Mulyadi
(Pusat Penelitian Biologi-LIPI)**

**Dr. Dewi Malia Prawiradilaga
(Ekologi Hewan,Pusat Penelitian Biologi-LIPI)**

**Dr. Hari Sutrisno
(Biosistemik Invertebrata, Pusat Penelitian Biologi-LIPI)**

**Dr. Joko Ridho Witono, M.Si.
(Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya -LIPI)**

**Dr. Emry Estiati
(Bioteknologi, Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI)**

**Dr. Ristiyanto, M.Kes
(Mammalogi, Balai Besar Litbang VRP Salatiga litbang-depkes RI)**

**Dr. Margaretha Rahayuningsih, M.Si
(Taksonomi Hewan, Universitas Negeri Semarang)**

**Prof. Dr. Ir. Trizelia, M.Si
(Pengendalian Hayati (Patologi Serangga), Faperta Unand, Kampus Limau Manis, Padang)**

**Zuliyati Rohmah, S.Si., M.Si., Ph.D.
(Animal Structure and Function, Marine Animal, Marine Natural, Fakultas Biologi UGM)**

**Dra. Noverita, MSi
(Mikologi, Universitas Nasional Jakarta)**

**Dr. Ir.Miswar, M.Si
(Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Negeri Jember)**

**Dr. Ir. Syahroma Husni M.Si.
(Biologi Perikanan, Pusat Penelitian Limnologi -LIPI)**

**Dr. Ratu Siti Aliah MSc.
(Biologi Molekuler, Pusat Teknologi Produksi pertanian)**

**Dr. Wartono Hadie
(Akuakultur, Pusat Riset Perikanan-KKP)**

**Dr. Nafisah, Msc.
(Genetika dan pemuliaan tanaman, Balai Besar Penelitian tanaman padi)**

VARIASI INTERSPESIFIK JULANG (AVES: BUCEROTIDAE) INDONESIA BERDASARKAN GEN CYTOCHROME-B DNA MITOKONDRIA

[Interspecific Variation of Indonesian Hornbill (Aves: Bucerotidae) Based on Mitochondrial DNA Cytochrome-b]

Jarulis¹, Dedy Duryadi Solihin^{2✉}, Ani Mardiastuti³, Lilik Budi Prasetyo³

¹ Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Bengkulu

² Departemen Biologi, FMIPA, IPB

³ Departemen Konservasi Sumberdaya Hutan dan Ekowisata, FAHUTAN, IPB

email: dduryadi@yahoo.com

ABSTRACT

Genetic information of Indonesian hornbills (Julang) is still limited. Base on the reason, we sequenced the cytochrome b gene of three hornbill species (*Rhyticeros undulatus*, *R. plicatus*, and *Aceros cassidix*) to explore their genetic variation, distance, and phylogenetic. Nine blood samples for Cyt b from three hornbill species were isolated with Dneasy® Blood and Tissue Kit base on Spin-Column Protocol, Qiagen. Single Nucleotide Polymorphism (SNP), genetic distance, and phylogeny were calculated by MEGA 6.0 software. This study found that there were variations in the Cyt b gene sequence (849 bp) among three species Indonesian Julang. *Rhyticeros undulatus* had the most SNP compared to *R. plicatus* and *Aceros cassidix*. Substitution of synonyms is more common than substitution of non-synonyms and transition substitution frequency tends to be much higher than transversion substitution. The three species of Indonesian Julang were markedly separate with an average genetic distance of 5.25% and separated with the outgroup species at a genetic distance of 9.43%. Cytochrome b sequence genes from these three hornbill species are new data for identifying and classifying hornbills, and could be applied to prevent illegal poaching and conservation management in Indonesia.

Key words: Cytochrome b, genetic distance, hornbills, interspecific variation, phylogenetic.

ABSTRAK

Mengingat terbatasnya informasi mengenai genetik Julang asal Indonesia maka penelitian mengenai sekvensing gen Cyt b mtDNA dari tiga jenis Julang (*Rhyticeros undulatus*, *R. plicatus*, dan *Aceros cassidix*) ini dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi variasi interspesifik sesamanya. Sembilan sampel darah Julang diisolasi dengan Dneasy® Blood and Tissue Kit berdasarkan prosedur Spin-Column Protocol, Qiagen. Polimorfisme nukleotida, jarak genetik, dan kekerabatan dihitung menggunakan perangkat MEGA 6.0. Penelitian ini menemukan adanya variasi pada sekuen gen Cyt b (849 pb) antar jenis Julang Indonesia. *Rhyticeros undulatus* memiliki SNP paling banyak dibandingkan *R. plicatus* dan *Aceros cassidix*. Substansi sinonim lebih sering terjadi dari pada substansi non-sinonim dan substansi transisi cenderung lebih banyak dibandingkan substansi transversi. Ketiga jenis Julang Indonesia terpisah nyata dengan jarak genetik rata-rata 5,25% dan terpisah cukup jauh dengan jenis *outgroup* pada jarak genetik 9,43%. Sekuen gen Cyt b tiga jenis Julang ini merupakan data baru untuk identifikasi dan pengelempokan Julang, dan dapat diaplikasikan untuk mencegah perdagangan ilegal dan manajemen konservasi di Indonesia.

Kata kunci: Cytochrome b, jarak genetik, Julang, variasi interspesifik, filogenetik.

PENDAHULUAN

Julang merupakan kelompok Aves yang termasuk ke dalam famili Bucerotidae. Di Indonesia terdapat lima jenis Julang yaitu Julang Jambul-hitam *Aceros corrugatus*, Julang Sulawesi *Aceros cassidix*, Julang Emas *Rhyticeros undulatus*, Julang Irian *Rhyticeros plicatus*, dan Julang Sumba *Rhyticeros everetti* (Sukmantoro *et al.*, 2007). Burung ini memakan buah-buahan, serangga, dan mamalia kecil (MacKinnon *et al.*, 2010; Chaisuriyanun *et al.*, 2011), serta sebagai pemencar biji tumbuhan di hutan (Kinnaid 1998; Kitamura *et al.*, 2008; Balasubramanian *et al.*, 2011), bersarang pada lubang pohon yang terbentuk secara alami (Poonswad *et al.*, 2013). Semua jenis Julang tersebut dilindungi menurut Peraturan Menteri Lingkungan

Hidup dan Kehutanan Nomor P.106 Tahun 2018 (KLHK, 2018).

Gangguan habitat yang intensif dan maraknya perburuan satwa liar telah menyebabkan penurunan populasi Julang di alam. Salah satu bentuk gangguan habitat Julang berupa penurunan luas habitat hutan dan terbentuknya fragmen-fragmen hutan dengan luasan yang sempit. Julang sangat sensitif terhadap fragmentasi habitat, sehingga mereka merupakan salah satu komponen ekosistem tropis yang sangat terancam (Kinnaid dan O'Brien, 2007). Julang dan semua jenis rangkong lainnya diburu oleh masyarakat di berbagai tempat di Indonesia. Bagian tubuh burung hasil buruan digunakan sebagai material asessoris kesenian tradisional, bahan makanan (Bennett *et al.*, 1997), dan diperdagangkan

*Diterima: 19 Desember 2018 - Diperbaiki: 15 Januari 2019 - Disetujui: 25 Maret 2019

illegal baik di pasar nasional maupun internasional. Populasi dengan jumlah individu yang kecil memiliki resiko berkurangnya variabilitas genetik dan peningkatan silang dalam (*inbreeding*) (Ralls *et al.*, 1988; Haig dan Nordstrom, 1991).

Pengelompokan genus dan jenis Julang berbeda antar peneliti. Kemp (1988) dan MacKinnon *et al.* (2010) mengelompokkan kelima jenis Julang Indonesia ke dalam genus *Aceros*. Sukmantoro *et al.* (2007) dan Gonzales *et al.* (2013) membaginya menjadi dua genus yaitu *Rhyticeros* (*Rhyticeros undulatus*, *R. plicatus*, dan *R. everetti*) dan *Aceros* (*Aceros cassidix* dan *A. corrugatus*). Sementara Coates *et al.* (2000), Viseshakul *et al.* (2011), dan Poonsawad *et al.* (2013) mengelompokkan kelimanya ke dalam genus *Rhyticeros*. Eaton *et al.* (2016) memasukkan empat jenis Julang (Julang Sulawesi, Julang Emas, Julang Irian, dan Julang Sumba) ke dalam genus *Rhyticeros* dan satu jenis lainnya (Julang Jambul-hitam) bergabung ke dalam genus *Rhabdotorrhinus*. Perbedaan dalam pengelompokan nama genus dan jenis tersebut terjadi karena perbedaan unit taksonomi yang digunakan di dalam determinasi, yaitu morfologi dan genetik. Determinasi dan penyusunan filogeni takson burung menggunakan marka genetik telah banyak dilakukan (Sibley *et al.*, 1990; Srikan dan Woodruff, 1998; Morin *et al.*, 1994; Delport *et al.*, 2002; Hebert *et al.*, 2004; Viseshakul *et al.*, 2011; Gonzales *et al.*, 2013). Bahkan, beberapa peneliti telah menggunakan informasi genetik dalam pemisahan jenis (Hebert *et al.*, 2004; Zink *et al.*, 2002).

Selain gen COI, gen *cytochrome b* DNA mitokondria (Cyt b mtDNA) merupakan penanda molekuler yang telah banyak digunakan untuk determinasi baik intraspesies maupun interspesies dan penyusunan filogeni takson burung (Krajewski dan Fetzner, 1994; Randi, 1996; Zink *et al.*, 2002; Broders *et al.*, 2003; Astuti *et al.*, 2006; Tavares *et al.*, 2006; Rocha *et al.*, 2014). Sebaliknya, penggunaan gen Cyt b mtDNA dalam penyusunan filogeni Julang termasuk jenis Bucerotidae lainnya masih terbatas, antara lain hanya oleh Morin *et al.* (1994), Viseshakul *et al.* (2011), dan Gonzales *et al.* (2013). Namun, Julang asal Indonesia masih sangat terbatas diikutkan dalam rekonstruksi filogeni dan

pengelompokan anggota famili Bucerotidae. Gen Cyt b merupakan salah satu gen penyandi protein di dalam genom mitokondria yang banyak digunakan untuk meneliti hubungan jenis dari genus atau famili yang sama (Kocher *et al.*, 1989). Gen penyandi Cyt b mempunyai ukuran 1140 pb, terletak diantara gen penyandi tRNA^{Glu} dan gen penyandi tRNA^{Thr} pada DNA mitokondria (Schmitz *et al.*, 2002). Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan variasi interspesifik lima jenis Julang asal Indonesia.

BAHAN DAN CARA KERJA

Koleksi sampel

Penelitian ini dilaksanakan dari September 2015 sampai Desember 2017. Sembilan sampel darah (0,5-1,0 ml) yang terdiri atas tiga jenis Julang (Julang Emas, Julang Papua, dan Julang Sulawesi) diambil melalui vena ulnaris, dan dipreservasi dengan etanol (Tabel 1). Pengambilan sampel darah dari koleksi hidup Taman Safari Indonesia (TSI), Taman Margasatwa Ragunan (TMR), dan Taman Mini Indonesia Indah (TMII) berpedoman pada dokumen persetujuan komisi etik hewan IPB Nomor 39-2106 IPB tahun 2016. Analisis molekuler dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi (PPSHB) IPB.

Isolasi DNA

Sampel darah (15-25 mg) dicuci 3-5 kali dengan Tris-EDTA buffer (low TE). Isolasi DNA total dilakukan menggunakan Kit *Dneasy® Blood and Tissue Kit* cat no 69504 (50) berdasarkan prosedur *Spin-Column Protocol* Qiagen dengan modifikasi. Kualitas DNA hasil isolasi diamati pada gel agarose 1,2% menggunakan elektroforesis, kemudian disimpan di dalam freezer -20 °C sebelum diamplifikasi.

Amplifikasi DNA dan sekruensing

Replikasi DNA target pada gen Cyt b dilakukan melalui proses amplifikasi menggunakan teknik polymerase chain reaction (PCR). Primer yang digunakan untuk amplifikasi adalah CytBBuceF (5'-CCCAACC CGCTACTAAAAACA -3') dan CytBBuceR (5'-CCCCTAGTTGGGGATT-3') dengan produk PCR 849 pb. Campuran reaksi amplifikasi dengan teknik PCR (total 25 µl) terdiri atas

Tabel 1. Jumlah sampel yang dianalisis (*Number of samples analyzed*)

Spesies (<i>Species</i>)	Nama Indonesia (<i>Indonesia Name</i>)	Jumlah sampel (<i>Sample number</i>)	Kode Sampel (<i>Sample Code</i>)	Nomor Cincin/ Mikro- chip (<i>Ring Number/ Microchip</i>)	Lokasi (<i>Location</i>)
<i>Aceros cassidix</i>	Julang Sulawesi	3	AC1RG	985121018260062	TMR
<i>A. cassidix</i>	Julang Sulawesi		AC1TS	TSIBGR17G047	TSI
<i>A. cassidix</i>	Julang Sulawesi		AC2TS	TSIBGR17G046	TSI
<i>Rhyticeros plicatus</i>	Julang Irian	3	RP1RG	985121018304960	TMR
<i>R. plicatus</i>	Julang Irian		RP2TM	213	TMII
<i>R. plicatus</i>	Julang Irian		RP1TS	TSIBGR14G048	TSI
<i>Rhyticeros undulatus</i>	Julang Emas	3	RU1TM	I113	TMII
<i>R. undulatus</i>	Julang Emas		RU4TM	242	TMII
<i>R. undulatus</i>	Julang Emas		RU5TS	TSIBGR17G061	TSI

2-5 µl DNA *template*, masing-masing 1,0 µl primer *forward* dan *reverse*, 6,8 µl ddH₂O, 5,0 µl 5x *buffer Qs*, 5,0 µl 5x *enhancer Qs*, 1,0 µl dNTP, dan 0,2 µl *taq polymerase*. Kondisi mesin PCR saat amplifikasi sebagai berikut; suhu predenaturasi 95 °C selama 5 menit, denaturasi 94 °C 1 menit, *annealing* 58 °C 45 menit, elongasi 72 °C 1 menit, ekstensi 72 °C 6 menit, dan pendinginan 4 °C 10 menit. Jumlah siklus tahap denaturasi-elongasi adalah 35 kali. DNA (3,0 µl) hasil PCR divisualisasi pada gel agarose 1,2% dengan alat elektroforesis (Sambrook, 1989), dan hasilnya difoto dengan UV transluminator ($\lambda=300$ nm). Produk PCR dengan pita yang baik dikirim ke perusahaan First Base Malaysia untuk sekruensing.

Analisis data

Runutan nukleotida (*forward* dan *reverse*) hasil sekruensing diedit dengan cara disejajarkan (*alignment*) menggunakan Clustal W program MEGA 6.0 (Tamura et al., 2013). Perangkat lunak BIOEDIT versi 7.0.9 (Hall, 1999) digunakan untuk mengedit sekuen gen Cyt b, dan visualisasi elektrogram dan urutan basa nukleotidanya. Sekuen gen Cyt b tiap individu disejajarkan dengan gen Cyt b GenBank melalui *basic local alignment search tool-nucleotide* (BLASTn) untuk melihat kemiripan sampel yang diuji. Jarak genetik antar individu dan jenis di dalam genus *Rhyticeros* dan *Aceros* dihitung menggunakan metode Kimura 2-parameter (K2P) (Kimura, 1980). Pohon filogeni direkonstruksi menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) model K2P dan *Maximum Likelihood* (ML) model Tamura-Nei dengan 1000 kali replikasi (Tamura et

al., 2013). Tujuh sekuen gen Cyt b tiga jenis Julang di atas (kode akses: KJ456173, AF346944, AF346942, AF346940, AF346941, AF346939, AF346938) dan lima sekuen (kode akses: NC015085, NC015087, HM755883, KC754783, HM755883) dari lima jenis Bucerotidae lainnya (*outgroup*) diunduh dari GenBank dan disertakan dalam analisis rekonstruksi pohon filogeni.

HASIL

Identifikasi spesies

Identitas (kemiripan) tiga jenis Julang Indonesia dengan tiga jenis Julang dari GenBank cukup tinggi (Tabel 2). Kemiripan seluruh sampel sekuen gen Cyt b Julang Indonesia dengan sekuen GenBank 99%, kecuali sampel *R. undulatus* (RU5TS). Nilai *query cover* berkisar antara 87 dan 99%. Hasil ini menunjukkan kesesuaian nama jenis sampel yang diidentifikasi dengan nama jenis yang terdapat pada GenBank dengan nilai perbedaan <3,0%.

Variasi, substitusi, dan komposisi nukleotida

Variasi, substitusi, dan komposisi nukleotida interspesies tiga jenis Julang tampak berbeda (Tabel 3). Situs bervariasi (*variable site*) jenis *R. undulatus* dan *A. cassidix* lebih banyak dibandingkan *R. plicatus*. Situs parsimoni informasi tidak dijumpai pada sekuen gen Cyt b ketiga jenis Julang tersebut. Pada tingkat genus, *Rhyticeros* memiliki situs bervariasi lebih tinggi dibandingkan *Aceros*, termasuk situs parsimoni dan *singleton*.

Substitusi nukleotida pada kodon triplet tiga jenis Julang hampir sama (Tabel 3). Frekuensi substitusi transisi pada jenis *R. undulatus* dan *A.*

Tabel 2. Identitas dan *query cover* tiga jenis Julang Indonesia berdasarkan hasil BLASTn gen Cyt b panjang 849 pb (*The identity and query cover of three species of Indonesian Julang based on BLASTn results of Cyt b gene with 849 bp length*)

Spesies (Species)	Kode Sampel (Sample Code)	Skor Total (Total Score)	Cakupan (Query cover) (%)	Identitas (Identity) (%)	Spesies (Species)	Nomor Akses (Accession Number)
<i>Aceros cassidix</i>	AC1RG	1347	87	99	<i>A. cassidix</i>	AF346938
<i>A. cassidix</i>	AC1TS	1352	89	99	<i>A. cassidix</i>	AF346939
<i>A. cassidix</i>	AC2TS	1343	88	99	<i>A. cassidix</i>	AF346938
<i>Rhyticeros plicatus</i>	RP1RG	1354	88	99	<i>A. plicatus</i>	AF346940
<i>R. plicatus</i>	RP2TM	1351	87	99	<i>A. plicatus</i>	AF346940
<i>R. plicatus</i>	RP1TS	1354	88	99	<i>A. plicatus</i>	AF346940
<i>Rhyticeros undulatus</i>	RU1TM	1498	99	99	<i>R. undulatus</i>	KJ456173
<i>R. undulatus</i>	RU4TM	1506	98	99	<i>R. undulatus</i>	KJ456173
<i>R. undulatus</i>	RU5TS	1493	99	98	<i>R. undulatus</i>	KJ456173

Tabel 3. Situs konservatif dan bervariasi, mutasi, dan komposisi basa nukleotida gen Cyt b genus *Rhyticeros* dan *Aceros* asal Indonesia (*Conserve and variable sites, mutations, and nucleotide base compositions of Cyt b genes Rhyticeros and Aceros genus from Indonesia*)

Taksa (Taxa)	n	Situs konservatif (Conserved Site)	Bervariasi (Variable Sites)		Total situs bervariasi (Total of Variable Site)	si			sv			Rata R (Average of R)	Komposisi Nukleotida (Nucleotide Composition) (%)			
			Pi	s (Singleton)		1 st	2 nd	3 rd	1 st	2 nd	3 rd		A	T	G	C
Spesies																
<i>R. undulatus</i>	3	841	0	8	8	1	1	1	1	1	1	0,67	27,9	21,9	14,4	36,2
<i>R. plicatus</i>	3	845	0	4	4	0	0	1	0	1	1	0,50	27,0	22,0	14,6	36,4
<i>A. cassidix</i>	3	841	0	8	8	1	1	1	1	1	1	1,67	28,0	21,8	13,6	36,6
Genus																
<i>Rhyticeros</i>	6	818	21	10	31	1	1	2	1	2	2	1,65	27,3	21,9	14,5	36,3
<i>Aceros</i>	3	841	0	8	8	1	1	1	1	1	1	1,67	28,0	21,8	13,6	36,6

Keterangan (Notes): n= jumlah sampel (sample number), Pi= situs parsimony informasi (parsimony informative site) s= situs singleton (singleton site), si= substitusi transisi (transition substitution site), sv= substitusi transversi (transversion substitution site), 1st= kodon pertama (first codon), 2nd= kodon kedua (second codon), 3rd= kodon ketiga (third codon), R= rasio si/sv (ratio si/sv), A= Adenin (Adenine), T= Timin (Thymine), G= Guanin (Guanine), C= Sitosin (Cytosine).

cassidix hanya satu kali untuk semua urutan basa pada kodon triplet. Sedangkan pada jenis *R. plicatus* kejadian substitusi transisi hanya terjadi satu kali, yaitu pada kodon ketiga. Substitusi transversi terdapat tiap urutan kodon triplet semua jenis, kecuali pada kodon kesatu *R. plicatus*. Rasio substitusi transisi dengan substitusi transversi ketiga jenis Julang antara 0,50 dan 1,67.

Komposisi tiap jenis basa nukleotida tiga jenis Julang cukup variatif (Tabel 3). Jenis nukleotida dengan komposisi tertinggi pada semua jenis dan genus adalah sitosin (C) dan terendah Guanin (G).

Komposisi pasangan basa nukleotida AT (Adenin dan Timin) juga diketahui terdapat di bawah GC baik pada tingkat jenis maupun genus. Pada genus *Rhyticeros* komposisi basa AT adalah sebesar 49,2% dan GC 50,8%, dan pada genus *Aceros* AT 49,8% dan GC 50,2%.

Polimorfisme nukleotida (Single Nucleotide Polymorphism)

Hasil penyejajaran runutan nukleotida gen Cyt b tiga jenis Julang menunjukkan adanya polimorfisme nukleotida atau nukleotida spesifik

Tabel 4. SNP antar jenis Julang famili Bucerotidae berdasarkan gen Cyt b panjang 849 pb (*SNP between Julang species of Bucerotidae family based on Cyt b gene with 849 bp length*)

Spesies (Kode) Species (Code)	Situs nukleotida (nucleotide site)																	
	4	8	1	1	1	1	3	3	3	4	4	4	4	5	6	6	6	
	1	3	0	2	2	5	5	6	8	1	4	5	9	7	1	2	7	
	2	8	9	5	4	3	2	6	6	3	0	7	1	2	1	2	1	
<i>Aceros corrugatus</i> (HM75 5883)	C	A	C	C	C	G	T	C	T	T	C	T	T	C	A	A		
<i>R. undulatus</i> (RU4TM)	.	G	.	.	.	A	A	A	T	C	.	A	C	.	.	.		
<i>R. undulatus</i> (RU5TS)	.	G	.	.	.	A	A	A	T	C	.	A	C	.	.	.		
<i>R. undulatus</i> (RU1TM)	.	G	.	.	.	A	A	A	T	C	.	A	C	.	.	.		
<i>R. plicatus</i> (RP1TS)	.	.	T	.	T	T	.	.	C	C	.	.	.	G	G	.		
<i>R. plicatus</i> (RP1RG)	.	.	T	.	T	T	.	.	C	C	.	.	.	G	G	.		
<i>R. plicatus</i> (RP2TM)	.	.	T	.	T	T	.	.	C	C	.	.	.	G	G	.		
<i>Aceros cassidix</i> (AC1TS)	T	.	.	T	C	T	T	G		
<i>A. cassidix</i> (AC1RG)	T	.	.	T	C	T	T	G		
<i>A. cassidix</i> (AC2TS)	T	.	.	T	C	T	T	G		

Keterangan (notes): Angka di bawah nama situs nukleotida adalah nomor situs untuk tiap situs berdasarkan *alignment* gen Cyt b (849 pb). Situs pertama pada *alignment* Julang ekuivalen dengan situs ke-23 sekuen nukleotida *Aceros corrugatus* GenBank (Accession HM755883). [Numbers below nucleotide site names are site numbers for each base change in our alignment for Cyt b gene (849 bp). Site one in our alignment is equivalent to site 23 in the full *Aceros corrugatus* sequence from GenBank (accession no. HM755883)].

Tabel 5. Rataan jarak genetik intra dan interspesies tiga jenis Julang famili Bucerotidae berdasarkan gen Cyt b panjang 849 pb* (*The average intra and interspecies genetic distance three Julang species of Bucerotidae family based on Cyt b gene with 849 bp length*)

Jarak genetik (Genetic Distance)	<i>Rhyticeros undulatus</i>	<i>Rhyticeros plicatus</i>	<i>Aceros cassidix</i>
Spesies			
Antar individu minimum	0,0050	0,0010	0,0050
Antar individu maksimum	0,0070	0,0050	0,0070
Rataan antar individu	0,0060	0,0030	0,0060
Antar spesies minimum			
Antar spesies maksimum		0,0480	
Rataan antar spesies		0,0570	
Genus			
Antar genus minimum		0,0525	
Antar genus maksimum		0,0560	
Rataan antar genus (average between genus)		0,0750	
		0,0645	

Keterangan: *) = Tidak termasuk data GenBank. (Not including GenBank data).

(single nucleotide polymorphism, SNP) sebagai pembeda antar jenis Julang (Tabel 4). Total situs nukleotida yang berbeda sebanyak 17 situs, terdapat antara situs nomor 41 dan 671. *Rhyticeros undulatus* merupakan jenis yang memiliki nukleotida spesifik paling banyak (tujuh situs) dibandingkan dua jenis lainnya.

Jarak genetik

Jarak genetik intraspesies dan interspesies tiga jenis Julang Indonesia ditunjukkan pada Tabel 5 dan Tabel 6. Jarak genetik rata-rata intraspesies berkisar antara 0,001 (0,1%) dan 0,007 (0,7%). Jarak genetik interspesies minimum 0,0480

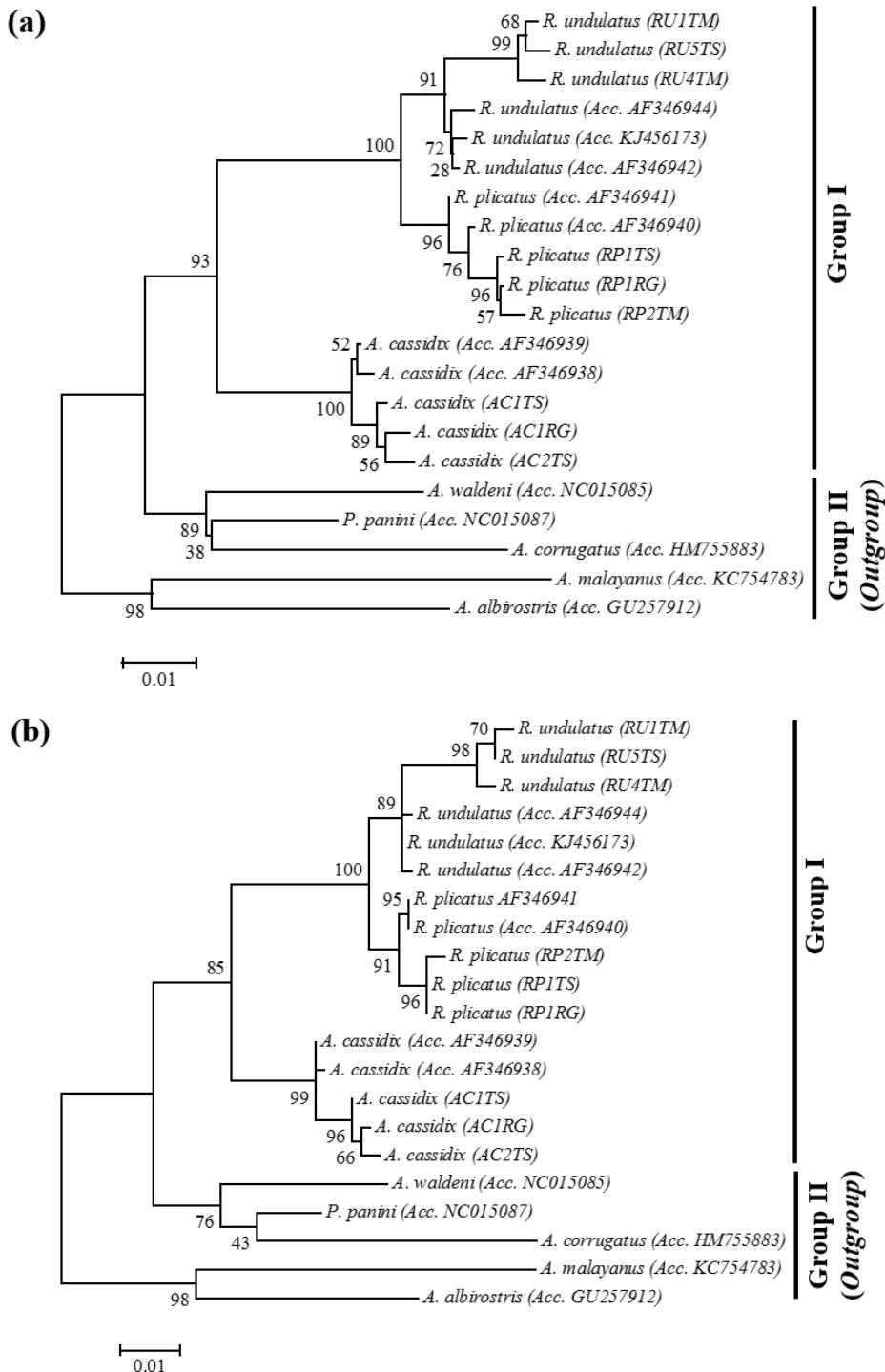
(4,80%), maksimum 0,0570 (5,70%), dan rataan 0,0525 (5,25%) ± 0,025. Sedangkan rataan jarak genetik antar kedua genus Julang sebesar 0,0645 (6,45%) ± 0,005.

Kekerabatan antar spesies

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik tiga jenis Julang Indonesia dan lima jenis Bucerotidae lainnya ditunjukkan pada Gambar 2 dan 3. Berdasarkan Gambar 2 (metode NJ model K2P) dan Gambar 3 (metode ML model Tamura-Nei) diketahui masing-masing jenis Julang berada pada kluster yang sama. Tiga jenis Julang Indonesia (termasuk tujuh sampel GenBank) mengelompok

Tabel 6. Matriks jarak genetik Pairwise intraspesies dan interspesies tiga jenis Julang Indonesia dan 5 jenis famili Bucerotidae lainnya yang diunduh dari GenBank (*The intraspecies and interspecies genetic pairwise distance matrix of three Indonesian Julang species and five other Bucerotidae family accessed from GenBank*)

Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1. <i>R. undulatus</i> (RU1TM)																					
2. <i>R. undulatus</i> (RU1TS)	0,005																				
3. <i>R. undulatus</i> (RU4TM)	0,007	0,007																			
4. <i>R. undulatus</i> (Acc. AF346944)	0,018	0,020	0,016																		
5. <i>R. undulatus</i> (Acc. KJ456173)	0,017	0,017	0,017	0,005																	
6. <i>R. undulatus</i> (Acc. AF346942)	0,016	0,016	0,014	0,004	0,003																
7. <i>R. plicatus</i> (Acc. AF346941)	0,025	0,025	0,022	0,014	0,012	0,014															
8. <i>R. plicatus</i> (Acc. AF346940)	0,029	0,030	0,026	0,022	0,018	0,019	0,000														
9. <i>R. plicatus</i> (RP1TS)	0,024	0,029	0,031	0,027	0,024	0,022	0,006	0,005													
10. <i>R. plicatus</i> (RP1RG)	0,023	0,028	0,030	0,027	0,025	0,022	0,006	0,005	0,001												
11. <i>R. plicatus</i> (RP2TM)	0,026	0,031	0,034	0,029	0,028	0,025	0,009	0,008	0,005	0,004											
12. <i>A. cassidix</i> (Acc. AF346939)	0,068	0,069	0,065	0,055	0,053	0,054	0,043	0,055	0,057	0,057	0,057										
13. <i>A. cassidix</i> (Acc. AF346938)	0,069	0,069	0,067	0,056	0,055	0,056	0,046	0,057	0,059	0,059	0,062	0,003									
14. <i>A. cassidix</i> (AC1TS)	0,065	0,065	0,070	0,062	0,060	0,060	0,051	0,061	0,057	0,056	0,060	0,007	0,007								
15. <i>A. cassidix</i> (AC1RG)	0,067	0,070	0,072	0,062	0,062	0,060	0,054	0,064	0,060	0,061	0,062	0,009	0,009	0,007							
16. <i>A. cassidix</i> (AC2TS)	0,070	0,070	0,075	0,066	0,062	0,064	0,056	0,065	0,060	0,061	0,060	0,011	0,005	0,007							
17. <i>A. waldeni</i> (Acc. NC015085)	0,094	0,094	0,078	0,076	0,077	0,080	0,082	0,086	0,088	0,090	0,066	0,068	0,075	0,081	0,075						
18. <i>P. panini</i> (Acc. NC015087)	0,082	0,082	0,082	0,062	0,066	0,060	0,066	0,067	0,074	0,075	0,078	0,056	0,058	0,066	0,072	0,069	0,048				
19. <i>A. corrugatus</i> (Acc. HM755883)	0,104	0,104	0,104	0,093	0,093	0,090	0,099	0,096	0,096	0,097	0,101	0,080	0,083	0,089	0,086	0,069	0,057				
20. <i>A. malayanus</i> (Acc. KC774783)	0,136	0,136	0,131	0,122	0,122	0,121	0,122	0,125	0,126	0,129	0,110	0,106	0,113	0,115	0,111	0,101	0,115				
21. <i>A. albostrius</i> (Acc. GL1257912)	0,121	0,119	0,121	0,102	0,103	0,102	0,101	0,105	0,112	0,114	0,116	0,085	0,087	0,097	0,102	0,099	0,105	0,101	0,116	0,094	



Gambar 1. Pohon filogenetik Neighbor Joining (a) dan ML (b) tiga jenis Julang famili Bucerotidae yang direkonstruksi menggunakan model K2P dan Tamura-Nei *bootstrap* 1000 kali berdasarkan gen Cyt b mtDNA (849 pb) (*Neighbor Joining phylogenetic tree (a) and Maximum Likelihood (b) three Julang species of Bucerotidae family reconstructed using K2P and Tamura-Nei models with 1000 bootstrap based on mtDNA Cyt b gene (849 bp)*).

pada group I dan lima jenis *outgroup* berada pada group II. Kedua group tersebut dipisahkan oleh jarak genetik 0,0943 (9,43%). Jenis *Aceros cassidix* berkerabat lebih jauh (jarak genetik 0,0611 atau 6,11%) dengan dua jenis Julang lainnya (Julang Irian dan Julang Emas) dibandingkan sesamanya (jarak genetik 0,0250 atau 2,50%).

Rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan gen Cyt b (849 pb) mampu memisahkan baik antar tiga jenis Julang Indonesia maupun antar Julang Indonesia dengan beberapa jenis *outgroup*, dengan nilai *bootstraps* yang cukup tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan berdasarkan runutan gen Cyt b mtDNA memiliki kepercayaan yang cukup tinggi dalam pengelompokan spesies maupun genus Julang.

PEMBAHASAN

Frekuensi substitusi nukleotida tiga jenis Julang di Indonesia relatif rendah (Tabel 3). Pada jenis *R. undulatus* dan *A. cassidix* substitusi transisi ditemukan pada semua urutan kodon, namun pada *R. plicatus* hanya terjadi di kodon ketiga. Substitusi transversi terdapat tiap urutan kodon triplet semua jenis, kecuali pada kodon kesatu *R. plicatus*. Frekuensi substitusi cenderung hampir sama antara substitusi transisi dan substitusi transversi. Hasil ini menunjukkan bahwa frekuensi substitusi sinonim pada gen Cyt b lebih sering terjadi dari pada frekuensi substitusi non sinonim. Substitusi nukleotida yang terjadi pada posisi kodon ketiga umumnya bersifat sinonim (tidak menyebabkan perubahan aktivitas pada produk yang dikode oleh gen) dan substitusi nukleotida pada posisi kodon kesatu dan kedua bersifat non sinonim (Shen *et al.*, 2002; Bofkin dan Goldman, 2007). Substitusi transisi yang lebih besar dari substitusi transversi juga ditemukan pada genus Kakatua (Astuti *et al.*, 2006).

Menurut Irwin *et al.* (1991) perkiraan rasio substitusi transisi: substitusi transversi situs *silent* pada kebanyakan grup taksonomi (umumnya Mamalia) lebih rendah dibandingkan Kakatua. Tingginya rasio antara substitusi transisi dan substitusi transversi pada Kakatua dapat disebabkan oleh tingkat kecepatan substitusi transisi (tidak umum terjadi), dan atau lebih lambat dari kecepatan

yang biasa terjadi dari substitusi transversi (Birt *et al.*, 1992). Pada burung Albatros substitusi lebih sering terjadi pada situs sinonim (kodon ketiga dan leusin kodon pertama) (Nunn *et al.*, 1996).

Komposisi pasangan basa GC pada tiga jenis Julang Indonesia lebih tinggi dibandingkan AT. Komposisi basa kedua pasangan basa tersebut mirip dengan hasil penelitian Astuti *et al.* (2006) yang menemukan komposisi basa AT dan GC pada burung Kakatua berturut-turut 50,7% dan 49,3%. Pada genus *Lophura* (Galliformes) komposisi basa GC 40,5% dan AT 59,7% (Randi *et al.*, 2001). Persentase komposisi GC dan AT pada *Lophura* ini berbanding terbalik dengan semua jenis Julang. Pada gen DNA mitokondria lainnya (COI) komposisi AT<GC yaitu 48,9% dan 51,1% (Zein, 2018).

Tiap jenis Julang memiliki situs basa nukleotida spesifik sebagai karakter pembeda antar sesamanya. Menurut Waugh (2007) tiap jenis mempunyai sekuen nukleotida spesifik dengan hanya sedikit perbedaan intraspesies. Shen *et al.* (2002) menyebutkan bahwa sekuen nukleotida gen Cyt b dapat digunakan sebagai penanda genetik dalam menjelaskan keragaman genetik pada berbagai kelompok ras ayam.

Berdasarkan nilai jarak genetik didapatkan tiga jenis Julang terpisah cukup jelas. Pada Tabel 5 ditunjukkan bahwa jarak genetik minimum interspesies 0,0480 (4,80%), jarak genetik rata-rata 0,0525 (5,25%) ± 0,025, dan maksimum 0,0570 (5,70%). Jarak genetik yang ditemukan ini memiliki kecenderungan yang sama dengan hasil beberapa penelitian yang telah dilaporkan peneliti sebelumnya. Jarak genetik interspesies burung Kakatua berkisar antara 0,010 (1,0%) dan 0,228 (22,8%) dengan rata-rata 0,130 (13,0%) (Astuti *et al.*, 2006). Perbedaan sekuen gen mtDNA (ND2, ND3, dan Cyt b) antar sub spesies *Picoides tridactylus tridactylus* yang terdapat di Eurasia (Rusia) dan *P. tridactylus dorsalis* di Amerika Utara sebesar 4,0%, dan dinyatakan sebagai jenis berbeda dengan nama jenis *Picoides dorsalis* (Amerika) dan *P. tridactylus* (Eurasia) (Zink *et al.*, 2002). Gonzales *et al.* (2013) melaporkan bahwa jarak genetik rata-rata interspesies 59 jenis rangkong sebesar 17,0%.

Terdapatnya variasi runutan nukleotida gen Cyt b mtDNA telah mendorong para peneliti menggunakan gen ini untuk membandingkan jenis di dalam genus yang sama atau membandingkan genus di dalam famili yang sama (Randi, 1996). Jarak genetik interspesies tiga jenis Julang di atas lebih tinggi dibandingkan jarak genetik berdasarkan gen COI (746 pb). Jarulis *et al.* (2018) mengungkapkan bahwa jarak genetik rata-rata antar ketiga jenis tersebut 0,0234 (2,34%).

Berdasarkan hasil konstruksi ulang pohon filogeni diketahui tiga jenis Julang Indonesia membentuk kelompok sendiri dan terpisah dari jenis Bucerotidae lainnya (*outgroup*). Hasil ini sejalan dengan dua penelitian sebelumnya, yaitu Viseshakul *et al.* (2011) yang merekonstruksi pohon filogeni 54 jenis Bucerotidae dan Gonzales *et al.* (2013) menyusun ulang pohon filogeni 59 jenis Bucerotidae di dunia. Pada *clade* Julang (genus *Rhyticeros*) yang terbentuk (Gonzales *et al.*, 2013) juga tergabung di dalamnya *R. narcondami*, *R. subruficollis*, dan *R. everetti*. Hasil penelitian ini juga membuktikan bahwa gen Cyt b DNA mitokondria mampu memisahkan takson pada tingkat jenis Julang. Gen Cyt b dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk mempelajari keragaman jenis dan hubungan kekerabatan di antara kelompoknya (intraspesies) maupun kelompok lainnya (interspesies), karena berdasarkan posisi kodonnya yang mempunyai region yang lebih kekal (*conserve*) dan region yang lebih beragam (Farias *et al.*, 2001).

KESIMPULAN

Penelitian ini menemukan variasi interspesifik pada runutan nukleotida tiga jenis Julang Indonesia. *Rhyticeros undulatus* merupakan jenis yang memiliki nukleotida spesifik paling banyak dibandingkan *R. plicatus* dan *Aceros cassidix*. Substitusi sinonim lebih sering terjadi dari pada substitusi non sinonim dan substitusi transisi cenderung lebih banyak dibandingkan substitusi transversi. Ketiga jenis Julang Indonesia terpisah secara nyata dengan jarak genetik rata-rata interspesies di atas batas ambang pembeda spesies (4,0%) dan terpisah cukup jauh dengan jenis *outgroup* pada jarak genetik 9,43%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi (Surat Kontrak No. 061/SP2H/LT/DRPM/IV/2017) dan Seameo BIOTROP (Surat Kontrak Nomor 052.14/PSRP/SC/SPK-PNLT/III/2017) atas bantuan dana dalam penelitian ini. Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, LIPI, Taman Safari Indonesia, Taman Mini Indonesia Indah, Taman Margatsatwa Ragunan, dan Komisi Etik Hewan IPB atas izin dan persetujuan pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, D., Azuma, N., Suzuki and Higashi, S., 2006. Phylogenetic relationships within parrots (Psittacidae) inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences. *Zoological Sciences*, 23, pp. 191–198.
- Balasubramanian, P., Aruna, R., Anbarasu, C. and Kumar, E.S., 2011. Avian frugivory and seed dispersal of Indian Sandalwood *Santalum album* in Tamil Nadu, India. *Journal of Threatened Taxa*, 3, pp. 1775–1777.
- Birt, T.P., Friesen, v.L., Green, J.M., Monteverchi, W.A. and Davidson, W.S., 1992. Cytochrome-b sequence variation among parrots. *Hereditas*, 117, pp. 67–72.
- Bennett, E.L., Nyaoi, A.J. and Sompud, J., 1997. Hornbills Buceros spp. and culture in northern Borneo: Can they continue to co-exist?. *Biological Conservation*, 82, pp. 41–46.
- Bofkin, L. and Goldman, N., 2007. Variation in evolutionary processes at different codon positions. *Molecular Biology and Evolution*, 24, pp. 513–521.
- Broders, O., Osborne, T. and Wink, M., 2003. A mtDNA phylogeny of bustards (family Otididae) based on nucleotide sequences of the cytochrome b-gene. *Journal of Ornithology*, 144, pp. 176–185.
- Chaisurianun, S., Gale, G.A., Madsri, S. and Poonswad P., 2011. Food consumed by Great Hornbill and *Rhinoceros* Hornbill in tropical rainforest, Budungsari Padi National Park, Thailand. *The Raffles Bulletin of Zoology*, S24, pp. 123–135.
- Coates, B.J., Bishop, K.D. dan Gardner, D., 2000. *Panduan Lapangan Burung-Burung di Kawasan Wallacea: Sulawesi, Maluku, dan Nusa Tenggara*. Birdlife International-Indonesia Programme & Dove Publications. Indonesia.
- Delport, W., Ferguson, J.W.H. and Bloomer, P., 2002. Characterization and evolution of the mitochondrial DNA control region in hornbills (Bucerotiformes). *Journal of Molecular Evolution*, 54, pp. 794–806.
- Eaton, J.A., Balen, V., Brickle, N.W. and Rheindt, F.E., 2016. *Birds of the Indonesian archipelago: Greater Sundas and Wallacea*. Lynx edicions. Barcelona.
- Farias, I.P., Orti, G., Sampaio, I., Schneider, H. and Meyer, A., 2001. The Cytochrome b gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among Cichlid fishes. *Journal of Molecular Evolution*, 53, pp. 89–103.
- Gonzales, J.C.T., Sheldon, B.C., Collar, N.J. and Tobias, J.A., 2013. A comprehensive molecular phylogeny for the hornbills (Aves: Bucerotidae). *Molecular*

- Phylogenetics and Evolution*, 67, pp. 468–483.
- Graur, D. and Li, W.H., 2000. *Fundamental of Molecular Evolution*. Second edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland (US), p. 481.
- Haig, S.M. and Nordstrom, L.H., 1991. *Genetic Management of Small Population*. in: Dekker DJ, Krasny GR, Goff GR, Smith 116 CH, Gross DW, editor. Challenges in Conservation of Biological Resources. A Practitioner's Guides. San Fransisco: Westives Press.
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, pp. 95–98.
- Hebert, P.D.N., Stoeckle, M.Y., Zemlak, T.S. and Francis, C.M., 2004. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biol*, 2, p. e312.
- Irwin, D.M., Kocher, T.D. and Wilson, A.C., 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 32, pp. 128–144.
- Jarulis, Solihin, D.D., Mardiastuti, A. and Prasetyo, L.B., 2018. DNA barcode of seven Indonesian hornbills species (Aves: Bucerotidae) based on mitochondrial DNA cytochrome oxidase subunit I. *Hayati Journal of Biosciences*, 25(4), pp. 178–187.
- Kemp, A.C., 1988. The systematics and zoogeography of Oriental and Australasian hornbills (Aves: Bucerotidae). *Bonner Zoologische Beiträge*, 39, pp. 315–345.
- Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (KLHK), 2018. Peraturan Menteri Negara Lingkungan Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor P.106 tentang Perubahan Kedua Atas Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor P.20/MENLHK/SETJEN/KUM.1/6/2018 Tentang Jenis Tumbuhan dan Satwa Dilindungi. Peraturan Menteri Negara Lingkungan Lingkungan Hidup dan Kehutanan. Jakarta.
- Kimura, M., 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, pp. 111–120.
- Kinnaird, M.F. and O'Brien, T.G., 2007. *The Ecology and Conservation of Asian Hornbills: Farmers of the Forest*. University of Chicago press, Chicago, IL.
- Kinnaird, M.F., 1998. Evidence for effective seed dispersal by the Sulawesi Red-Knobbed Hornbill *Aceros cassidix*. *Biotropica*, 30, pp. 50–55.
- Kitamura, S., Yumoto, T., Noma, N., Chualua, P., Maruhashi, T., Wohandee, P. and Poonswad, P., 2008. Aggregated seed dispersal by wreathed hornbills at a roost site in moist evergreen forest of Thailand. *Ecological Research*, 23, pp. 943–952.
- Kocher, T.D., Thomas, W.K., Meyer, A., Edwards, S.V., Paabo, S., Villablanca, F.X. and Wilson, A.C., 1989. Dinamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86, pp. 6196–6200.
- Krajewski, C. and Fetzner, J.W., 1994. Phylogeny of cranes (Gruiformes: Gruidae) based on cytochrome b DNA sequences. *The Auk*, 111, pp. 351–365.
- MacKinnon, J., Philipps, K. dan Balen, B.V., 2010. *Burung-burung di Sumatera, Java, Bali dan Kalimantan (Termasuk Sabah, Sarawak dan Brunei Darussalam)*. Puslitbang Biologi LIPI. Bogor.
- Morin, P.A., Messier, J. and Woodruff, D.S., 1994. DNA extraction, amplification, and direct sequencing from hornbill feathers. *Journal of the Scientific Society*, 20, pp. 31–42.
- Nunn, G.B., Cooper, J., Jouventin, P., Robertson, C.J.R. and Robertson, G.G., 1996. Evolutionary relationships among extant Albatrosses (Procellariiformes: Diomedeidae) established from complete cytochrome-b gene sequences. *The Auk*, 113, pp. 784–801.
- Poonswad, P., Kemp, A. and Strange M., 2013. *Hornbills of the World*. Draco publishing and distribution. Thailand.
- Ralls, K., Ballou, J.D. and Templeton, A., 1988. Estimates of lethal equivalents and the cost of inbreeding in mammals. *Conservation Biology*, 2, pp. 185–193.
- Randi, E., 1996. A Mitochondrial cytochrome b phylogeny of the *Alectoris* partridges. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 6, pp. 214–227.
- Randi, E., Lucchini, V., Hennache, A., Rebecca, T., Kimball, R.T., Braun, E.L. and Ligon, J.D., 2001. Evolution of the mitochondrial DNA control region and cytochrome b genes and the inference of phylogenetic relationships in the avian genus *Lophura* (Galliformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 19, pp. 187–201.
- Rocha, T.C., Sequeira, F., Aleixo, A., Rêgo, P.S., Sampaio, I., Schneider, H. and Vallinoto, M., 2001. Molecular phylogeny and diversification of a widespread neotropical rainforest bird group: The Buff-throated Woodcreeper complex, *Xiphorhynchus guttatus/susurrans* (Aves: Dendrocopatidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 85, pp. 131–140.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis T., 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York. Cold Spring Harbour Laboratory Press.
- Schmitz, J., Ohme, M. and Zischler, H., 2002. The complete mitochondrial sequence of *Tarsius bancanus*: Evidence for an extensive nucleotide compositional plasticity of primate mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution*, 19, pp. 544–553.
- Shen, X.J., Ito, S., Mizutani, M. and Yamamoto, Y., 2002. Phylogenetic analysis in chicken breeds inferred from complete cytochrome b gene information. *Biochemical Genetics*, 40, pp. 129–141.
- Sibley, C.G. and Ahlquist, J., 1990. *Phylogeny and Classification of Birds: A Study in Molecular Evolution*. Yale University Press, New Haven.
- Srikwan, S. dan Woodruff, D.S., 1998. *DNA sequence variation and hornbill Conservation*. In: *The Asian Hornbills: Ecology and Conservation* (P. Poonswad, ed), pp. 69–82. Thai Studies in Biodiversity No. 2. Biotec & NSTDA, Bangkok.
- Sukmantoro, W., Irham, M., Novarino, W., Hasudungan, F., Kemp, N. and Muchtar, M., 2007. *Daftar Burung Indonesia no. 2*. IdOU. Bogor.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S., 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, pp. 2725–2729.
- Tavares, E.S., Alves, P.G., Miyaki, C.Y. and Baker, A.J., 2011. DNA barcode detects high genetic structure within neotropical bird species. *PLoS ONE*, 6, pp. e28543.
- Viseshakul, N., Charoennitkul, W., Kitamura, S., Kemp, A., Thong-Aree, S., Surapunpitak, Y., Poonswad, P. and Ponglikitmongkol, M., 2011. A phylogeny of frugivorous hornbills linked to the evolution of Indian plants within Asian rainforests. *Journal of Evolutionary Biology*, 24, pp. 1533–1545.
- Waugh, J., 2007. DNA barcoding in animal species: progress, potential and pitfalls. *BioEssays*, 29, pp. 188–197.
- Zein, M.S.A., 2018. Barkoding DNA burung Elang (Famili Accipitridae) di Indonesia. *Berita Biologi*, 17(2), pp. 165–173.
- Zink, R.M., Rohwer, S., Drovetski, S., Rachelle, C., Rago, R.C.B. and Farrell, S.L., 2002. Holarctic phylogeography and species limits of three-toed woodpeckers. *The Condor*, 104, pp. 167–170.

Pedoman Penulisan Naskah Berita Biologi

Berita Biologi adalah jurnal yang menerbitkan artikel kemajuan penelitian di bidang biologi dan ilmu-ilmu terkait di Indonesia. Berita Biologi memuat karya tulis ilmiah asli berupa makalah hasil penelitian, komunikasi pendek dan tinjauan kembali yang belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Masalah yang diliput harus menampilkan aspek atau informasi baru.

Tipe naskah

1. Makalah lengkap hasil penelitian (*original paper*)

Naskah merupakan hasil penelitian sendiri yang mengangkat topik yang *up to date*. Tidak lebih dari 15 halaman termasuk tabel dan gambar. Pencantuman lampiran seperlunya, namun redaksi berhak mengurangi atau meniadakan lampiran.

2. Komunikasi pendek (*short communication*)

Komunikasi pendek merupakan makalah hasil penelitian yang ingin dipublikasikan secara cepat karena hasil temuan yang menarik, spesifik dan baru, agar dapat segera diketahui oleh umum. Artikel yang ditulis tidak lebih dari 10 halaman. Hasil dan pembahasan boleh digabung.

3. Tinjauan kembali (*review*)

Tinjauan kembali merupakan rangkuman tinjauan ilmiah yang sistematis-kritis secara ringkas namun mendalam terhadap topik penelitian tertentu. Hal yang ditinjau meliputi segala sesuatu yang relevan terhadap topik tinjauan yang memberikan gambaran '*state of the art*', meliputi temuan awal, kemajuan hingga issue terkini, termasuk perdebatan dan kesenjangan yang ada dalam topik yang dibahas. Tinjauan ulang ini harus merangkum minimal 30 artikel.

Struktur naskah

1. Bahasa

Bahasa yang digunakan adalah Bahasa Indonesia atau Inggris yang baik dan benar.

2. Judul

Judul diberikan dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Judul ditulis dalam huruf tegak kecuali untuk nama ilmiah yang menggunakan bahasa Latin, Judul harus singkat, jelas dan mencerminkan isi naskah dengan diikuti oleh nama serta alamat surat menyurat penulis dan alamat email. Nama penulis untuk korespondensi diberi tanda amplop cetak atas (*superscript*).

3. Abstrak

Abstrak dibuat dalam dua bahasa, bahasa Indonesia dan Inggris. Abstrak memuat secara singkat tentang latar belakang, tujuan, metode, hasil yang signifikan, kesimpulan dan implikasi hasil penelitian. Abstrak berisi maksimum 200 kata, spasi tunggal. Di bawah abstrak dicantumkan kata kunci yang terdiri atas maksimum enam kata, dimana kata pertama adalah yang terpenting. Abstrak dalam Bahasa Inggris merupakan terjemahan dari Bahasa Indonesia. Editor berhak untuk mengedit abstrak demi alasan kejelasan isi abstrak.

4. Pendahuluan

Pendahuluan berisi latar belakang, permasalahan dan tujuan penelitian. Perlu disebutkan juga studi terdahulu yang pernah dilakukan terkait dengan penelitian yang dilakukan.

5. Bahan dan cara kerja

Bahan dan cara kerja berisi informasi mengenai metode yang digunakan dalam penelitian. Pada bagian ini boleh dibuat sub-judul yang sesuai dengan tahapan penelitian. Metoda harus dipaparkan dengan jelas sesuai dengan standar topik penelitian dan dapat diulang oleh peneliti lain. Apabila metoda yang digunakan adalah metoda yang sudah baku cukup ditulis sitasinya dan apabila ada modifikasi maka harus dituliskan dengan jelas bagian mana dan hal apa yang dimodifikasi.

6. Hasil

Hasil memuat data ataupun informasi utama yang diperoleh berdasarkan metoda yang digunakan. Apabila ingin mengacu pada suatu tabel/grafik/diagram atau gambar, maka hasil yang terdapat pada bagian tersebut dapat diuraikan dengan jelas dengan tidak menggunakan kalimat 'Lihat Tabel 1'. Apabila menggunakan nilai rata-rata maka harus menyertakan pula standar deviasinya.

7. Pembahasan

Pembahasan bukan merupakan pengulangan dari hasil. Pembahasan mengungkap alasan didapatkannya hasil dan arti atau makna dari hasil yang didapat tersebut. Bila memungkinkan, hasil penelitian ini dapat dibandingkan dengan studi terdahulu.

8. Kesimpulan

Kesimpulan berisi infomasi yang menyimpulkan hasil penelitian, sesuai dengan tujuan penelitian, implikasi dari hasil penelitian dan penelitian berikutnya yang bisa dilakukan.

9. Ucapan terima kasih

Bagian ini berisi ucapan terima kasih kepada suatu instansi jika penelitian ini didanai atau didukungan oleh instansi tersebut, ataupun kepada pihak yang membantu langsung penelitian atau penulisan artikel ini.

10. Daftar pustaka

Tidak diperkenankan untuk mensitis artikel yang tidak melalui proses *peer review*. Apabila harus menyitir dari "laporan" atau "komunikasi personal" dituliskan '*unpublished*' dan tidak perlu ditampilkan di daftar pustaka. Daftar pustaka harus berisi informasi yang *up to date* yang sebagian besar berasal dari *original papers* dan penulisan terbitan berkala ilmiah (nama jurnal) tidak disingkat.

Format naskah

1. Naskah diketik dengan menggunakan program Microsoft Word, huruf New Times Roman ukuran 12, spasi ganda kecuali Abstrak spasi tunggal. Batas kiri-kanan atas-bawah masing-masing 2,5 cm. Maksimum isi naskah 15 halaman termasuk ilustrasi dan tabel.

2. Penulisan bilangan pecahan dengan koma mengikuti bahwa yang ditulis menggunakan dua angka desimal di belakang koma. Apabila menggunakan Bahasa Indonesia, angka desimal ditulis dengan menggunakan koma (,) dan ditulis dengan menggunakan titik (.) bila menggunakan bahasa Inggris. Contoh: Panjang buku adalah 2,5 cm. Length of the book is 2.5 cm. Penulisan angka 1-9 ditulis dalam kata kecuali bila bilangan satuan ukur, sedangkan angka 10 dan seterusnya ditulis dengan angka. Contoh lima orang siswa, panjang buku 5 cm.

3. Penulisan satuan mengikuti aturan *international system of units*.

4. Nama takson dan kategori taksonomi ditulis dengan merujuk kepada aturan standar yang diajui. Untuk tumbuhan menggunakan *International Code of Botanical Nomenclature* (ICBN), untuk hewan menggunakan *International Code of Zoological Nomenclature* (ICZN), untuk jamur *International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plant* (ICNFP), *International Code of Nomenclature of Bacteria* (ICNB), dan untuk organisme yang lain merujuk pada kesepakatan Internasional. Penulisan nama takson lengkap dengan nama author hanya dilakukan pada bagian deskripsi takson, misalnya pada naskah taksonomi. Penulisan nama takson untuk bidang lainnya tidak perlu menggunakan nama author.

5. Tata nama di bidang genetika dan kimia merujuk kepada aturan baku terbaru yang berlaku.

6. Untuk range angka menggunakan en dash (-), contohnya pp.1565–1569, jumlah anakan berkisar 7–8 ekor. Untuk penggabungan kata menggunakan hyphen (-), contohnya: masing-masing.

7. Ilustrasi dapat berupa foto (hitam putih atau berwarna) atau gambar tangan (*line drawing*).

8. Tabel

Tabel diberi judul yang singkat dan jelas, spasi tunggal dalam bahasa Indonesia dan Inggris, sehingga Tabel dapat berdiri sendiri. Tabel diberi nomor urut sesuai dengan keterangan dalam teks. Keterangan Tabel diletakkan di bawah Tabel. Tabel tidak dibuat tertutup dengan garis vertikal, hanya menggunakan garis horizontal yang memisahkan judul dan batas bawah.

8. Gambar
Gambar bisa berupa foto, grafik, diagram dan peta. Judul gambar ditulis secara singkat dan jelas, spasi tunggal. Keterangan yang menyertai gambar harus dapat berdiri sendiri, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Gambar dikirim dalam bentuk .jpeg dengan resolusi minimal 300 dpi, untuk *line drawing* minimal 600dpi.
9. Daftar Pustaka
Situs dalam naskah adalah nama penulis dan tahun. Bila penulis lebih dari satu menggunakan kata ‘dan’ atau *et al.* Contoh: (Kramer, 1983), (Hamzah dan Yusuf, 1995), (Premachandra *et al.*, 1992). Bila naskah ditulis dalam bahasa Inggris yang menggunakan sitasi 2 orang penulis maka digunakan kata ‘and’. Contoh: (Hamzah and Yusuf, 1995). Jika sitasi beruntun maka dimulai dari tahun yang paling tua, jika tahun sama maka dari nama penulis sesuai urutan abjad. Contoh: (Anderson, 2000; Agusta *et al.*, 2005; Danar, 2005). Penulisan daftar pustaka, sebagai berikut:
 - a. **Jurnal**
Nama jurnal ditulis lengkap.
Agusta, A., Maehara, S., Ohashi, K., Simanjuntak, P. and Shibuya, H., 2005. Stereoselective oxidation at C-4 of flavans by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. isolated from a tea plant. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(12), pp.1565–1569.
 - b. **Buku**
Anderson, R.C. 2000. *Nematode Parasites of Vertebrates, Their Development and Transmission*. 2nd ed. CABI Publishing. New York. pp. 650.
 - c. **Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya.**
Kurata, H., El-Samad, H., Yi, T.M., Khammash, M. and Doyle, J., 2001. Feedback Regulation of the Heat Shock Response in *Escherichia coli*. *Proceedings of the 40th IEEE Conference on Decision and Control*. Orlando, USA pp. 837–842.
 - d. **Makalah sebagai bagian dari buku**
Sausan, D., 2014. Keanekaragaman Jamur di Hutan Kabungolor, Tau Lumbis Kabupaten Nunukan, Kalimantan Utara. Dalam: Irham, M. & Dewi, K. eds. *Keanekaragaman Hayati di Beranda Negeri*. pp. 47–58. PT. Eaststar Adhi Citra. Jakarta.
 - e. **Thesis, skripsi dan disertasi**
Sundari, S., 2012. Soil Respiration and Dissolved Organic Carbon Efflux in Tropical Peatlands. *Dissertation*. Graduate School of Agriculture. Hokkaido University. Sapporo. Japan.
 - f. **Artikel online.**
Artikel yang diunduh secara online ditulis dengan mengikuti format yang berlaku untuk jurnal, buku ataupun thesis dengan dilengkapi alamat situs dan waktu mengunduh. Tidak diperkenankan untuk mensitis artikel yang tidak melalui proses peer review misalnya laporan perjalanan maupun artikel dari laman web yang tidak bisa dipertangung jawabkan kebenarannya seperti wikipedia.
Himman, L.M., 2002. A Moral Change: Business Ethics After Enron. San Diego University Publication. <http://ethics.sandiego.edu/LMH/oped/Enron/index.asp>. (accessed 27 Januari 2008) bila naskah ditulis dalam bahasa inggris atau (diakses 27 Januari 2008) bila naskah ditulis dalam bahasa indonesia

Formulir persetujuan hak alih terbit dan keaslian naskah

Setiap penulis yang mengajukan naskahnya ke redaksi Berita Biologi akan diminta untuk menandatangani lembar persetujuan yang berisi hak alih terbit naskah termasuk hak untuk memperbanyak artikel dalam berbagai bentuk kepada penerbit Berita Biologi. Sedangkan penulis tetap berhak untuk menyebarkan edisi cetak dan elektronik untuk kepentingan penelitian dan pendidikan. Formulir itu juga berisi pernyataan keaslian naskah yang menyebutkan bahwa naskah adalah hasil penelitian asli, belum pernah dan tidak sedang diterbitkan di tempat lain serta bebas dari konflik kepentingan.

Penelitian yang melibatkan hewan

Setiap naskah yang penelitiannya melibatkan hewan (terutama mamalia) sebagai obyek percobaan/penelitian, wajib menyertakan ‘ethical clearance approval’ terkait animal welfare yang dikeluarkan oleh badan atau pihak berwenang.

Lembar ilustrasi sampul

Gambar ilustrasi yang terdapat di sampul jurnal Berita Biologi berasal dari salah satu naskah yang dipublikasi pada edisi tersebut. Oleh karena itu, setiap naskah yang ada ilustrasinya diharapkan dapat mengirimkan ilustrasi atau foto dengan kualitas gambar yang baik dengan disertai keterangan singkat ilustrasi atau foto dan nama pembuat ilustrasi atau pembuat foto.

Proofs

Naskah proofs akan dikirim ke penulis dan penulis diwajibkan untuk membaca dan memeriksa kembali isi naskah dengan teliti. Naskah proofs harus dikirim kembali ke redaksi dalam waktu tiga hari kerja.

Naskah cetak

Setiap penulis yang naskahnya diterbitkan akan diberikan 1 eksemplar majalah Berita Biologi dan *reprint*. Majalah tersebut akan dikirimkan kepada *corresponding author*

Pengiriman naskah

Naskah dikirim secara online ke website berita biologi: http://e-journal.biologi.lipi.go.id/index.php/berita_biologi

Alamat kontak

Redaksi Jurnal Berita Biologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Centre, Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong 16911
Telp: +61-21-8765067, Fax: +62-21-87907612, 8765063, 8765066,
Email: berita.biologi@mail.lipi.go.id
jurnalberitabiologi@yahoo.co.id atau
jurnalberitabiologi@gmail.com

BERITA BIOLOGI

Vol. 18 (1)

Isi (*Content*)

April 2019

P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

HUBUNGAN SEBARAN MAMALIA KECIL DENGAN KONDISI LINGKUNGAN DI HULU DAS CITANDUY, JAWA BARAT [Relationship between Small Mammals Distribution and their Environment at Upper Citanduy watershed, West Java]

Maharadatunkamsi 1 – 12

PATOGENISITAS CENDAWAN *Lecanicillium* sp. PTN01 TERHADAP PENGGEREK TONGKOL JAGUNG *Helicoverpa armigera* (HUBNER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) [Pathogenicity of *Lecanicillium* sp. PTN01 Fungus against Corn Earworm *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae)]

Sempurna Ginting, Teguh Santoso Yayı Munara K, Ruly Anwar dan Lisdari Sudirman 13 – 24

PARAMETER POPULASI IKAN BETOK (*Anabas testudineus* (BLOCH, 1792)) DI EKOSISTEM PAPARAN BANJIR SUNGAI MUSI, Lubuk Lampam [Population Parameter of (*Anabas testudineus* (Bloch, 1792)) Infloodplains Ecosystem of Musi River, Lubuk Lampam]

Syarifah Nurdawati, Zulkarnaen Fahmi dan Freddy Supriyadi 25 – 35

PENGARUH SUGARCANE STREAK MOSAIC VIRUS TERHADAP ANATOMI DAN KADAR KLOROFIL DAUN BEBERAPA AKSESİ TEBU (*Sacharrum officinarum*) [Effect of Sugarcane Streak Mosaic Virus Inoculation on Anatomy and Chlorophyll Level of Leaf Some Accessions Sugarcane (*Sacharrum officinarum*)]

Ruly Hamida dan Cece Suhara 37 – 45

KONDISI PLANKTON PADA TAMBAK UDANG WINDU (*Penaeus monodon* FABRICIUS) DENGAN SUBSTRAT BERBEDA [Plankton Condition in Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) Pond with Different Substrates]

Erfan A. Hendrajat dan Andi Sahrijanna 47 – 57

PENINGKATAN SINTASAN LARVA IKAN KERAPU SUNU (*Plectropomus leopardus*) MELALUI MANAJEMEN PEMELIHARAAN YANG SESUAI [Increasing Survival Rate of Coral Trout (*Plectropomus leopardus*) Larvae by Using Properly Larval Rearing Management]

Daniar Kusumawati, Yasmina Nirmala Asih dan Ketut Maha Seti 59 – 70

STRUKTUR TULANG DAN OTOT SIRIP KAUDAL KOMPLEKS *Andamia heteroptera* Bleeker (IKAN AMFIBI) [Skeleton and Muscular Structure of Caudal Fin Complex *Andamia Heteroptera* Bleeker (Amphibious Fish)]

Gatot Nugroho Susanto 71 – 76

ESTIMASI HERITABILITAS DAN RESPONSI SELEKSI IKAN NILA HITAM (*Oreochromis niloticus*) DI TAMBAK [Heritability Estimates and Response to selection Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Brackish Water Pond]

Adam Robisalmi, Priadi Setyawan, dan R.R. Sri Pudji Sinarni Dewi 77 – 86

SELEKSI BERBANTUKAN MARKA MOLEKULER UNTUK PEMBENTUKAN CALON VARIETAS PADI TURUNAN ESENSIAL SITU PATENGANG [Marker Assisted Selection for Developing Candidate Essential Rice Variety of Situ Patenggang]

Siti Yuryiah, Dwinita Wikan Utami, Siti Nurani, Anggiani Nasution, Santoso, Puji Lestari, Ahmad Dadang dan Suwarno 87 – 97

VARIASI INTERSPESIFIK JULANG (AVES: BUCEROTIDAE) INDONESIA BERDASARKAN GEN CYTOCHROME-B DNA MITOKONDRIA [Interspecific Variation of Indonesian Hornbill (Aves: Bucerotidae) Based on Mitochondrial DNA Cytochrome-b]

Jarulis, Dedy Duryadi Solihin, Ani Mardiaستuti, Lilik Budi Prasetyo 99 – 108

KOMUNIKASI PENDEK (SHORT COMMUNICATION)

THE MACROFUNGI DIVERSITY AND THEIR POTENTIAL UTILIZATION IN TANGALE NATURE RESERVE GORONTALO PROVINCE [Keragaman Jenis Jamur Makro dan Peluang Pemanfaatannya di Cagar Alam Tangale Provinsi Gorontalo]

Diah Irawati Dwi Arini, Margareta Christita, dan Julianus Kinho 109 – 115

KAJIAN PERSEBARAN DAN POTENSI JATI PASIR (*Guettarda speciosa* L.) DI INDONESIA [The Study on Distribution and Potential Beach Gardenia (*Guettarda speciosa* L.) in Indonesia]

Inggit Puji Astuti dan Ratna Susandarini 117 – 123