

Phylogenetic Analysis of the Dipterocarpaceae Family in the Peatland Vegetation of Danau Sentarum National Park Using In Silico Approaches Based on MatK Sequences

Rifka Elsyah Suhardi*, Hayatul Fajri, Arielda Putri Aditya, Filardha Azelia Vallahayil

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tanjungpura
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Bansir Laut, Kec. Pontianak Tenggara, Kota Pontianak, Kalimantan Barat

*Corresponding author: f1071211022@student.untan.ac.id

Abstract

Indonesia has the largest tropical peatlands in the world. Peatlands have a high diversity of tree species, many of which are endemic and not found in other forest types. On the other hand, peatlands are under pressure from human activities. The dominant family in the peat vegetation of Danau Sentarum National Park is Dipterocarpaceae, which has good quality and high economic value. The study aims to analyze the phylogenetics of Dipterocarpaceae family tree species in silico in order to understand the kinship relationships among tree species of the Dipterocarpaceae family that dominate in the area. This phylogenetic analysis can help in efforts to conserve genetic diversity and restore peatlands. The study used secondary data in the form of *matK* gene sequences in silico. The results of phylogeny tree construction consist of in group and out group. The in-group consists of 17 tree species forming 11 clades, while the out-group consists of a single species, *Bretschneidera sinensis*. Based on branch positions and bootstrap values, the closest relationship within the in-group is found in the lime tree species, which is grouped in clade 4.

Keywords : Dipterocarpaceae, Phylogenetics, matK, in Silico

Abstrak

Indonesia mempunyai lahan gambut tropis yang terluas di dunia. Lahan gambut memiliki keanekaragaman jenis pohon yang tinggi dan banyak diantaranya adalah endemik yang tidak ditemukan pada tipe hutan lain. Di sisi lain, lahan gambut mengalami tekanan dari ancaman aktivitas manusia. Famili yang mendominasi di vegetasi gambut Taman Nasional Danau Sentarum adalah Dipterocarpaceae yang memiliki kualitas bagus dan nilai ekonomi yang tinggi. Penelitian bertujuan untuk menganalisis filogenetik jenis pohon famili Dipterocarpaceae secara in silico agar dapat memahami hubungan kekerabatan di antara jenis-jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae yang mendominasi di kawasan tersebut. Analisis filogenetik ini dapat membantu dalam upaya konservasi keanekaragaman genetik dan restorasi lahan gambut. Penelitian menggunakan data sekunder berupa sekuen gen *matK* secara in silico. Hasil konstruksi pohon filogeni terdiri dari kelompok *in group* dan *out group*. Kelompok *in group* terdiri dari 17 jenis pohon yang membentuk 11 klad, sedangkan *out group* terdiri dari 1 jenis *Bretschneidera sinensis*. Berdasarkan letak cabang dan nilai bootstrap, kekerabatan terdekat pada kelompok *in group* dimiliki oleh jenis pohon kapur dengan kelansau di dalam klad 4.

Kata Kunci : *Dipterocarpaceae*, *Filogenetik*, *matK*, *in Silico*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan kekayaan sumber daya alam berasal dari hutan. Indonesia mempunyai lahan gambut tropis yang terluas di dunia. Luas total lahan gambut yang dimiliki Indonesia berada diposisi ke-4 di dunia dengan luas 14,9 juta ha dibawah Kanada, Rusia, dan Amerika Serikat. Cadangan karbon lahan gambut di Indonesia mencapai sekitar 8-14% dari cadangan karbon lahan gambut yang ada di dunia yaitu sebesar 46 giga ton [1]. Lahan gambut memberikan banyak manfaat karena dapat menyajikan habitat berbagai flora dan fauna yang hanya dapat ditemukan pada tipe ekosistem ini, penghasil hutan kayu dan non kayu, menyimpan karbon, dan mencadangkan air [2]. Ekosistem hutan gambut tersusun dari vegetasi yang terdiri atas jenis-jenis tumbuhan yang daunnya selalu hijau sepanjang waktu. Sebagian besar flora yang ada di hutan gambut telah mengalami perubahan bentuk morfologi tubuh tumbuhan agar dapat menyesuaikan kebutuhannya terhadap lingkungannya seperti memiliki akar napas, agar dapat memperoleh oksigen di lingkungan hutan gambut yang cenderung selalu tergenang oleh air [3]. Bentuk dan sifat tumbuhan dapat dipengaruhi oleh kondisi tanah yang lembab dan sering tergenang di lantai hutan [4].

[5] berhasil mengidentifikasi 107 jenis pohon dari 48 famili yang ada di hutan gambut Taman Nasional Danau Sentarum (TNDS) di Kalimantan Barat. Pada hutan gambut tersebut memiliki keanekaragaman jenis pohon yang relatif tinggi. Jenis-jenis pohon tersebut sebagian besar tidak dapat ditemukan di tipe hutan lain karena bersifat endemik. Sebagian besar jenis pohon di Danau Sentarum ini memiliki penampakan yang berbeda dengan jenis pohon yang terdapat di luar kawasan ini. Famili yang telah berhasil diidentifikasi dengan jumlah spesies paling banyak adalah Dipterocarpaceae dengan 12 jenis yaitu *Cotylelobium burckii*, *Cotylelobium melanoxyton*,

Dipterocarpus borneensis, *Dryobalanops oblongifolia*, *Shorea albida*, *Shorea balangeran*, *Shorea pachyphylla*, *Shorea platycarpa*, *Shorea teysmanniana*, *Shorea uliginosa*, *Vatica umbonata* dan *Vatica* sp. Selain itu, juga ditemukan jenis pohon dari famili lain seperti Lauraceae, Myrtaceae, Fabaceae, Annonaceae, Euphorbiaceae, Dilleniaceae, Lamiaceae, Marchantiaceae. Di samping itu, Taman Nasional Danau Sentarum (TNDS) seringkali mengalami tekanan dari aktivitas masyarakat yang tinggal di sekitar kawasan tersebut. Aktivitas ini mencakup pembukaan lahan hutan gambut di tepian sungai untuk diubah menjadi perkebunan, serta bencana kebakaran hutan yang sering terjadi baik di dalam maupun di luar kawasan taman nasional tersebut [6].

Dipterocarpaceae merupakan jenis pohon dengan kualitas kayu yang baik dan daya tahan yang kuat, sehingga menjadi kelompok kayu perdagangan utama untuk keperluan bahan bangunan. Famili Dipterocarpaceae juga merupakan kelompok famili terbanyak di pulau Kalimantan dan Sumatera dibandingkan dengan semua famili yang ada di Indonesia [7]. Jenis-jenis ini dapat mengalami penurunan jumlah populasi yang drastis apabila di eksploitasi dan membutuhkan waktu yang lama untuk pemulihan menjadi hutan primer. Dipterocarpaceae memiliki nilai ekonomi yang tinggi pada kayu yang dihasilkannya, sehingga mendominasi perdagangan kayu internasional, terutama di kawasan Asia Tenggara. Beberapa spesies dari famili Dipterocarpaceae telah tercatat dalam Red List IUCN sebagai spesies yang terancam punah akibat banyak dieksploitasi [8].

DNA barcode merupakan metode identifikasi yang menggunakan pendekatan molekuler, terutama berdasarkan analisis potongan-potongan pendek dari DNA [9]. Metode ini membantu dalam pendataan terhadap keragaman jenis dan klasifikasi taksonomi [10]. DNA barcode memiliki keunggulan dalam kemampuannya

untuk karakterisasi dan mengidentifikasi berbagai spesies yang sulit dibedakan melalui karakter morfologi [11]. Gagasan utama dalam studi filogenetik untuk menggunakan sekuens DNA adalah basa nukleotida yang mengalami perubahan dari waktu ke waktu. Oleh sebab itu, laju evolusi dapat diperkirakan dan hubungan evolusi antar kelompok organisme dapat direkonstruksi. Filogenetik bertujuan untuk melakukan rekonstruksi hubungan kekerabatan antar organisme dan dapat mengindikasikan estimasi perbedaan yang muncul dari satu garis nenek moyang dengan generasi berikutnya [12].

Salah satu sumber karakter DNA untuk analisis filogenetik adalah gen dari genom *matK*. Gen *matK* dijadikan barcode untuk tanaman terestrial karena menjadi salah satu gen pengkode yang paling variatif pada Angiospermae. Gen *matK* sebagai gen pengkode memiliki laju evolusi yang sangat tinggi sehingga dapat digunakan dalam rekonstruksi filogenetik, terutama pada tingkat kingdom dan famili, dan kadang diterapkan pada tingkat genus, spesies, dan sub spesies [13]. Gen *MatK* adalah gen yang mengkode enzim maturase subunit K. Panjang daerah gen *matK* dapat menghasilkan sekitar 1500 bp (pasangan basa). Gen *matK* digunakan dalam banyak studi filogenetik karena akurasinya lebih spesifik pada tingkat spesies. Dalam sistematika tanaman, *matK* muncul sebagai gen yang berharga karena memiliki sinyal filogenetik yang tinggi dibandingkan gen lain [14].

Analisis filogenetik adalah analisis yang berfungsi untuk menyusun hubungan filogenetik yang umumnya direpresentasikan dalam suatu struktur berbentuk pohon dengan cabang-cabang yang disebut sebagai pohon filogeni [15]. Pohon filogeni adalah silsilah garis keturunan makhluk hidup yang direpresentasi secara visual dengan cabang-cabang menyerupai struktur pohon [16]. Penggunaan data molekuler seperti DNA atau protein pada analisis filogenetik dapat memberikan gambaran hubungan evolusi tiap spesies [12].

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan filogenetik spesies pohon famili Dipterocarpaceae di vegetasi gambut Taman Nasional Danau Sentarum berdasarkan data urutan gen *maturase K* (*matK*). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dalam bidang taksonomi dan mendukung strategi konservasi genetik untuk pelestarian spesies Dipterocarpaceae di kawasan gambut.

METODE PENELITIAN

Bahan. Penelitian ini menggunakan data sekunder berupa sekuens gen *matK* jenis-jenis pohon penyusun vegetasi gambut di Taman Nasional Danau Sentarum (Tabel 1). Sampel penelitian terdiri dari 8 jenis pohon yaitu resak durian (*Cotylelobium burckii* Heim.), giam (*Cotylelobium melanoxyloides* (Hook.f.) Pierre), keruing (*Dipterocarpus borneensis* V. Sl.), kelansau (*Dryobalanops oblongifolia* Dyer), kawi (*Shorea albida* Symington), keruing (*Dipterocarpus borneensis* V. Sl.), kelansau (*Dryobalanops oblongifolia* Dyer), mabang (*Shorea pachyphylla* Ridley ex Symington), menungau (*Vatica* sp.), resak (*Vatica umbonata* (Hook.f.) Burck.), dan kawi (*Shorea albida* Symington) [5]. Rekonstruksi filogenetik pada penelitian ini menambahkan spesies lain dari famili Dipterocarpaceae yang juga ditemukan di Kalimantan Barat [17]. Spesies *Bretschneidera sinensis* dari famili Akaniaceae merupakan sister grup dalam ordo Malvales digunakan sebagai out group pada penelitian ini.

Analisis Bioinformatika. Sekuens maturase K (*MatK*) jenis-jenis pohon di vegetasi gambut di unduh melalui bank gen NCBI dengan format FASTA pada laman <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (Tabel 2). Sebanyak 18 sekuens DNA yang diunduh dari bank gen yang terdiri dari 17 sekuens jenis pohon sebagai kelompok *in-group* dan 1 sekuens out-group yaitu spesies *Bretschneidera sinensis*. Semua sekuens DNA yang telah terunduh dianalisis dengan melakukan pada software

MEGA 11 untuk analisis komposisi nukleotida, analisis *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), analisis matriks jarak genetik model *Maximum Composite Likelihood*, kemudian pembuatan pohon filogenetik dengan model *Neighbor-Joining* sebanyak 500 ulangan pada uji bootstrap.

HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini mengambil sebanyak 8 sampel jenis pohon dari famili

Dipterocarpaceae di vegetasi gambut Taman Nasional Danau Sentarum (Tabel 1). Penelitian ini menggunakan data sekuen *matK* dari sampel, serta data tambahan dari pohon-pohon yang ditemukan di Kalimantan Barat dan out group yang diperoleh dengan mengunduh dari database NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) (Tabel 2).

Tabel 1. Sampel jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae pada penyusun vegetasi gambut di Taman Nasional Danau Sentarum (TNDS)

No	Famili	Nama Lokal	Nama Ilmiah
1.	Dipterocarpaceae	Resak durian	<i>Cotylelobium burckii</i> Heim.
2.		Giam	<i>Cotylelobium melanoxylon</i> (Hook.f.) Pierre
3.		Keruing	<i>Dipterocarpus borneensis</i> V. Sl.
4.		Kelansau	<i>Dryobalanops oblongifolia</i> Dyer
5.		Kawi	<i>Shorea albida</i> Symington
6.		Mabang	<i>Shorea pachyphylla</i> Ridley ex Symington
7.		Menungau	<i>Vatica</i> sp.
8.		Resak	<i>Vatica umbonata</i> (Hook.f.) Burck.

Tabel 2. Jenis-jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae dan *out group* dengan nomor aksesori penanda gen *matK* dan tempat asal sekuen DNA

Nama Lokal	Nama Ilmiah	Tempat asal sekuen DNA	Nomor Aksesori
Mersewa	<i>Anisoptera costata</i>	Taman Nasional Bukit Duabelas, Jambi	MG910368.1
Meranti putih	<i>Anthoshorea bracteolata</i>	Taman Nasional Bukit Duabelas, Jambi	MG910357.1
Resak durian	<i>Cotylelobium burckii</i> Heim.	Belait, Brunei Darussalam	KY972911.1
Giam	<i>Cotylelobium melanoxylon</i> (Hook.f.) Pierre	Lambir hills National Park, Malaysia	LC737119.1
Keruing	<i>Dipterocarpus borneensis</i> V. Sl.	Belait, Brunei Darussalam	KY972916.1
Kapur	<i>Dryobalanops aromatica</i>	Kepong, Malaysia	AB006377.1
Kelansau	<i>Dryobalanops oblongifolia</i> Dyer	Kepong, Malaysia	AB006378.1
Merawan	<i>Hopea dryobalanooides</i>	Indonesia	MH332601.1
Kawi	<i>Shorea albida</i>	Belait, Brunei Darussalam	KY972975.1
Tengkawang tangga	<i>Shorea beccariana</i>	Lambir hills National Park, Malaysia	LC737143.1

Engkabang layar	<i>Shorea fallax</i>	Fukuoka , Jepang	AB295891.1
Meranti kuning	<i>Shorea hopeifolia</i>	Lambir hills National Park, Malaysia	LC737155.1
Meranti balau	<i>Shorea laevis</i>	Indonesia	MH332600.1
Mabang	<i>Shorea pachyphylla</i> Ridley ex Symington	Belait, Brunei Darussalam	KY973048.1
Tengkawang	<i>Shorea seminis</i>	FRIM Arboretum, Malaysia	AB246450.1
Menungau	<i>Vatica</i> sp.	Temburong, Brunei Darussalam	MF418813.1
Resak	<i>Vatica umbonata</i> (Hook.f.) Burck.	Taman Nasional Gunung Palung, Indonesia	MH332519.1
-	<i>Bretschneidera sinensis</i>	Guangdong, China	JF448511.1

Analisis Komposisi Nukleotida

Hasil analisis komposisi nukleotida berdasarkan sekuen matK sampel yang diteliti menunjukkan bahwa kandungan AT

lebih tinggi dibandingkan kandungan GC pada jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae (Tabel 3).

Tabel 3. Komposisi nukleotida, kandungan AT dan GC dari sekuen gen matK pada jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae dan *out group*

Sampel		T(U)	C	A	G	AT	GC	TOTAL
Nama Lokal	Nama Ilmiah							
Mersewa	<i>Anisoptera costata</i>	35,62	17,61	30,72	16,05	66,34	33,66	511
Meranti putih	<i>Anthoshorea bracteolata</i>	36,40	17,81	29,35	16,44	65,75	34,25	511
Resak durian	<i>Cotylelobium burckii</i> Heim.	34,69	16,55	31,18	17,57	65,87	34,13	1764
Giam	<i>Cotylelobium melanoxyton</i> (Hook.f.) Pierre	36,67	17,33	30,33	15,67	67,00	33,00	600
Keruing	<i>Dipterocarpus borneensis</i> V. Sl.	34,98	16,51	30,60	17,91	65,58	34,42	1781
Kapur	<i>Dryobalanops aromatica</i>	37,49	17,21	30,27	15,03	67,75	32,25	1011
Kelansau	<i>Dryobalanops oblongifolia</i> Dyer	37,49	17,21	30,27	15,03	67,75	32,25	1011
Merawan	<i>Hopea dryobalanoides</i>	36,96	17,38	30,22	15,43	67,19	32,81	771
Alan	<i>Shorea albida</i> Symington	35,12	16,26	31,00	17,62	66,12	33,88	1771
Tengkawang tangga	<i>Shorea beccariana</i>	36,33	17,17	30,50	16,00	66,83	33,17	600
Engkabang layar	<i>Shorea fallax</i>	35,79	16,58	30,88	16,75	66,67	33,33	1791
Meranti kuning	<i>Shorea hopeifolia</i>	37,00	16,83	30,00	16,17	67,00	33,00	600
Meranti balau	<i>Shorea laevis</i>	36,19	17,77	30,35	15,69	66,54	33,46	771

Mabang	<i>Shorea pachyphylla</i> Ridley ex Symington	37,55	17,70	30,04	14,71	67,59	32,41	972
Tengkawang terendak	<i>Shorea seminis</i>	35,10	16,25	31,04	17,61	66,14	33,86	1772
Menungau	<i>Vatica sp.</i>	35,95	18,65	29,33	16,07	65,28	34,72	815
Resak	<i>Vatica umbonata</i> (Hook.f.) Burck.	35,30	17,72	31,08	15,89	66,39	33,61	711
-	<i>Bretschneidera sinensis</i>	30,69	16,55	35,40	17,36	66,09	33,91	870
	Average	35,67	16,96	30,79	16,57	66,55	33,45	1035,1667

Analisis Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

Hasil pensejajaran sekuen gen *matK* dari 17 jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae menunjukkan sebanyak 48 sites Single Nucleotide Polymorphism (SNP) pada

(Tabel 4), yaitu site 1, 19, 20, 59, 67, 69, 86, 89, 94, 137, 138, 143, 144, 147, 152, 155, 157, 174, 180, 184, 198, 202, 247, 249, 258, 276, 289, 298, 299, 315, 320, 322, 347, 348, 352, 370, 376, 378, 380, 389, 392, 400, 409, 421, 428, 430, 431, dan 466..

Tabel 4. Single Nucleotide Polymorphism (SNP) sekuen gen *matK* pada jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae (bagian 1): Data site 1-220

Sampel	Nucleotide Base Site															
	1	19	20	59	67	69	86	89	94	137	138	143	144	147	152	155
Mersewa	A	T	A	C	C	C	C	C	G	G	C	C	G	G	C	T
Meranti putih	G	T	G	C	C	C	C	A	G	G	C	C	G	G	T	T
Resak durian	A	T	G	T	C	C	C	C	G	G	C	C	G	G	T	T
Giam	A	T	G	T	C	C	C	C	G	G	C	C	G	G	T	T
Keruing	G	C	G	C	C	C	C	C	G	G	G	C	G	G	T	T
Kapur	G	T	G	C	C	C	C	C	G	A	C	T	A	G	T	T
Kelansau	G	T	G	C	C	C	C	C	G	A	C	T	A	G	T	T
Merawan	G	T	G	C	C	T	C	C	A	G	C	C	G	A	T	G
Alan	G	T	G	C	C	C	C	C	G	G	C	C	G	G	T	T
Tengkawang tangga	G	T	G	C	C	C	C	C	G	G	C	C	G	G	T	T
Engkabang layar	G	T	G	C	C	C	C	C	G	G	C	C	G	G	T	T
Meranti kuning	G	T	G	C	T	C	C	C	G	G	C	C	G	G	T	T
Meranti balau	G	T	G	C	C	C	C	C	G	G	C	C	G	G	T	T
Mabang	G	T	G	C	C	C	C	C	G	G	C	A	T	G	T	T
Tengkawang	G	T	G	C	C	C	C	C	G	G	C	C	G	G	T	T
Menungau	A	T	G	C	C	C	C	C	G	A	C	C	G	G	T	T
Resak	A	T	G	C	C	C	A	C	G	A	C	C	G	G	T	T

Sampel	Nucleotide Base Site															
	157	174	180	184	198	202	247	249	258	276	289	298	299	315	320	322
Mersewa	G	G	T	G	C	T	G	C	A	A	T	C	G	A	T	C
Meranti putih	G	G	C	G	T	T	T	C	A	A	T	C	G	C	T	C
Resak durian	G	G	T	G	C	T	G	C	A	A	T	C	C	A	T	C
Giam	G	A	T	G	C	T	G	C	A	A	T	C	C	A	G	C
Keruing	G	G	C	G	T	T	G	T	G	C	C	C	G	A	T	C
Kapur	T	G	C	T	T	T	G	C	A	A	T	C	G	A	T	C
Kelansau	T	G	C	T	T	T	G	C	A	A	T	C	G	A	T	C
Merawan	G	G	C	G	T	T	T	T	A	A	T	C	G	C	T	C
Alan	G	G	C	G	T	T	T	C	A	A	T	C	G	A	T	C
Tengkawang tangga	G	A	C	G	T	T	T	C	A	A	T	C	G	A	T	C
Engkabang layar	G	G	C	G	T	T	T	C	A	A	T	C	G	A	T	C
Meranti kuning	G	G	C	G	T	T	T	C	A	A	T	T	G	A	T	T
Meranti balau	G	G	C	G	T	T	T	C	A	A	A	C	G	A	T	C
Mabang	G	G	C	G	T	A	T	C	A	A	T	C	G	A	T	C

Tengkawang	G	A	C	G	T	T	T	C	A	A	T	C	G	A	T	C
Menungau	G	A	T	G	C	T	G	C	A	A	T	C	C	A	G	C
Resak	G	A	T	G	C	T	G	C	A	A	T	C	C	A	T	C

Sampel	Nucleotide Base Site															
	347	348	352	370	376	378	380	389	392	400	409	421	428	430	431	466
Mersewa	C	G	C	A	G	C	C	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Meranti putih	C	G	T	A	T	C	C	C	G	T	C	T	G	A	C	T
Resak durian	C	G	C	C	T	C	C	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Giam	C	G	C	C	T	C	C	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Keruing	C	G	C	A	T	C	C	C	A	T	G	T	T	A	C	G
Kapur	C	G	C	A	T	C	A	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Kelansau	C	G	C	A	T	C	A	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Merawan	C	G	T	A	T	A	C	A	G	T	A	C	G	G	C	T
Alan	A	A	C	A	T	C	A	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Tengkawang tangga	A	A	C	A	T	C	A	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Engkabang layar	A	A	C	A	T	C	A	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Meranti kuning	C	G	C	A	T	C	C	C	G	C	G	T	G	A	A	T
Meranti balau	A	A	C	A	T	C	A	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Mabang	C	G	C	A	T	C	C	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Tengkawang	A	A	C	A	T	C	A	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Menungau	C	G	C	A	T	C	C	C	G	T	G	T	G	A	C	T
Resak	C	G	C	A	T	C	C	C	G	T	G	T	G	A	C	T

Analisis Jarak Genetik

Jarak genetik dapat memvalidasi tingkat kedekatan genetik antara sampel-sampel atau antara sampel dan populasi. Pada penelitian ini, analisis jarak genetik dilakukan dengan menggunakan aplikasi MEGA 11 dengan

model *Maximum Composite Likelihood*. Hasil analisis jarak genetik berdasarkan gen *MatK* menunjukkan bahwa sampel *Bretschneidera sinensis* (*out group*) memiliki jarak genetik paling kecil dengan resak (*Vatica umbonata*) (0.8864) (Gambar 1).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
1. JF448511.1 <i>Bretschneidera sinensis</i>																			
2. MG910368.1 <i>Anisoptera costata</i>	0.8897																		
3. MG910357.1 <i>Anthoshorea bracteolata</i>	0.9010	0.0320																	
4. KY972911.1 <i>Cotylelobium burckii</i>	0.9119	0.0158	0.0320																
5. LC737119.1 <i>Cotylelobium melanoxylon</i>	0.9104	0.0199	0.0361	0.0039															
6. KY972916.1 <i>Dipterocarpus borneensis</i>	0.9267	0.0342	0.0340	0.0341	0.0382														
7. AB006377.1 <i>Dryobalanops aromatica</i>	0.9006	0.0280	0.0279	0.0280	0.0321	0.0300													
8. AB006378.1 <i>Dryobalanops oblongifolia</i>	0.9006	0.0280	0.0279	0.0280	0.0321	0.0300	0.0000												
9. MH332601.1 <i>Hopesa dryobalanoides</i>	0.9119	0.0446	0.0300	0.0425	0.0466	0.0424	0.0403	0.0403											
10. KY972975.1 <i>Shorea albida</i>	0.8961	0.0280	0.0239	0.0279	0.0279	0.0300	0.0198	0.0198	0.0362										
11. LC737143.1 <i>Shorea beccariana</i>	0.9039	0.0259	0.0218	0.0259	0.0300	0.0279	0.0178	0.0178	0.0341	0.0020									
12. AB295891.1 <i>Shorea fallax</i>	0.9039	0.0259	0.0218	0.0259	0.0300	0.0279	0.0178	0.0178	0.0341	0.0020	0.0000								
13. LC737155.1 <i>Shorea hopeifolia</i>	0.8943	0.0280	0.0239	0.0280	0.0321	0.0300	0.0239	0.0239	0.0363	0.0199	0.0178	0.0178							
14. MH332600.1 <i>Shorea laevis</i>	0.9119	0.0300	0.0259	0.0300	0.0340	0.0299	0.0218	0.0218	0.0382	0.0059	0.0039	0.0039	0.0218						
15. AB246450.1 <i>Shorea seminis</i>	0.8991	0.0239	0.0198	0.0239	0.0279	0.0259	0.0158	0.0158	0.0321	0.0158	0.0138	0.0138	0.0158	0.0178					
16. KY973048.1 <i>Shorea pachyphylla</i>	0.8961	0.0280	0.0239	0.0279	0.0300	0.0198	0.0198	0.0198	0.0362	0.0000	0.0020	0.0020	0.0199	0.0059	0.0158				
17. MF418813.1 <i>Vatica</i> sp.	0.8961	0.0158	0.0320	0.0118	0.0079	0.0341	0.0239	0.0239	0.0425	0.0239	0.0259	0.0259	0.0280	0.0300	0.0239	0.0239			
18. MH332519.1 <i>Vatica umbonata</i>	0.8834	0.0158	0.0320	0.0118	0.0118	0.0341	0.0239	0.0239	0.0425	0.0239	0.0259	0.0259	0.0280	0.0300	0.0239	0.0239	0.0039		

Gambar 1. Matriks nilai jarak genetik sekuen gen *matK* jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae dan *out group* menggunakan model *Maximum Composite Likelihood*.

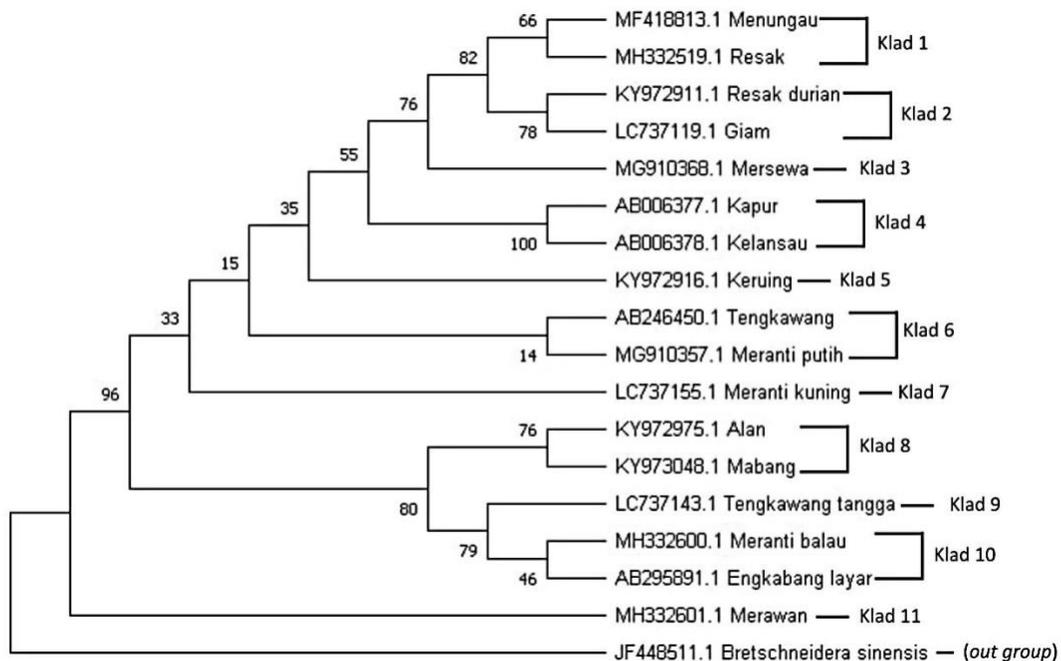
Analisis Filogenetik Berdasarkan gen *matK*

Pohon filogenetik pada penelitian ini direkonstruksi dengan model *neighbor-joining* menggunakan aplikasi Mega 11. Rekonstruksi pohon filogenetik dengan metode Neighbour-Joining didalam aplikasi MEGA X didapatkan pohon filogenetik yang membentuk 11 klad *in group* dan 1 *outgroup*

(Gambar 2). Klad 1 memiliki nilai bootrap 66 yang terdiri dari 2 jenis pohon yaitu menungau dan resak. Klad 2 memiliki nilai bootrap 78 terdiri dari 2 jenis pohon yaitu resak durian dan giam. Klad 3 memiliki nilai bootrap 76 yang hanya terdiri dari 1 jenis pohon yaitu mersewa. Klad 4 memiliki nilai bootrap 100 yang terdiri dari 2 jenis pohon yaitu kapur dan kelansau. Klad 5 hanya

terdiri dari 1 jenis pohon yaitu keruing. Klad 6 memiliki nilai bootstrap 14 yang terdiri dari 2 jenis pohon yaitu tengkawang dan meranti putih. Klad 7 hanya terdiri dari 1 jenis pohon yaitu meranti kuning. Klad 8 memiliki nilai bootstrap 76 yang terdiri dari 2 jenis pohon yaitu alan dan mabang. Klad 9 hanya terdiri dari 1 jenis pohon yaitu tengkawang tangga. Klad 10 memiliki nilai bootstrap 46 yang terdiri dari 2 jenis pohon yaitu meranti balau dan engkabang layar. Klad 11 hanya terdiri dari 1 jenis pohon yaitu merawan. Kemudian, *out group* terdiri dari 1 jenis yaitu *Bretschneidera sinensis* dari famili Akaniaceae merupakan sister grup dalam ordo Malvales. Suatu kelompok spesies bersifat monofiletik jika semua spesies yang ada pada cabang berasal dari satu nenek moyang yang sama.

Berdasarkan letak cabang dan nilai bootstrap, kekerabatan terdekat pada kelompok *in group* dimiliki oleh jenis pohon Kapur (*Dryobalanops aromatica*) dengan Kelansau (*Dryobalanops oblongifolia* Dyer) di dalam klad 4. Nilai bootstrap pada jenis pohon tersebut adalah 100. Hal ini menunjukkan hubungan kekerabatan yang sangat erat antara kedua spesies tersebut. Anggota-anggota dalam kelompok monofiletik memiliki banyak kesamaan karakteristik genetik dan ciri-ciri, serta diperkirakan berasal dari satu nenek moyang yang sama [18]. Letak cabang *outgroup* terletak di luar cabang-cabang *in-group* dalam pohon filogenetik dan memiliki kekerabatan yang jauh lebih rendah.



Gambar 2. Pohon filogeni jenis-jenis pohon di vegetasi gambut berdasarkan sekuen matK

PEMBAHASAN

[5] telah mengidentifikasi 107 jenis pohon dari 48 famili yang ada di hutan gambut Taman Nasional Danau Sentarum (TNDS). Famili Dipterocarpaceae adalah paling yang paling banyak ditemukan pada lokasi tersebut. Famili Dipterocarpaceae memiliki ciri morfologi yang ditandai dengan kulit batang yang pecah dengan alur-alur, menghasilkan getah, adanya pembekakan yang khas pada tangkai daun, memiliki stipula, pertulangan daun tersier yang umumnya membentuk struktur seperti tangga, dan buah bersayap lima [4]. Secara umum, Dipterocarpaceae menyebar di seluruh wilayah pulau-pulau di Indonesia antara lain genus *Cotylelobium* tersebar di wilayah pulau Sumatra dan Kalimantan. Genus *Dipterocarpus* tersebar di wilayah pulau Sumatera, Jawa, Kalimantan, Bali, dan Lombok. Genus *Dryobalanops* tersebar di wilayah pulau Sumatera dan Kalimantan. Genus *Shorea* tersebar di wilayah pulau Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Irian. Sementara itu genus *Vatica* tersebar di wilayah Pualu Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Maluku dan Irian [7].

Berdasarkan Tabel 3. Komposisi nukleotida dengan Genom yang kaya akan GC menunjukkan kepadatan gen yang lebih tinggi, tingkat konservasi tingkat mutasi yang lebih tinggi, dan tingkat mutasi yang lebih tinggi tingkat rekombinasi dibandingkan dengan daerah yang kekurangan GC [19]. Sedangkan, pada Tabel 4. menunjukkan bahwa sekuen gen matK terdapat 32 sites SNP. Menurut [20], SNP adalah lokasi genetik tertentu yang setidaknya pada 1%

populasi. SNP merupakan salah satu polimorfisme genetik yang stabil dalam suatu genom dan dapat digunakan untuk menganalisis perbedaan antar spesies yang berkerabat dekat [21].

Jarak genetik adalah ukuran seberapa berbedanya dua individu atau dua populasi dalam hal komposisi genetiknya. Sehingga dapat menunjukkan seberapa dekat atau jauh hubungan antara organisme. Hal ini mengindikasikan bahwa *Bretschneidera sinensis* (*out group*) memiliki kekerabatan yang dekat dengan resak (*Vatica umbonata*) dibandingkan sampel jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae lainnya. Semakin kecil nilai jarak genetik, maka kekerabatan antar spesies semakin dekat. Pada penelitian ini, nilai jarak genetik 0,0000 ditemukan pada pasangan spesies *S. pachyphylla* dengan *S. albida*, *D. aromatica* dengan *D. oblongifolia*, serta *S. fallax* dengan *S. beccariana* yang menunjukkan hubungan kekerabatan yang sangat erat di antara pasangan-pasangan spesies tersebut (Gambar 1). Jarak genetik tersebut karena pada kedua spesies memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat, dan kemungkinan termasuk dalam satu spesies [22].

Pensejajaran data sekuen DNA dari jenis-jenis pohon famili Dipterocarpaceae menggunakan metode ClustalW didalam aplikasi MEGA 11 bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengetahui tingkat homologi sekuen-sekuen DNA yang memiliki potensi sebagai barcode. Sekuen DNA yang memiliki potensi sebagai barcode adalah sekuen DNA yang memiliki perbedaan dan karakter khas jika dibandingkan dengan sekuen DNA yang lain [23]. Semakin tinggi tingkat homologi maka

semakin dekat hubungan kekerabatan anatar jenis-jenis karena frekuensi mutasi semakin rendah [24].

Pembuatan pohon filogeni dari data sekuen DNA dari sampel jenis-jenis pohon dari famili Dipterocarpaceae hasil pensejajaran menggunakan metode Neighbour-Joining didalam aplikasi MEGA 11 (gambar 1). Pembuatan pohon filogeni bertujuan untuk mengetahui tingkat kekerabatan dan laju evolusi dari setiap jenis-jenis pohon berdasarkan evaluasi dari nilai Bootstrap [25]. Semakin tinggi nilai bootstrap yang digunakan maka semakin tinggi kepercayaan terhadap topologi pohon hasil rekonstruksi. Hal ini didasarkan pada distribusi karakter dalam data sangat dipengaruhi oleh efek acak [26]. Menurut [27], metode bootstrap adalah metode pengacakan karakter yang menghasilkan beberapa set data baru dengan jumlah karakter yang sama seperti pada data awal, serta digunakan untuk membangun pohon filogeni.

Data morfologi dari jenis pohon di dalam klad 4 yaitu pohon Kapur (*Dryobalanops aromatica*) dan Kelansau (*Dryobalanops oblongifolia* Dyer) banyak kemiripan morfologi karena berada pada genus yang sama [28]. Kekrabatan terdekat antara klad 1, yang mencakup genus *Cotylelobium*, dan klad 2, yang mencakup genus *Vatica*, menunjukkan adanya kemiripan morfologi di antara keduanya. Data morfologi beberapa spesies dari genus *Cotylelobium* genus *Vatica* menunjukkan kemiripan yaitu pada daun terdapat pembengkakan pada tangkai daun, tata letak daun berseling, dan memiliki daun penumpu serta kemiripan dari morfologi bunga yakni

bulat bersayap 5 (3 ukuran lebih kecil dan pendek, 2 ukuran lebih besar dan panjang) [7]. Oleh karena itu, spesies Dipterocarpaceae diasumsikan belum menunjukkan perbedaan tingkat genus molekuler meskipun telah berevolusi menjadi spesies dengan beberapa karakter morfologi yang berbeda [29].

Out group digunakan untuk mengidentifikasi sifat primitif (plesiomorfik) dan sifat turunan (apomorfik) dari kelompok in-group dan untuk menetapkan titik asal pembentukan sebuah pohon filogeni [30]. *Bretschneidera sinensis* (sekuens dari database GeneBank) merupakan *out-group* yang berasal dari famili Akaniaceae dalam ordo Malvales. Sebagai *out-group*, *Bretschneidera sinensis* digunakan untuk menentukan akar pohon filogenetik. Menurut [18], dalam analisis filogenetik, *out-group* mengarah pada polarisasi karakter atau ciri, yaitu sifat apomorfik dan plesiomorfik. Sifat apomorfik adalah karakter yang diubah dan diturunkan yang terdapat pada *in-group* (spesies yang diteliti). Sedangkan, sifat plesiomorfik adalah sifat primitif yang terdapat pada *outgroup*. Sifat sinapomorfik adalah karakter turunan monofiletik.

Dalam konsepnya, pohon filogeni menyediakan informasi penting tentang klasifikasi plasma nutfah berdasarkan evolusi dan hubungannya. Dalam merekonstruksi pohon filogeni, penggunaan data molekuler (DNA) lebih banyak karena cenderung stabil selama proses evolusi jika dibandingkan dengan data morfologi [12]. Hal ini disebabkan oleh kemudahan dalam mengekstrak, menggabungkan, dan menganalisis informasi mengenai proses evolusi suatu kelompok organisme ketika menggunakan data DNA dalam rekonstruksi

filogenetik. Selain itu, penggunaan data DNA mempermudah dalam membuat model peristiwa evolusi secara komparatif dengan keberagaman informasi yang lebih besar [31].

Menurut [32], dalam rekonstruksi filogenetik, pemanfaatan sekuens DNA juga memberikan keunggulan dalam menyajikan data yang akurat melalui pengujian homologi yang lebih baik terhadap karakter-karakter yang muncul. Penggunaan sekuens-sekuens DNA dalam rekonstruksi filogenetik memberikan banyak character states akibat perbedaan tingkat perubahan basa-basa nukleotida di dalam lokus yang berbeda [31]. Sekuens ini telah terbukti mampu menghasilkan hubungan kekerabatan yang lebih alamiah [33]. Oleh karena itu, analisis kekerabatan molekuler menghasilkan informasi penting bagi para pemulia untuk memilih nenek moyang persilangan, terutama dalam mengembangkan varietas unggul. Dengan demikian, informasi mengenai kompleksitas kekerabatan genetik plasma nutfah suatu organisme memiliki relevansi yang besar dalam mendukung kajian genetika populasi, konservasi, evolusi, dan pemuliaan tanaman di masa yang akan datang [34].

Menurut [22], pemilihan metode rekonstruksi pohon filogenetik harus mempertimbangkan tingkat keakuratan, yang mencakup efisiensi, kekuatan, konsistensi, ketegasan, dan falsifiabilitas. Tantangan utama dalam pembuatan pohon filogenetik muncul ketika data genetik mengalami peningkatan secara eksponensial. Berdasarkan tipe data, teknik pengelompokan terbagi menjadi dua kategori, yakni berdasarkan matriks jarak

(seperti UPGMA, neighbor-joining, minimum evolution, dan least square) dan berdasarkan status karakter (seperti maximum parsimony dan maximum likelihood). Pendekatan matriks jarak memanfaatkan perbedaan atau jarak genetik di antara setiap pasangan urutan, yang menunjukkan bahwa semakin besar nilai jarak antara dua urutan, semakin jauh kekerabatan di antara keduanya. Sebaliknya, metode status karakter menilai probabilitas dan jumlah substitusi pada setiap situs karakter dalam suatu rangkaian, menghasilkan pendekatan yang berfokus pada evaluasi perubahan karakter pada tingkat situs dalam sekuens [35].

KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil menganalisis kekerabatan jenis-jenis pohon di vegetasi gambut dengan metode rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan sekuens gen *matK* berbasis *in silico*. Hasil konstruksi pohon filogeni terdiri dari kelompok *in group* dan *out group*. Kelompok *in group* terdiri dari 17 jenis pohon yang membentuk 11 klad, sedangkan *out group* terdiri dari 1 jenis yaitu *Bretschneidera sinensis*. Berdasarkan letak cabang dan nilai bootstrap, kekerabatan terdekat pada kelompok *in group* dimiliki oleh jenis pohon kapur dengan kelansau di dalam klad 4.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Yuliani F. Pelaksanaan Cannal Blocking sebagai Upaya Restorasi Gambut di Kabupaten Meranti Provinsi Riau. *SPirit Publik J Adm Publik* 2017;12(1):69–

- 84.
- [2] Yuliani F. Implementasi Perlindungan dan Pengelolaan Ekosistem Gambut serta Pengendalian Kebakaran Hutan dan Lahan. *J Kebijakan Publik*. 2018;9(1):37–44.
- [3] MacKinnon K, Hatta G, Halim H, Mangalik A. *Ekologi Kalimantan*. Jakarta: Prenhallindo; 2000.
- [4] Ripin, Astiani D, Burhanuddin. Jenis-Jenis Pohon Penyusun Vegetasi Hutan Rawa Gambut Di Semenanjung Kampar Kecamatan Teluk Meranti Provinsi Riau. *J Hutan Lestari*. 2017;5(3):807–13.
- [5] Randi A, Manurung TF, Siahaan S. Identifikasi jenis-jenis pohon penyusun vegetasi gambut taman nasional danau sentarum kabupaten kapuas hulu. *J Hutan Lestari*. 2014;2(1):66–73.
- [6] Kinantono H, Budhi S, Ardian H. Keanekaragaman Jenis Primata di Seksi Wilayah II Semitau Taman Nasional Danau Sentarum Kabupaten Kapuas Hulu. *J Hutan Lestari*. 2018;6(4):894–903.
- [7] Petrus S, Manurung TF, Kartikawati SM. Identifikasi Jenis Pohon Family Dipterocarpaceae Pada Hutan Rawa Gambut Di Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (Khdtk) Universitas Tanjungpura Kecamatan Mandor Kabupaten Landak Kalimantan Barat. *J Hutan Lestari*. 2021;9(4):584–98.
- [8] Septria D, Manurung TF, Tavita GE. Keanekaragaman Jenis Pohon Famili Dipterocarpaceae di Hutan Adat Bukit Benuah Kecamatan Sungai Ambawang Kabupaten Kubu Raya. *J Huta*. 2018;6(1):144–122.
- [9] Hebert PDN, Alina Cywinska, Ball SL, DeWaard JR. Biological Identifications Through DNA Barcodes. *Proc R Soc B Biol Sci*. 2003;207(1512):313–21. Available from: <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- [10] Lahaye R, Bank M van der, Bogarin D, Warner J, Pupulin F, Gigot G, et al. DNA Barcode the Floras of Biodiversity Hotspots. *Proc Natl Acad Sci*. 2008;105(8):2923–2928.
- [11] Tudge C. *The Variety Of Life*. New York: Oxford University Press; 2000.
- [12] Dharmayanti NLPI. Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme berdasarkan Sejarah Evolusi. *WARTAZOA*. 2011;21(1):1–10.
- [13] Yu J, Xue JH, Zhou SL. New universal matK primers for DNA barcoding angiosperms. *J Syst Evol*. 2011;49(3):176–81.
- [14] Muller KF, Borsch T. Phylogenetics of Utricularia (Lentibulariaceae) and molecular evolution of the trnK intron in a lineage with high substitutional rates. *Plant Syst Evol*. 2005;250:39–67.
- [15] Irawan B. *Karsinologi dengan Penjelasan Deskriptif dan Fungsional*. Surabaya: Airlangga University Press; 2013.
- [16] Lubis K. Cara Pembuatan Pohon Filogeni. *J Pengabdian Kpd Masyarakat*. 2014;20(75):66–9.
- [17] Maria KW, Manurung TF, Sisillia L. Identifikasi Jenis Pohon Famili Dipterocarpaceae di Kawasan Arboretum Sylva Universitas Tanjungpura Pontianak. *J Hutan Lestari*. 2016;4(4):527–34.
- [18] Hidayat T, Pancoro A. Ulasan Kajian Filogenetika Molekuler dan Perannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Angrek. *J AgroBiogen*. 2019;4(1):35–40.
- [19] Niu Z, Xue Q, Wang H, Xie X, Zhu S, Liu W, et al. Mutational Biases and GC-Biased Gene Conversion Affect GC Content in the Plastomes of

- Dendrobium Genus. *Int J Mol Sci.* 2017;18(11):1–5.
- [20] Kim S, Misra A. SNP Genotyping: Technologies and Biomedical Applications. *Annu Rev Biomed Eng.* 2007;9(1):289–320.
- [21] Yamamoto T, Nagasaki H, Yonemaru J ichi, Ebana K, Nakajima M, Shibaya T, et al. Fine definition of the pedigree haplotypes of closely related rice cultivars by means of genome-wide discovery of single-nucleotide polymorphisms. *BMC Genomics.* 2010;11:1–14.
- [22] Syah MA. Isolasi dan Karakterisasi Molekuler Gen 16S rRNA Bakteri Lipolitik Asal Limbah Kulit Biji Jambu Mete. *J Sumberd Hayati.* 2022;8(1):20–6.
- [23] Rohimah S, Mukarramah L, Sindiya V, Yuliana V, Ayu G, Su'udi M. Eksplorasi Jenis dan Potensi DNA Barcode Anggrek *Thrixspermum* Secara In Silico. *J Biodjati.* 2018;3(2):148–56.
- [24] Masruroh IH, Triesita NIP, Sulistiono S, Santoso AM. Hubungan Kekerabatan Bambu berdasarkan Gen *RbcL* Berbasis Analisis In Silico sebagai Bukti Adanya Evolusi Molekuler. *Prosiding Semin Nas Hayati.* 2018;6(1):164–78.
- [25] Anzani AN, Martiansyah I, Yuliani N. Studi in silico DNA barcoding pada bunga soka (*Ixora*). *Prosiding Semin Nas Hayati [Internet].* 2021;7(1):168–77. Available from: <https://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/article/view/23693>
- [26] Ubaidillah R, Sutrisno H. *Pengantar Biosistemik: Teori dan Praktikum.* Jakarta: LIPI Press; 2009.
- [27] Claverie JM, Notredame C. *Bioinformatics for Dummies.* 2nd ed. Vol. 9. Indiana: Wiley Publishing Inc.; 1–7 p.
- [28] Rosdayanti H, Siregar UJ, Siregar IZ. Karakter penciri morfologi daun meranti (*Shorea* spp.) pada area budidaya ex-situ KHDTK Haurbentes. *Media Konserv.* 2019;24(2):207–15.
- [29] Gamage DT, de Silva MP, Inomata N, Yamazaki T, Szmidt AE. Comprehensive molecular phylogeny of the Sub-Family Dipterocarpoidea (Dipterocarpaceae) based on chloroplast DNA sequences. *Genes Genet Syst.* 2006;81(1):1–12.
- [30] Muzzazinah. Metode filogenetik pada indigofera. *Prosiding Semin Nas Pendidik Biol dan Biol.* 2017;25–40.
- [31] Hillis DM, Moritz C, Mable BK. *Molecular Systematic.* 2nd ed. Massachusetts: Sinauer Associates; 1996.
- [32] Baldwin BG, Sanderson MJ, Porter JM, Wojciechowski MF, Campbell CS, Donoghue MJ. The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny. *Ann Missouri Bot Gard.* 1995;82(2):247–77.
- [33] Chase MW, Soltis DE, Olmstead RG. Phylogenetics of Seed Plants: An Analysis of Nucleotide Sequences from the Plastid Gene *rbcL*. *Ann Missouri Bot Gard.* 1993;80(3):528–80.
- [34] Witherup C, Zuberi MI, Hossain S, Zerega NJC. Genetic Diversity of Bangladeshi Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) over Time and Across Seedling Sources. *Econ Bot.* 2019;73:233–48.
- [35] Aprilyanto V, Sembiring L. *Filogenetika Molekuler; Teori dan Aplikasi.* Yogyakarta: Innosain; 2016.