Abdul Hamid A. Toha
Widodo
Luchman Hakim
Sutiman B. Sumitro

PANDUAN DASAR ANALISIS DATA GENETIK UNTUK PUBLIKASI

```
  1 acatctattc tgatttttg gtcacccgga agtctacatc ctaattctac caggatttgg
 61 tatgatttca cacgttatag ctcactactc aggaaagcga gaacccttg gatatttggg
121 tatggtttat gcaatgattg ctataggaat actaggattt ttagtatgag ctcatcatat
181 gtttacagta ggaatggacg tagacacacg agcatacttc accgctgcaa caatgataat
241 tgccgtacca acaggaatta aggtttttag atgaatggca acactccaag gatcaaatct
301 acagtgagaa accccactac tatgagccct gggatttgtt tttctattta cattaggagg
361 actaactggg attgttctag ctaattcctc aattgacgtt gtactacacg acacttacta
421 cgtggtagct cacttccatt atgtactatc aatgggagcc gtctttgcaa tttttgcagg
481 atttacccac tggtttcctc tattttcagg ttacaaccta caccctctat gaggaaaggt
541 gcacttcttt attatgttta ttggagtcaa tctaacattc ttcccacaac ac
```

PANDUAN DASAR ANALISIS DATA GENETIK UNTUK PUBLIKASI

Penulis:
Abdul Hamid A. Toha, Widodo, Luchman Hakim, Sutiman B. Sumitro

ISBN:

9 786239 016678 9 786239 016685

Perancang Sampul:
Abdul Hamid A. Toha

Penata Letak:
Tim Brainy Bee

Pracetak dan Produksi:
Tim Brainy Bee

Penerbit:
Brainy Bee

Redaksi:
Perum Graha Dewata, Blok Khusus W8, Malang 65151 Indonesia
Telp/WA: 081344418010

e-mail: penerbitbrainybee@gmail.com
http://www.brainybee.co.id

Cetakan Pertama, Maret 2021
v+58 hlm, 21 cm x 29.7 cm

Proyek Marine Biodiversity of Raja Ampat Islands

MB-RAI adalah proyek pendidikan, penelitian dan publikasi konservasi dan biodiversitas laut Kepulauan Raja Ampat yang didanai oleh program PEER-USAID tahun 2012-2016. Proyek dikerjakan bersama perguruan tinggi dan lembaga penelitian Indonesia seperti Universitas Papua (UNIPA, Manokwari), Universitas Brawijaya (UB, Malang), Indonesian Biodiversity Research Center (IBRC-Bali), Conservation International-Indonesia (CI-I), dan didukung oleh Paul H. Barber, University of California Los Angeles (UCLA) dan Kent Carpenter, Old Dominion University sebagai partner proyek dari US. Proyek MB-RAI dipimpin oleh Abdul Hamid A. Toha dari UNIPA.

Proyek MB-RAI dapat diakses secara on-line via www.ibcraja4.org.

PENGANTAR

Panduan ini berisi prosedur, tahapan dan uraian analisis data genetik hasil penelitian (data primer), hasil download dari genbank (data sekunder) atau gabungan keduanya untuk keperluan publikasi. Empat program pengolahan data genetik dalam Panduan ini adalah:

1. MEGA7 (http://www.megasoftware.net/active_download),
2. DnaSP 5.1 (http://www2.ub.es/dnasp/download.html),
3. Arlequin3.5(http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/Arl35Downloads.html), dan
4. Network 5 (http://www.fluxus-engineering.com/sharenet.htm).

Penggunaan berbagai program dalam Panduan berguna untuk menghasilkan output sesuai dengan tujuan penelitian atau rencana publikasi. Publikasi artikel nasional dan internasional sengaja dijadikan dasar dalam Panduan sebagai target output latihan analisis. Setelah menggunakan Panduan, Pembaca akan mendapatkan hasil olahan seperti artikel publikasi dan termotivasi untuk mempublikasikannya.

Panduan ini mulai dari tahapan sangat dasar dan dapat dikembangkan sesuai dengan perkembangan kemampuan setiap pengguna. Program analisis data genetik lain juga tersedia namun tidak disampaikan dalam Panduan ini. Pembaca bebas mengembangkan dan mengakses berbagai program lain untuk menambah keahlian mengolah data genetik.

Semoga bermanfaat.

Penyusun,

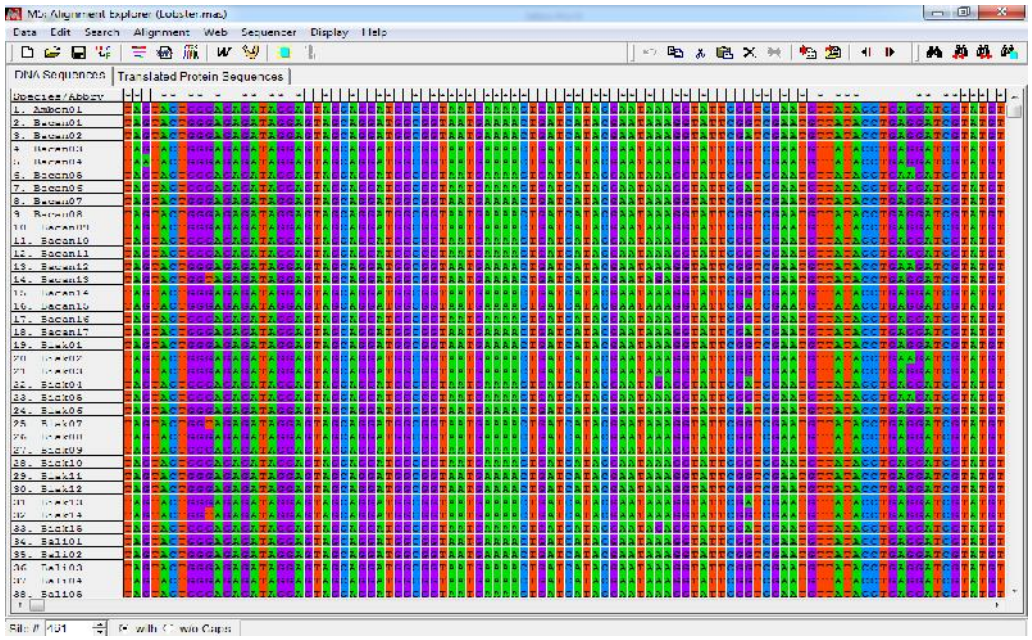
Tim

DAFTAR ISI

1. PRINSIP DASAR

Materi genetik adalah cetak biru mahluk hidup dan menentukan sifat fisik, (bio)kimia dan fisiologi mahluk hidup. Sekarang informasi genetik digunakan untuk: Identifikasi spesies, analisis distribusi genetik, menduga kelimpahan populasi atau rasio jenis kelamin, evaluasi hubungan habitat, menduga derajat subpopulasi terisolasi, konfirmasi kehadiran spesies yang sulit terdeteksi, pemantauan kelimpahan, pemantauan perubahan variabilitas genetik dan investigasi kemungkinan respons adaptasi terhadap perubahan iklim.

Bahan baku utama penyusun materi genetik adalah nukleotida. Nukleotida sendiri tersusun atas basa nitrogen, gula pentosa (keduanya disebut nukleosida) dan ester fosfat. Pengetahuan nukleotida akan membantu memahami sifat, struktur, fungsi materi genetik suatu mahluk hidup. Ada empat jenis nukleotida utama yang menyusun DNA mahluk hidup yaitu:



Contoh. Sekuen fragmen gen COI hewan laut yang tersusun atas 4 jenis nukleotida

Tabel 1. Jenis nukleotida utama pada DNA

Basa Nitrogen	Nama Deoksiribonukleotida	Singkatan
Adenin	Deoksi Adenosin 5'-monofosfat (dAMP)/Asam Deoksiadenilat	A
Guanin	Deoksi guanosin 5'-monofosfat (dGMP)/Asam Deoksiguanilat	G
Timin	Deoksi Timidin 5'-monofosfat (dTMP)/Asam Timidilat	T
Sitosin	Deoksi Sitidin 5'-monofosfat (dCMP)/Asam Deoksisitidilat	C

Nukleotida jenis lain juga ada dan disampaikan dalam berbagai literatur. Secara lengkap jenis nukleotida disajikan pada tabel berikut:

Tabel 2. Kode Nukleotida Satu huruf secara lengkap

Kode[1]	Arti (Basa Nitrogen)	Kode	Arti (Basa Nitrogren)
A	adenosin (A)	M	amino (A atau C)
C	sitidin (cytidine, C)	S	strong (kuat, G atau C)
G	guanin (G)	W	weak (lemah, A atau T)
T	timidin (T)	B	bukan A (G atau T atau C)
U	uridin (U)	D	bukan C (G atau A atau T)
R	purin (G atau A)	H	bukan G (A atau C atau T)
Y	pirimidin (T atau C)	V	bukan T (G atau C atau A)
K	keto (G atau T)	N	beberapa basa (A atau G atau C atau T)
-	gap		

Ket.: [1] Secara lengkap kode nukleotida yang diterima adalah kode huruf yang ditebalkan (bold). U= nukleotida khusus pada RNA. Pada DNA, U diganti dengan T.

Nukleotida dapat diperoleh melalui sekuensing DNA genom hasil isolasi, hasil PCR, atau lainnya. Metode sekuensing yang paling umum digunakan adalah metode dideoksi Sanger. Metode Sanger adalah dasar dari sebagian besar sekuensing otomatis, yang saat ini menjadi metode yang disukai untuk sekuensing.

Urutan nukleotida tergolong salah satu penanda kodominan. Penanda ini dapat mengidentifikasi kepastian perbedaan pasang basa antara individu. Urutan nukleotida dapat melihat secara pasti dimana dan bagaimana urutan nukleotida individu berbeda. Urutan nukleotida juga dapat mengidentifikasi hubungan evolusi mahluk hidup dan analisis lainnya.

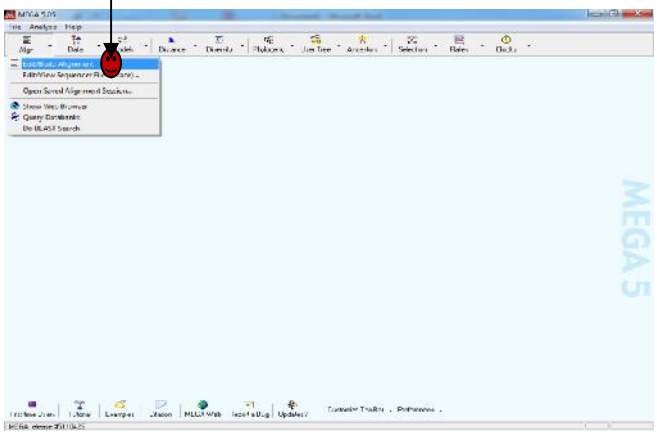
2. PETUNJUK UMUM

Tujuan: mengakses, mengedit, menjajarkan dan menyiapkan data genetik urutan nukleotida hasil sekuensing untuk analisis genetik. Data genetik berasal dari penelitian sendiri (data primer) dan penelitian pihak lain terutama dari genbank (data sekunder). Berikut adalah petunjuk umum menggunakan kedua jenis data.

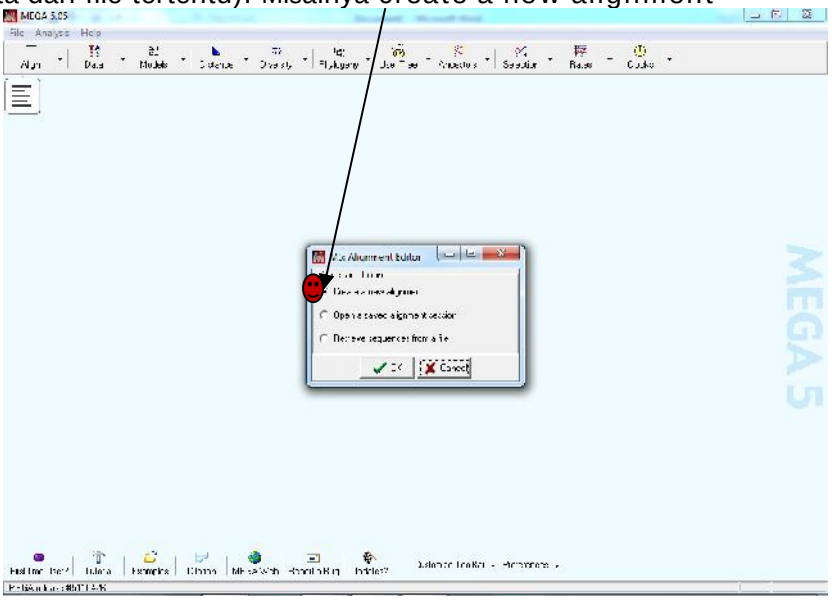
A. Data primer

1. Buka/aktifkan program Mega5.05(Molecular Evolutionary Genetics Analysis)

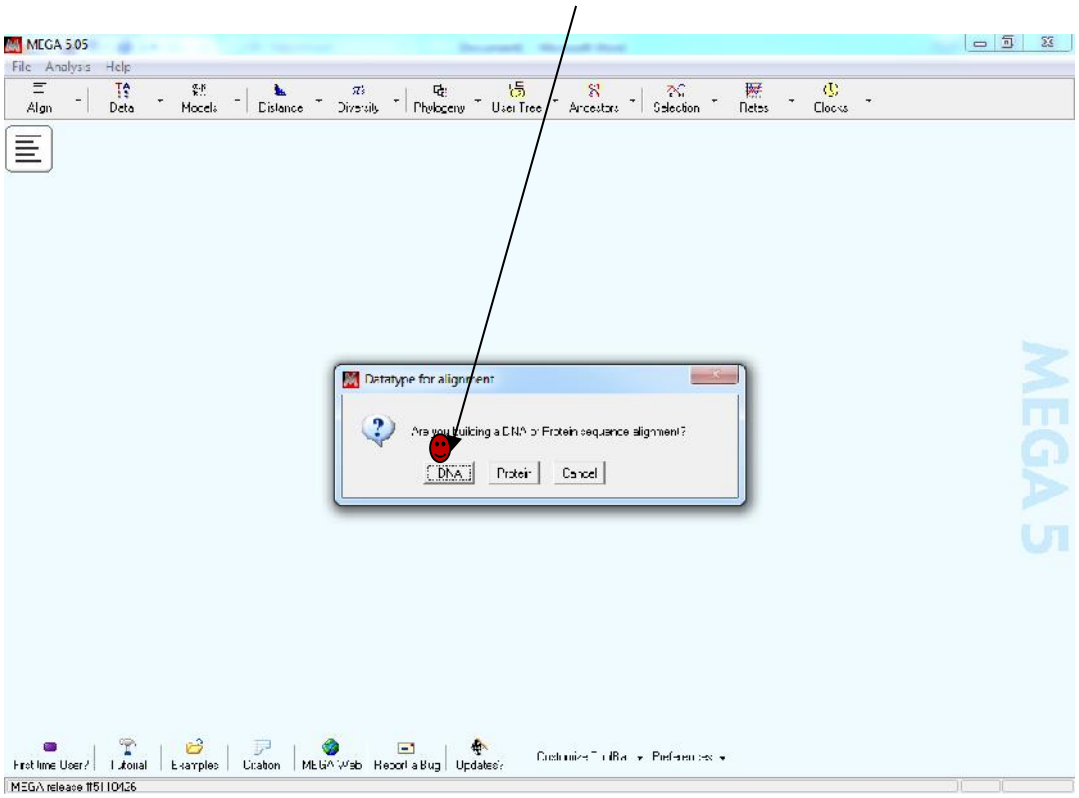
2. Tekan Align lalu ke Edit/Build Alignment untuk mengedit atau membuat penjajaran



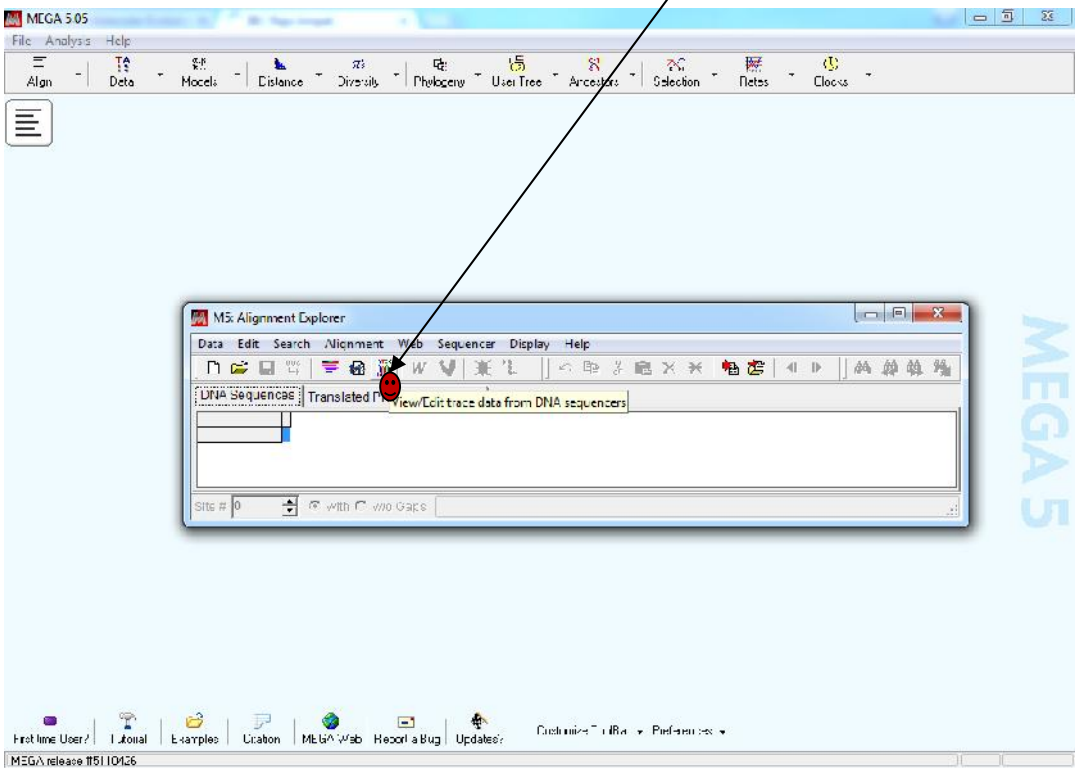
3. Pilih Create a new alignment (bila membuat penjajaran baru), pilih open a saved alignment session (bila ingin mengedit/penjajaran data yang sudah ada sebelumnya), pilih open retrieve sequences from a file (bila ingin mengakses data dari file tertentu). Misalnya create a new alignment



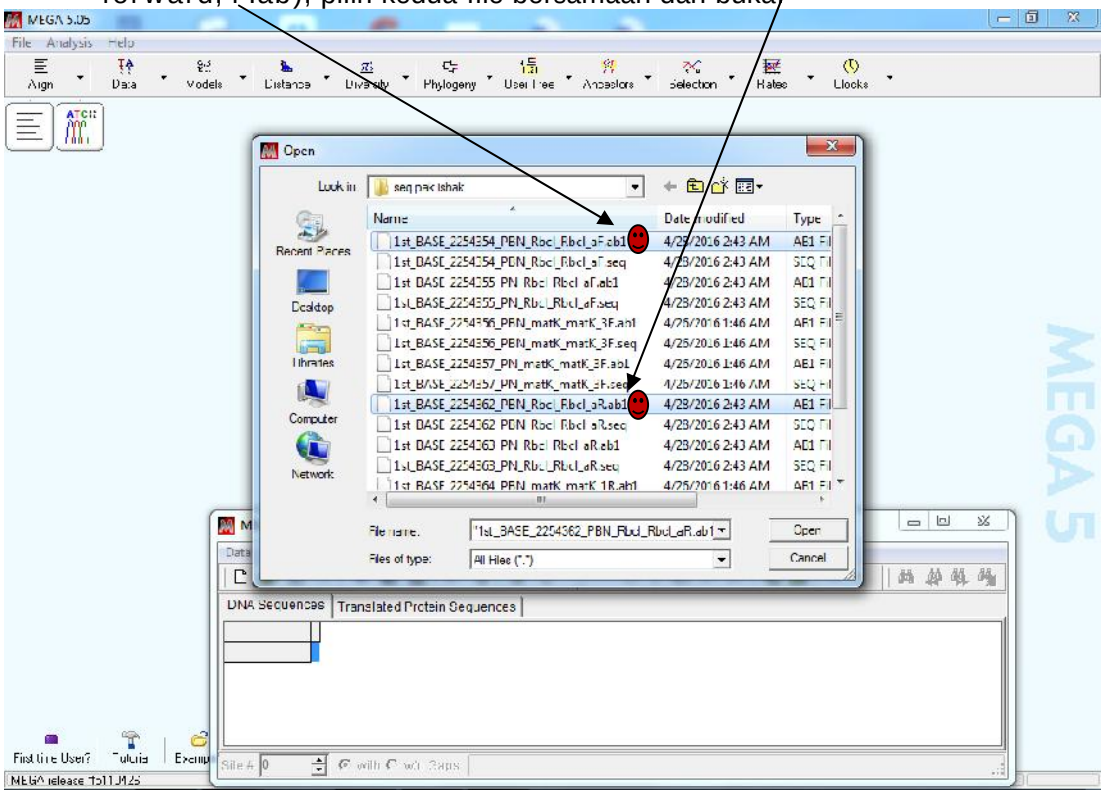
4. Penjajaran DNA atau protein? Pilih DNA



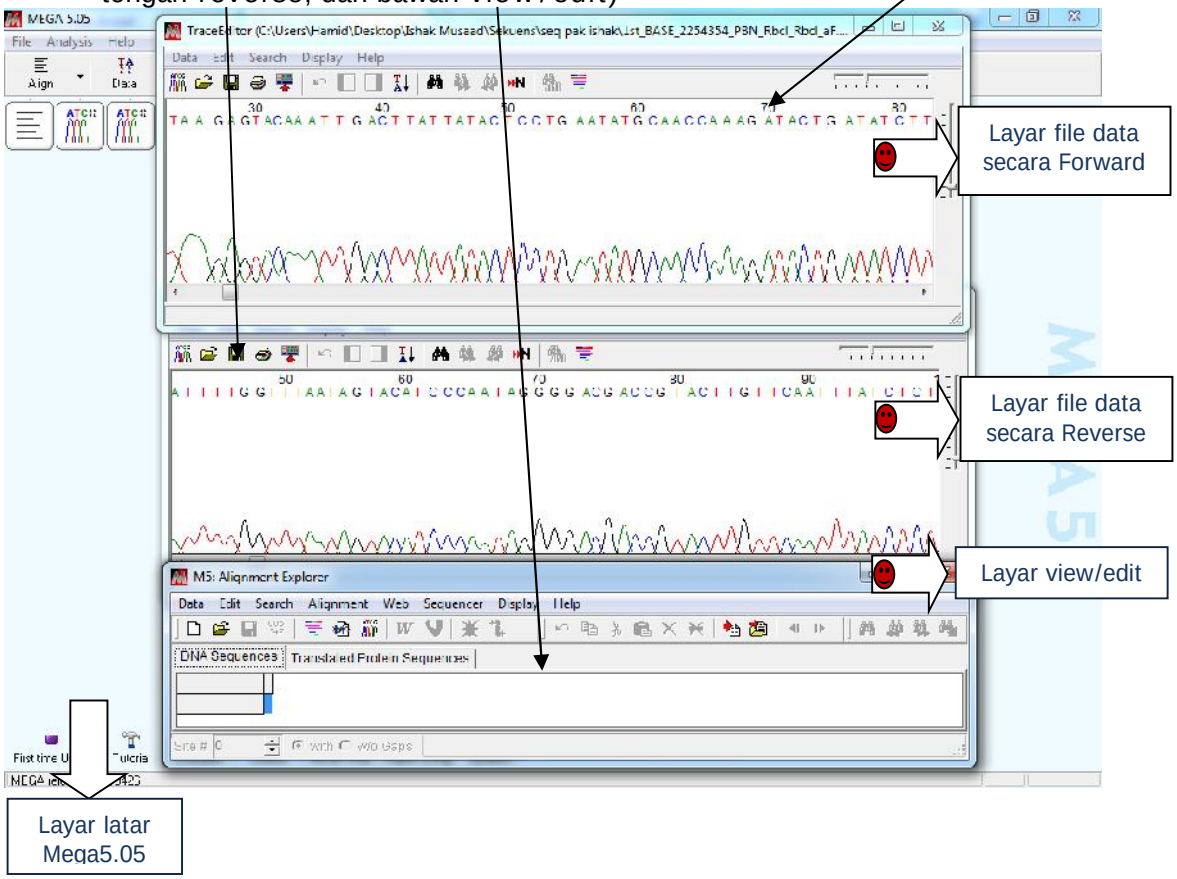
5. Lihat atau edit data dari pengurut DNA. Pilih view/edit trace from DNA sequencers



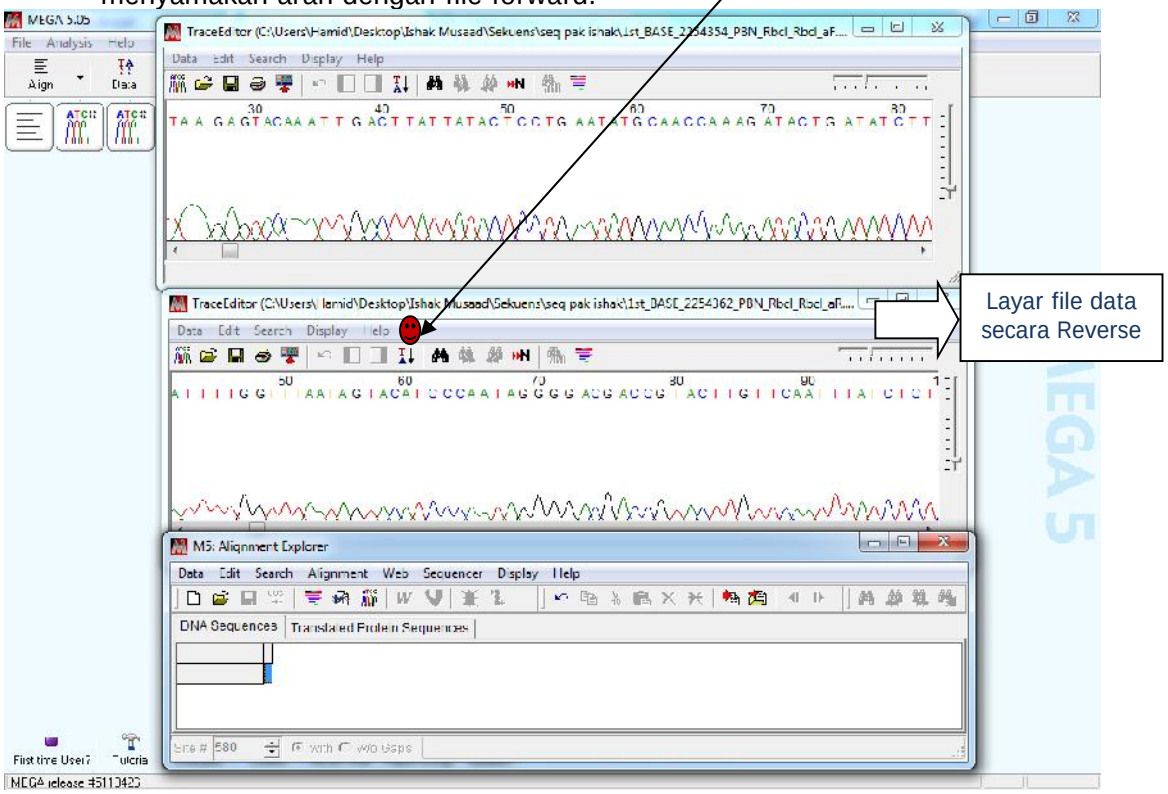
6. Pilih file berkode ....ab. Bila disekuensing dua arah (reverse, R.ab, dan forward, F.ab), pilih kedua file bersamaan dan buka



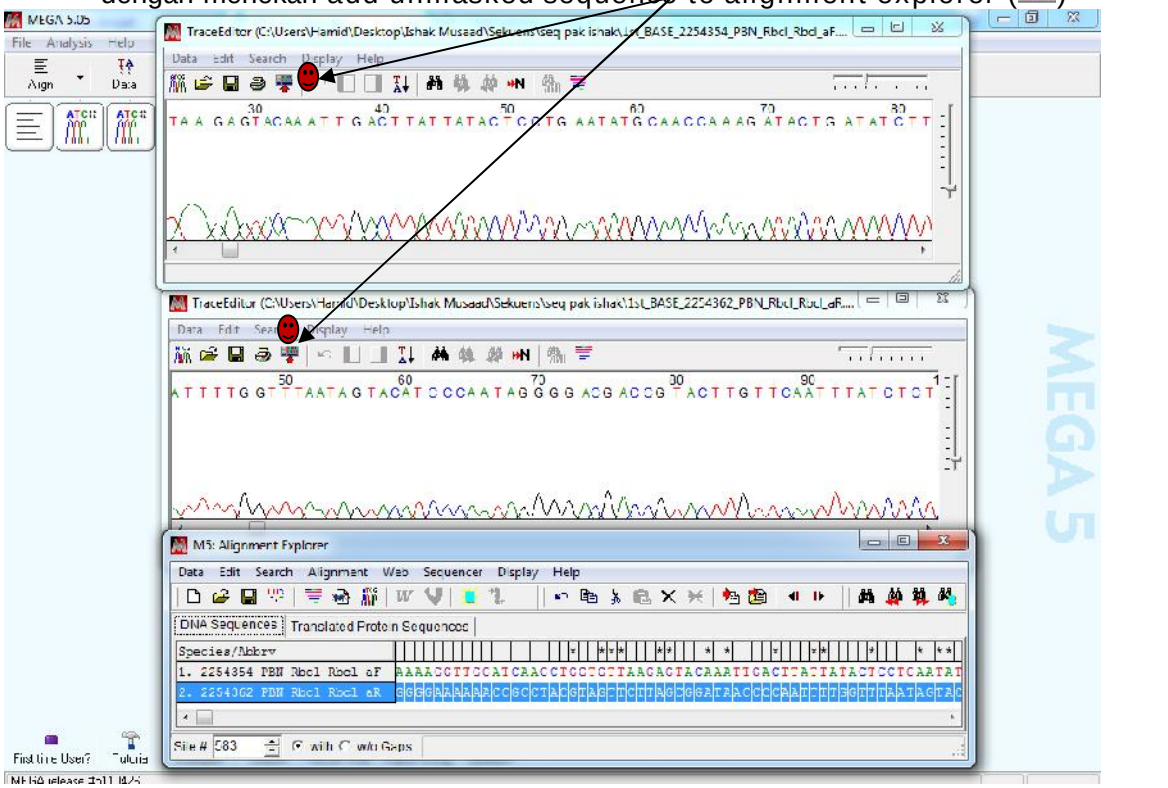
7. Atur layar untuk memudahkan pengeditan dan penjajaran (atas forward, tengah reverse, dan bawah view/edit)



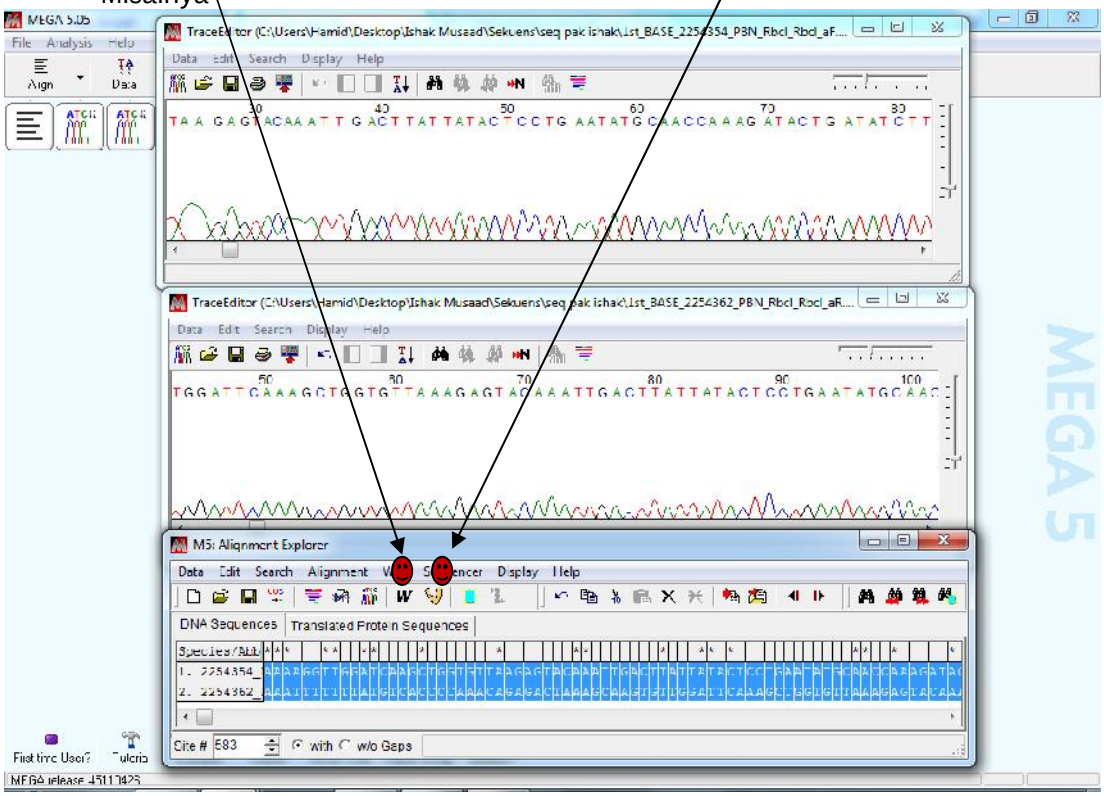
8. Pada layar file reverse, pilih reverse complement sequence ( ) untuk menyamakan arah dengan file forward.



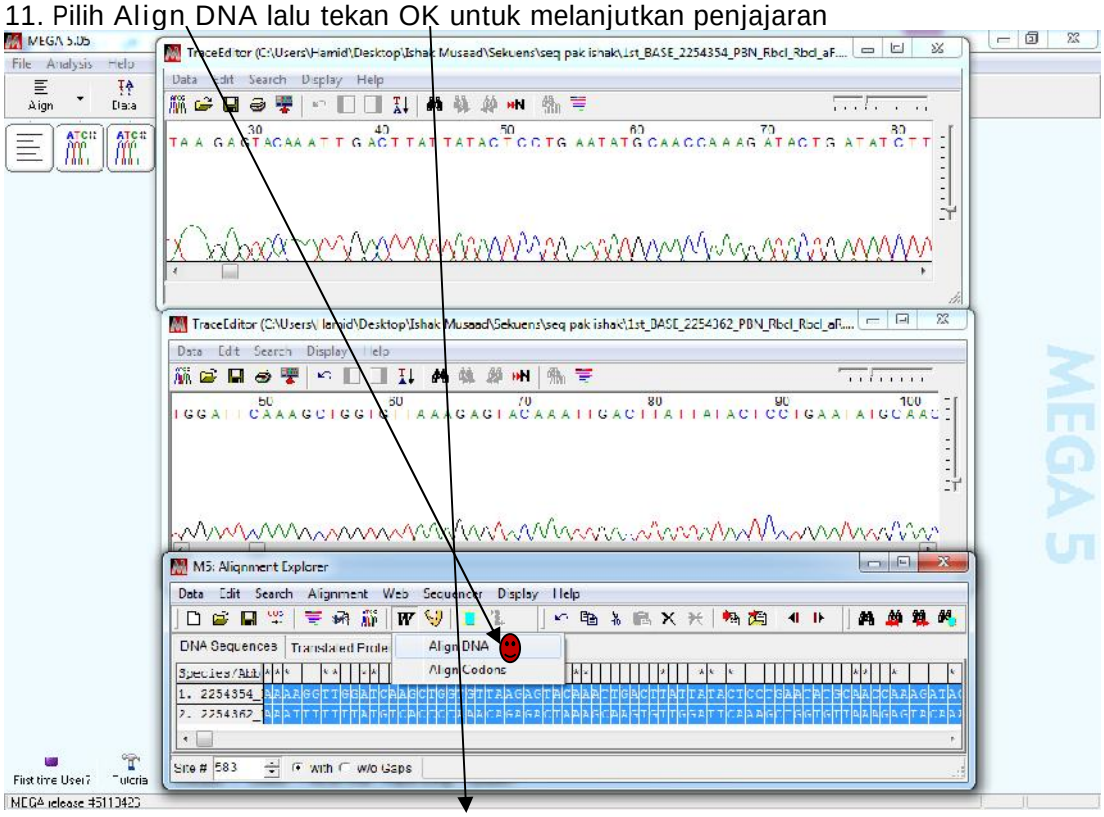
9. Pindahkan data layar forward dan reverse secara berurutan ke layar view/edit dengan menekan add unmasked sequence to alignment explorer ( )

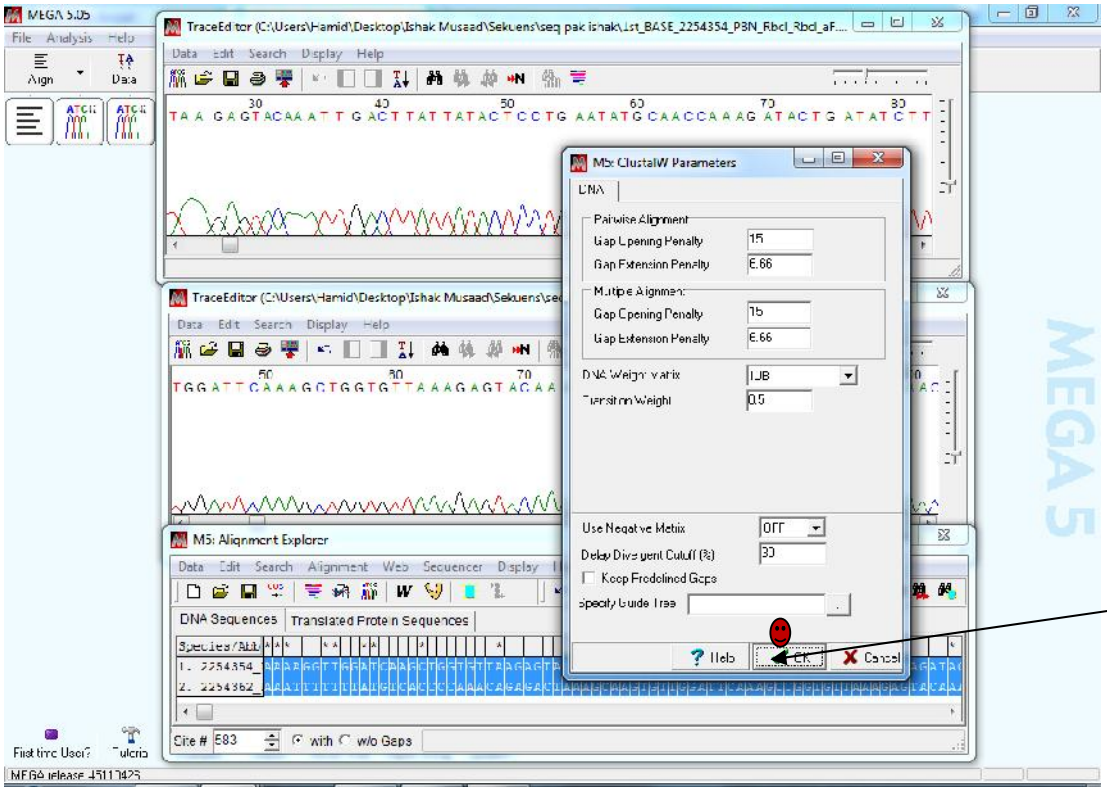


10. Block kedua sekuen (control A) untuk penjajaran dengan menekan align selected block by clustalW( ) atau align selected with MUSCLE ( ). Misalnya

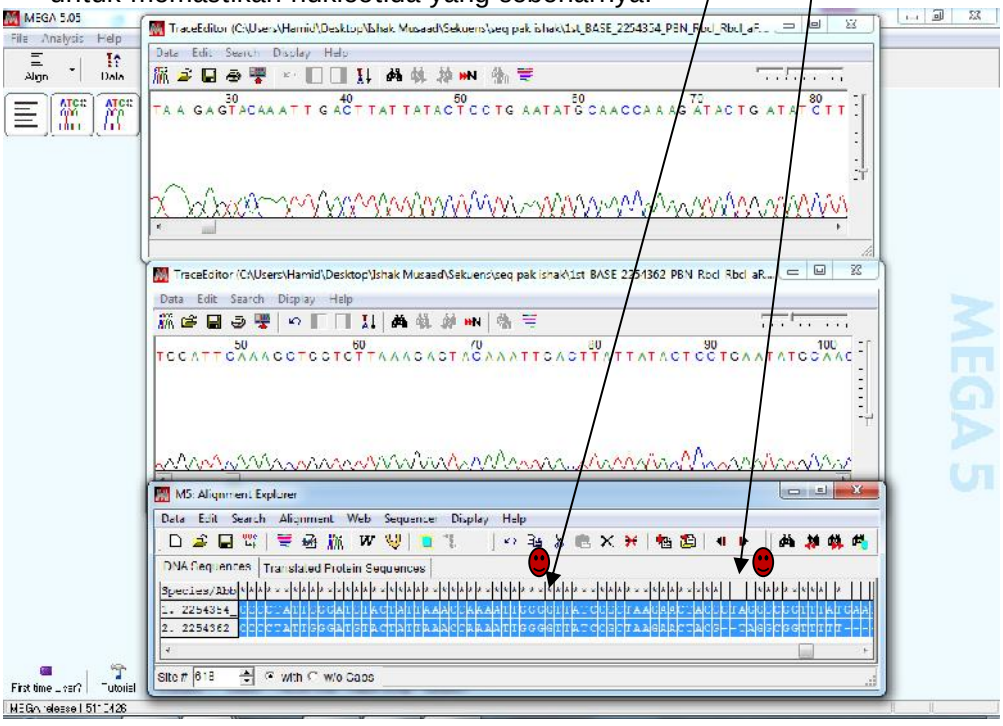


11. Pilih Align DNA lalu tekan OK untuk melanjutkan penjajaran

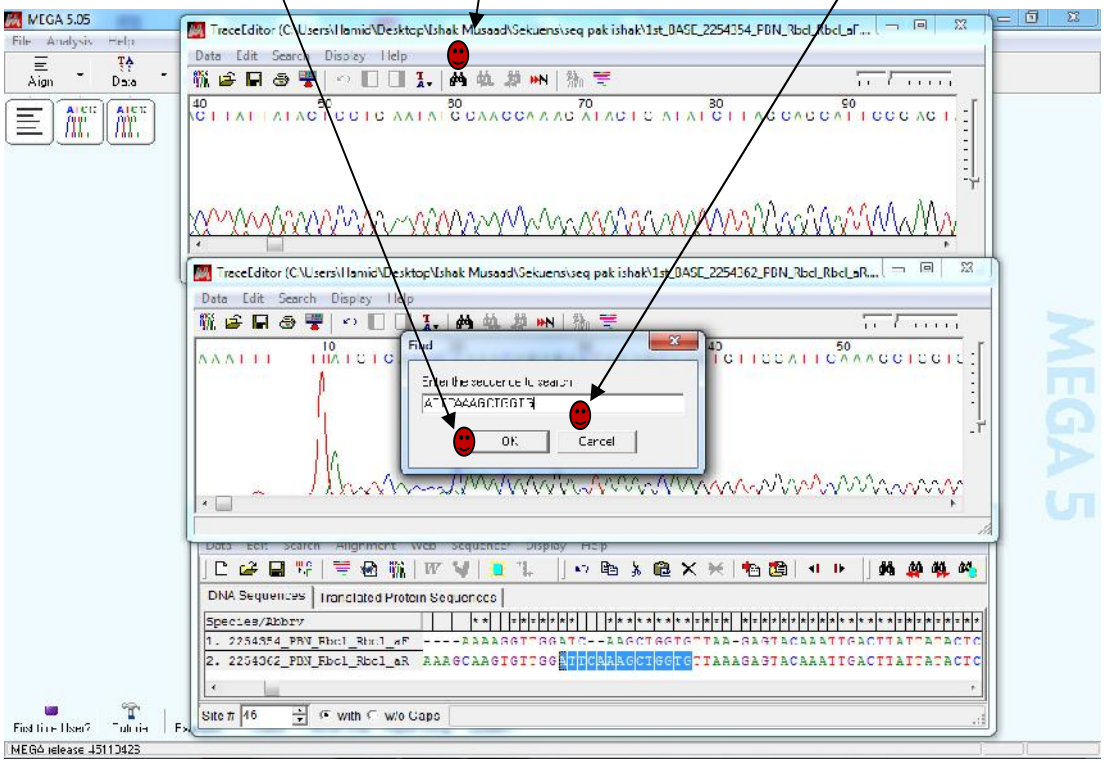




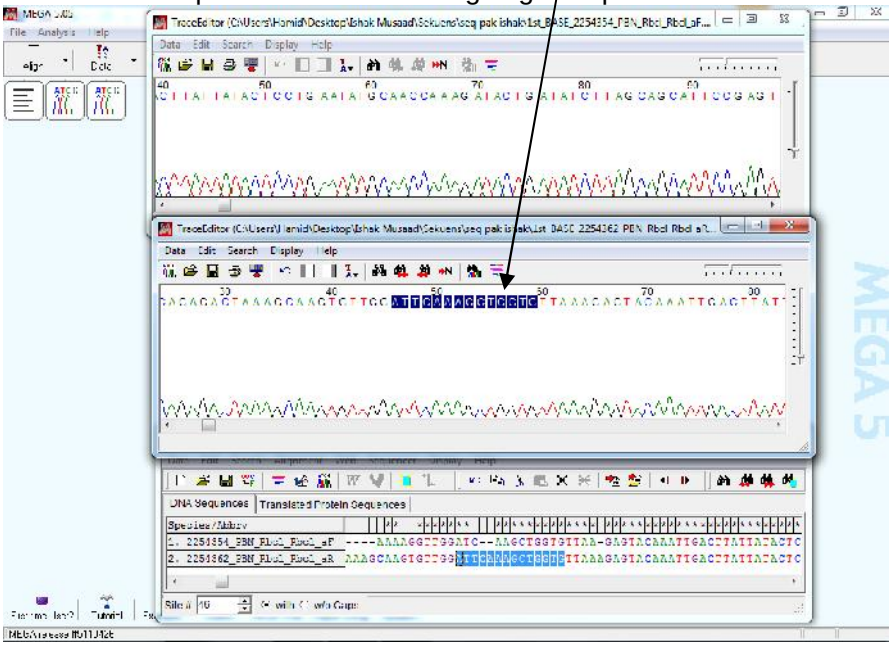
12. Pengecekan urutan nukleotida yang benar. Tanda bintang menunjukkan bahwa kedua urutan adalah identik sedangkan tanpa bintang berarti kebalikannya. PERHATIAN: KEDUA URUTAN (Forward dan Reverse) SEBENARNYA SATU URUTAN YANG DIPEROLEH MELALUI POSISI BERLAWANAN (seharusnya sama). Tanpa bintang menjadi perhatian utama untuk memastikan nukleotida yang sebenarnya.



13. Lakukan pengecekan dengan menyalin (copy) urutan tanpa bintang dan berbintang pada layar view/edit lalu cek pada urutan forward dan reverse. Perhatikan puncak-puncak kromatogram. Puncak yang baik adalah puncak tinggi dan lebar serta tanpa tumpang tindih dan tanpa puncak pengotor pada bagian bawah. Cari urutan yang disalin dengan menekan find the first position of the specified sequence atau tekan control +F ( ). Lalu tulis ulang (paste) ke dalam kotak urutan salin (enter the sequence to search) dan tekan OK. (Hal seperti ini juga dilakukan untuk pengecekan primer yang kita gunakan)

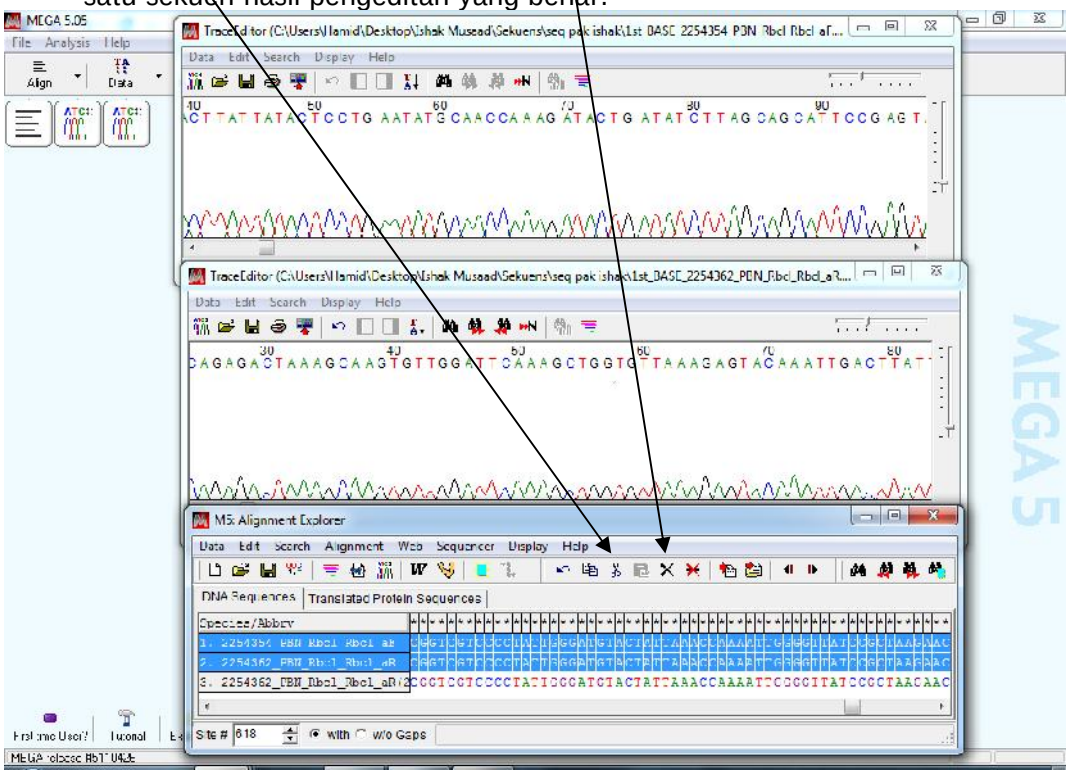


Hasil penelusuran atau pencarian ditandai highlight seperti di bawah.

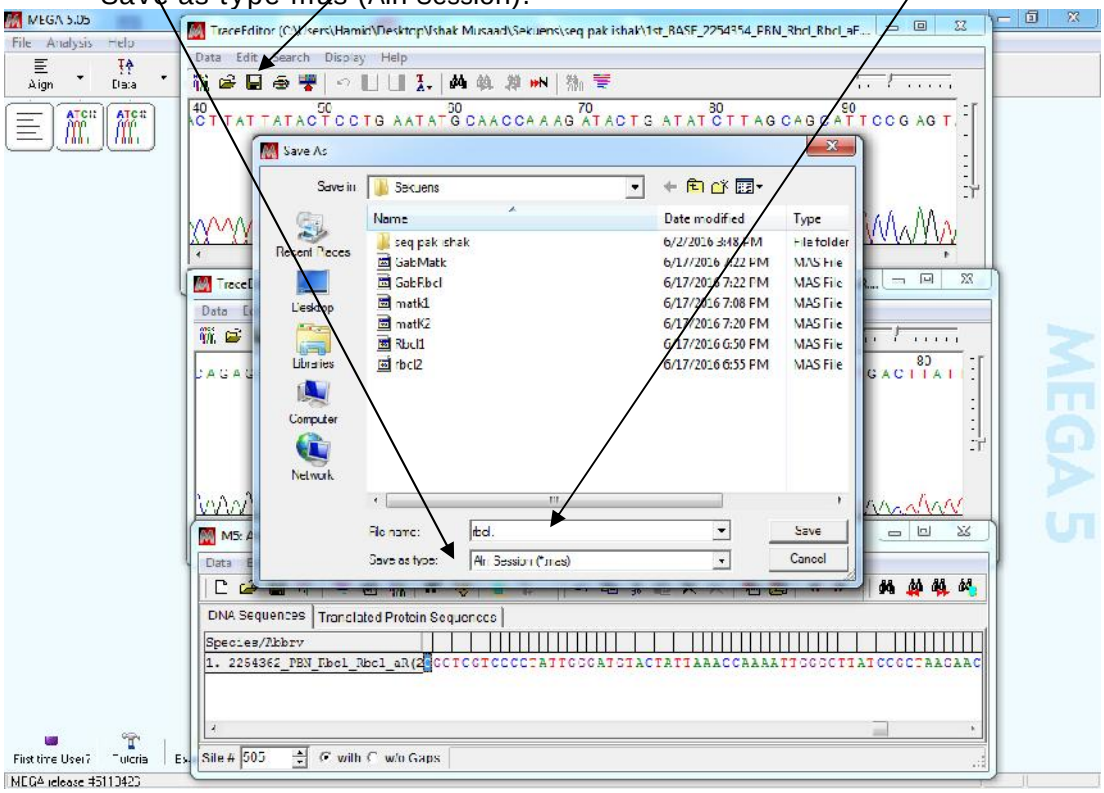


14. Bila pengeditan urutan nukleotida sudah selesai, salin (copy) salah satu urutan yang memiliki hasil sekuensing paling baik. Transkripsi (tulis ulang, paste) urutan tersebut ke bagian paling bawah (nomor 3).

15. Setelah pengeditan selesai, dua sekuen pertama dibuang dengan menekan cut to clipboard ( ) atau delete selected block ( ) sehingga menyisakan satu sekuen hasil pengeditan yang benar.

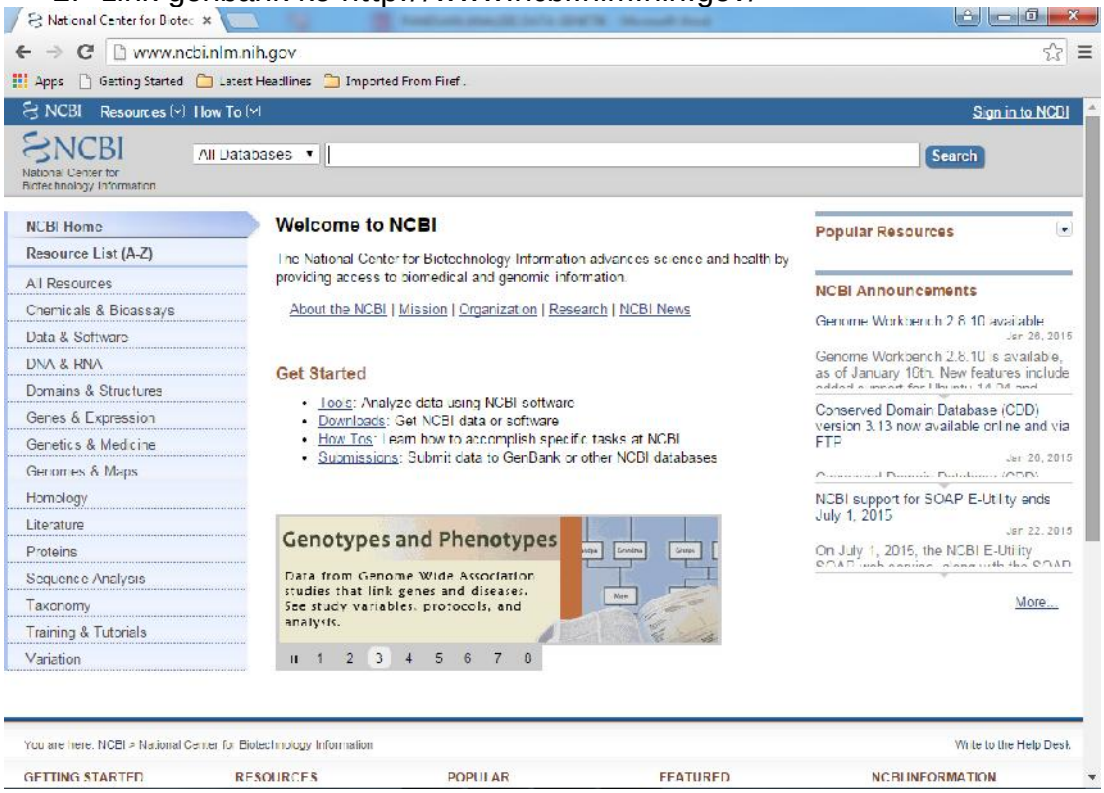


16. Sekuens yang tersisa dapat digunakan untuk analisis lanjut. Simpan sekuen ini dengan menekan Save atau Control S (), beri nama file yang sesuai dan Save as type mas (Aln Session).

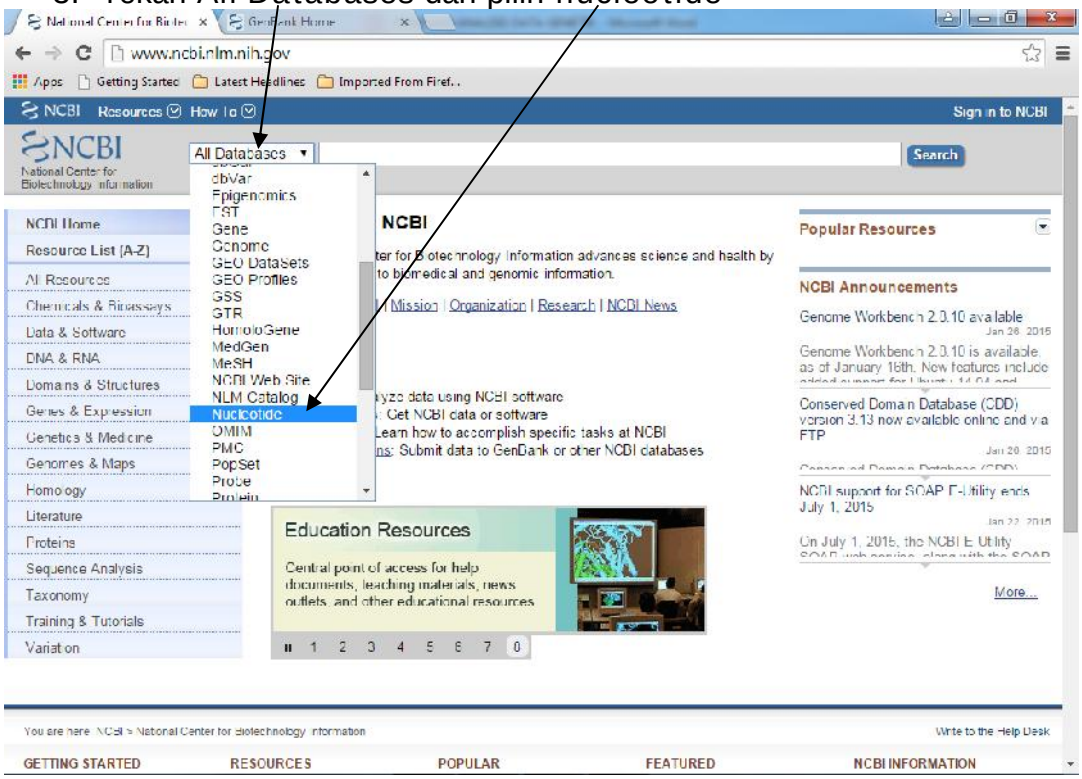


B. Data sekunder dari genBank

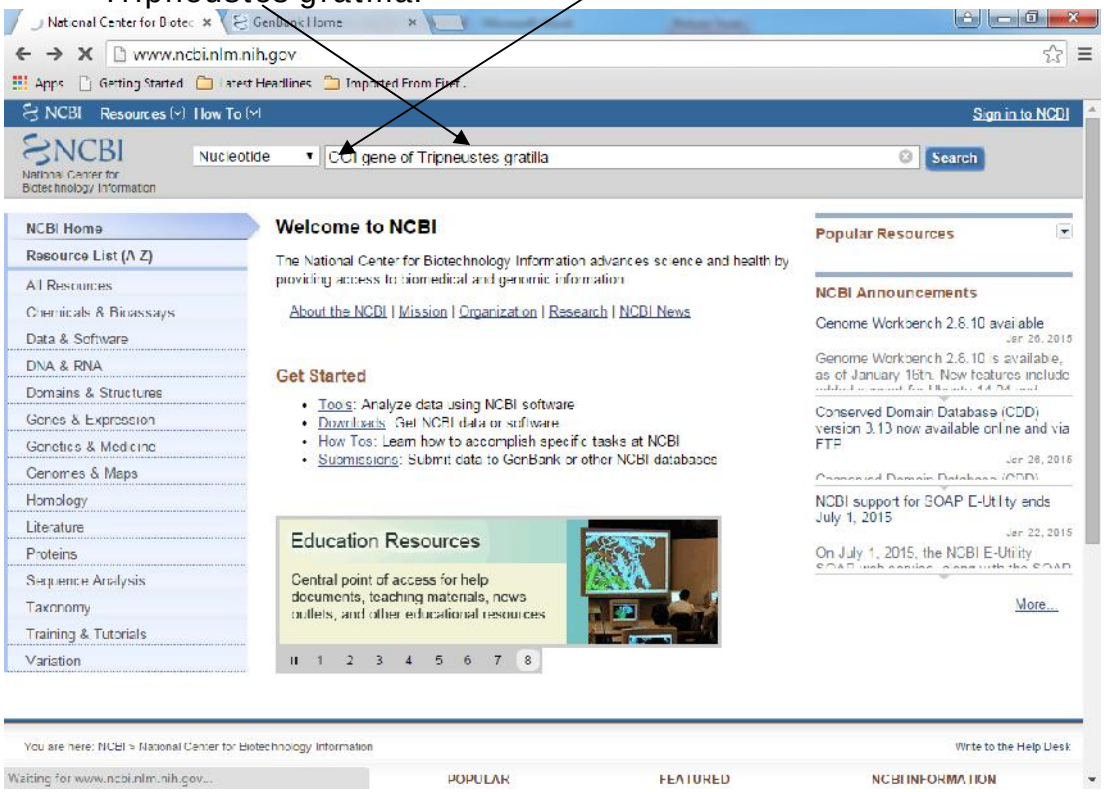
1. Tentukan marka/penanda genetik dan organisme target penelitian (sesuai dengan rencana disertasi atau publikasi masing-masing)
2. Link genbank ke http://www.ncbi.nlm.nih.gov/



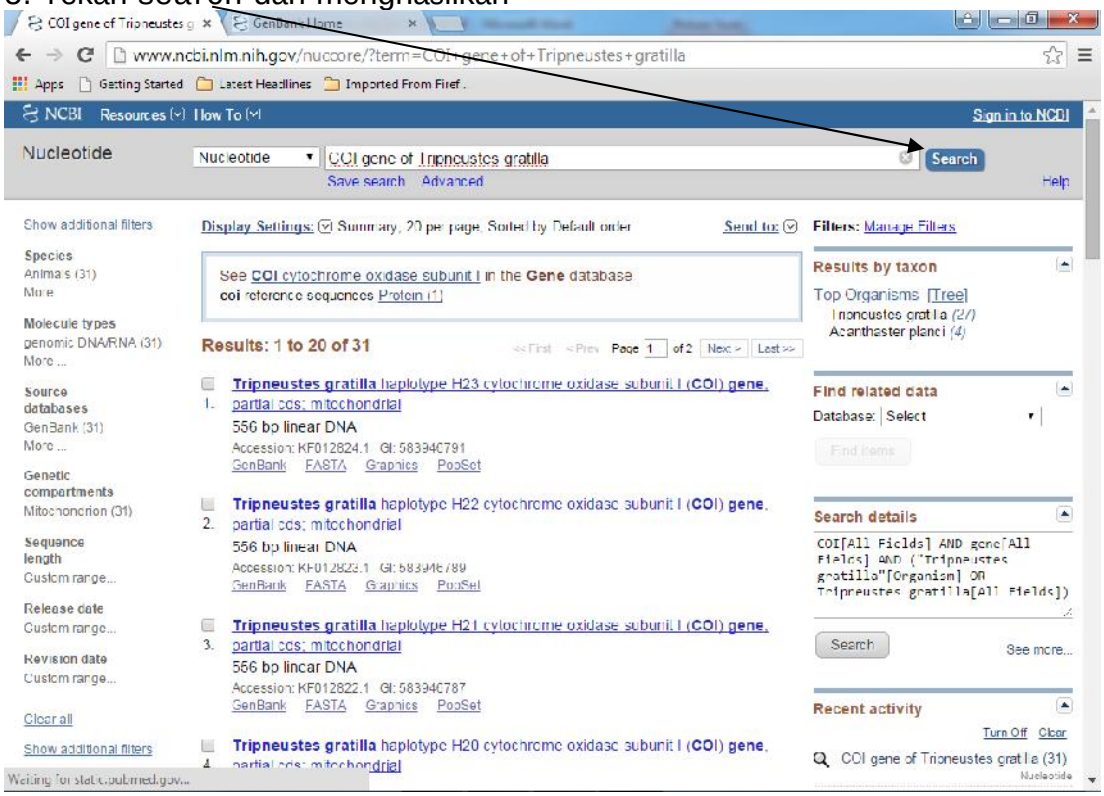
3. Tekan All Databases dan pilih nucleotide



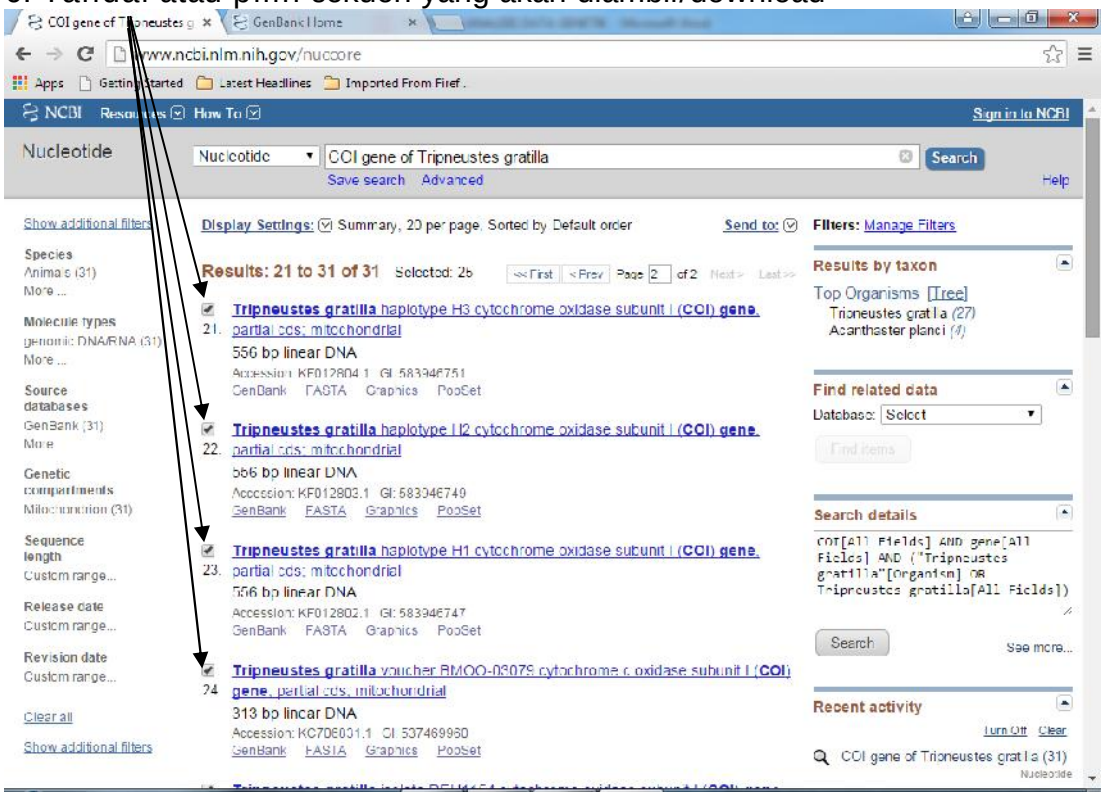
4. Tulis nama penanda genetik yang digunakan dan organisme target penelitian. Misalnya penanda genetik COI dan organisme spesies Tripneustes gratilla.



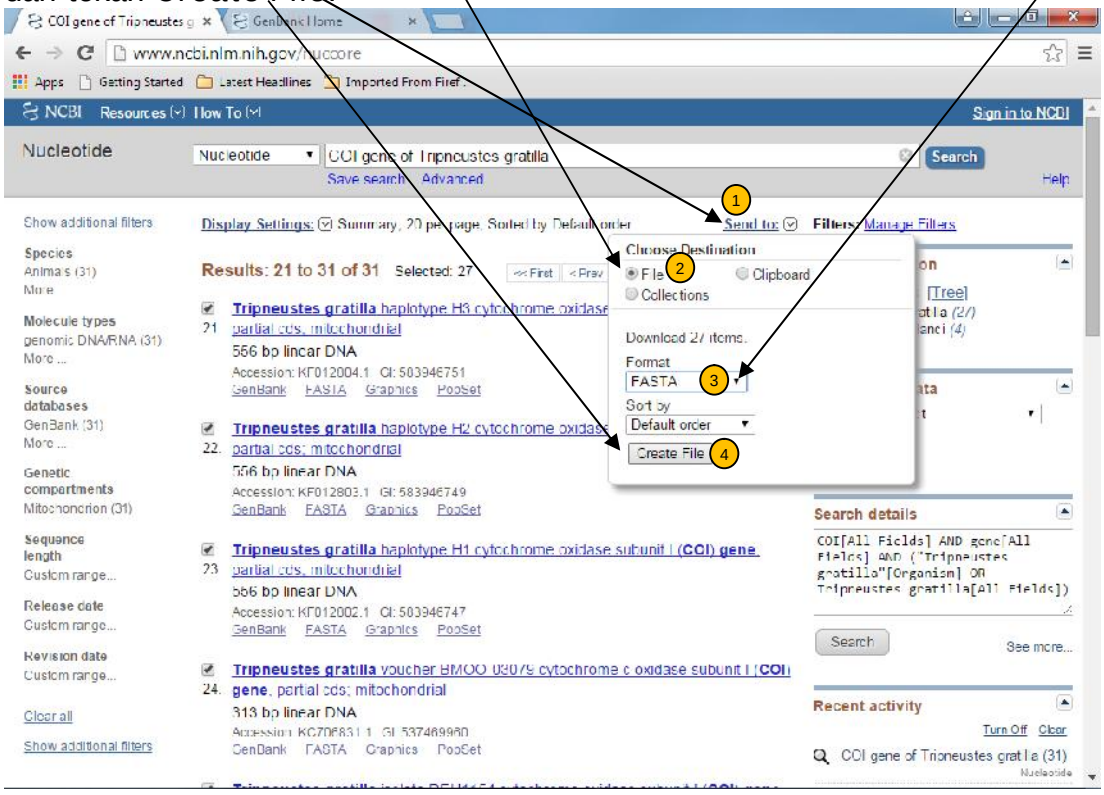
5. Tekan search dan menghasilkan



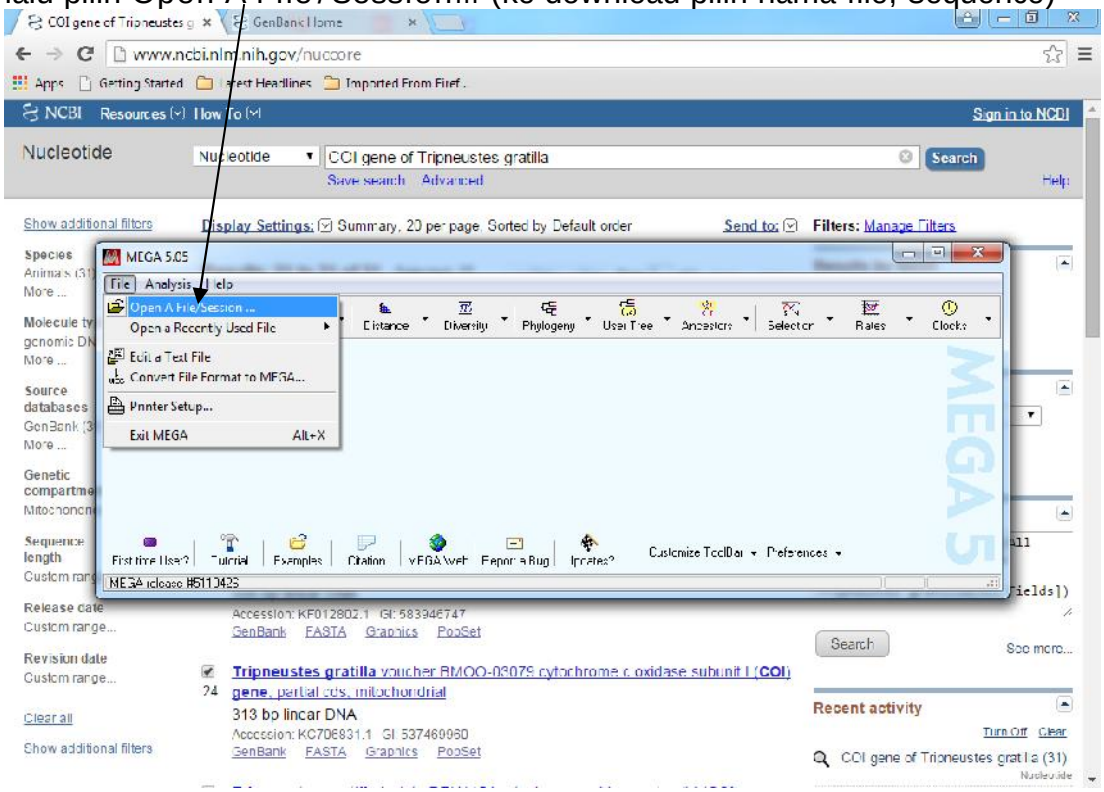
6. Tandai atau pilih sekuen yang akan diambil/download



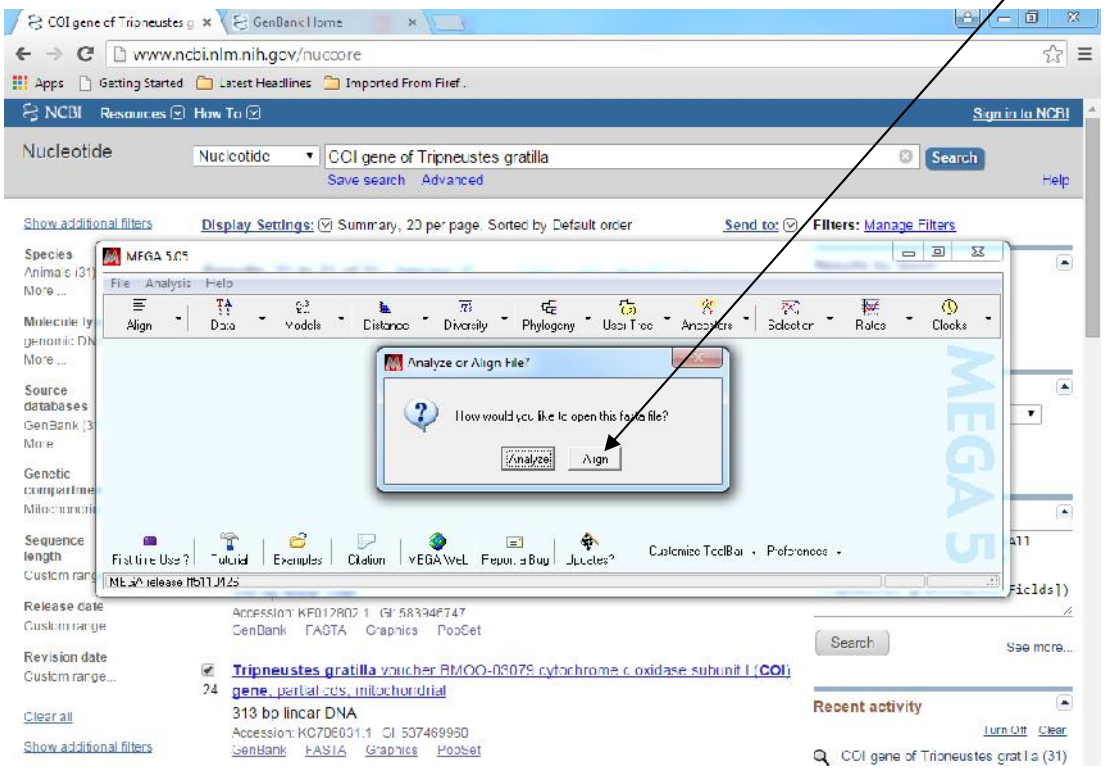
7. Tekan Send to dan pilih File (untuk buat file), lalu atur Format ke Fasta dan tekan Create File.



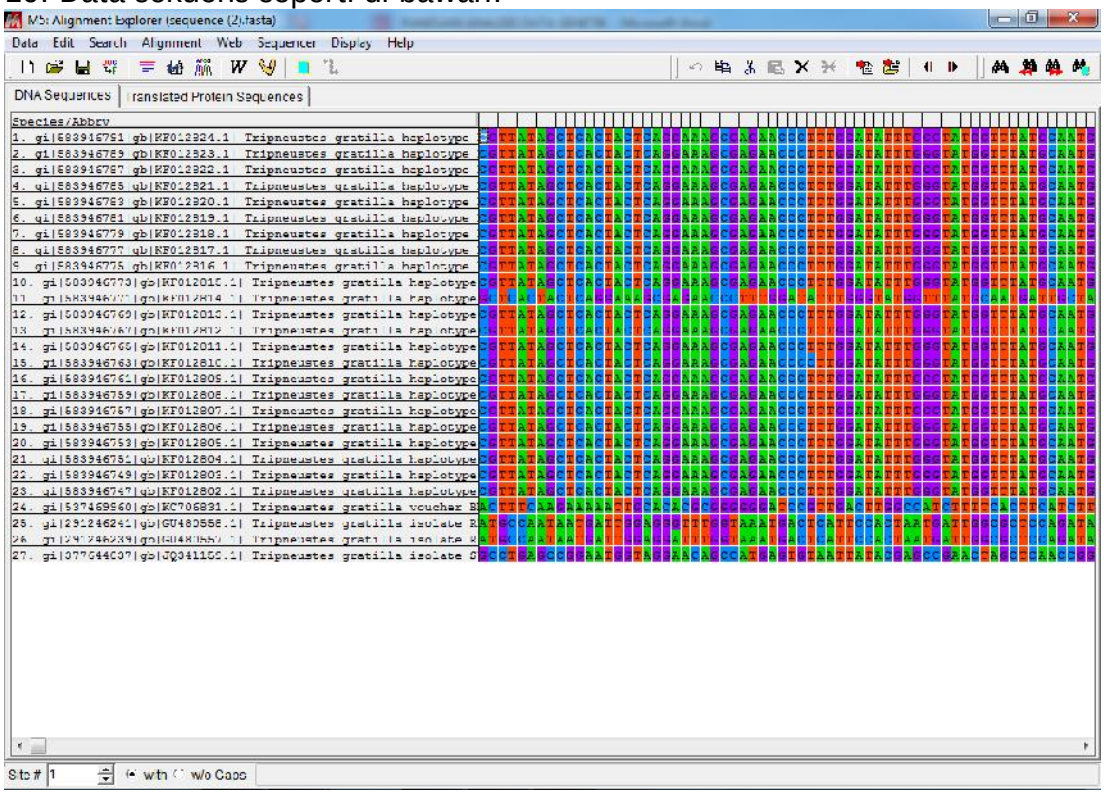
8. Lihat data yang diambil dengan membuka program MEGA 5.05. Tekan File lalu pilih Open A File / Session... (ke download pilih nama file, Sequence)



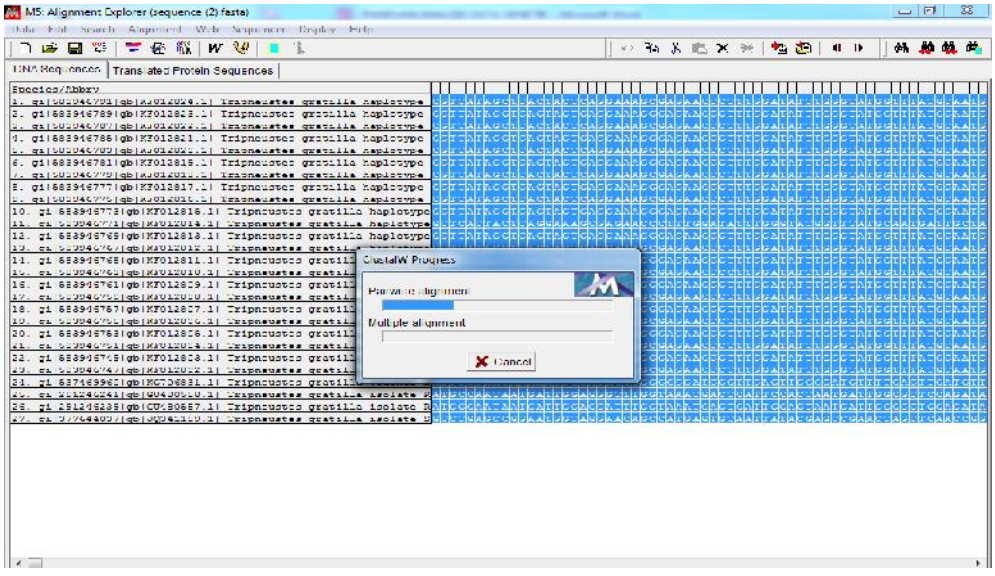
9. Pilih Align (untuk penjajaran) atau Analysis (untuk analisis). Tekan Align



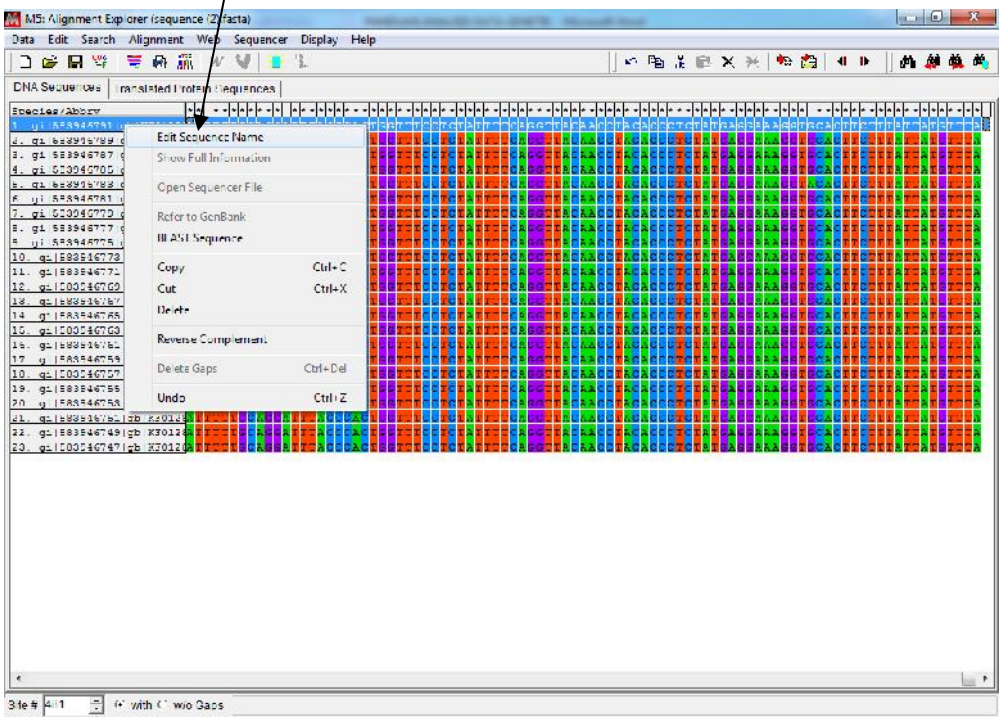
10. Data sekuens seperti di bawah:



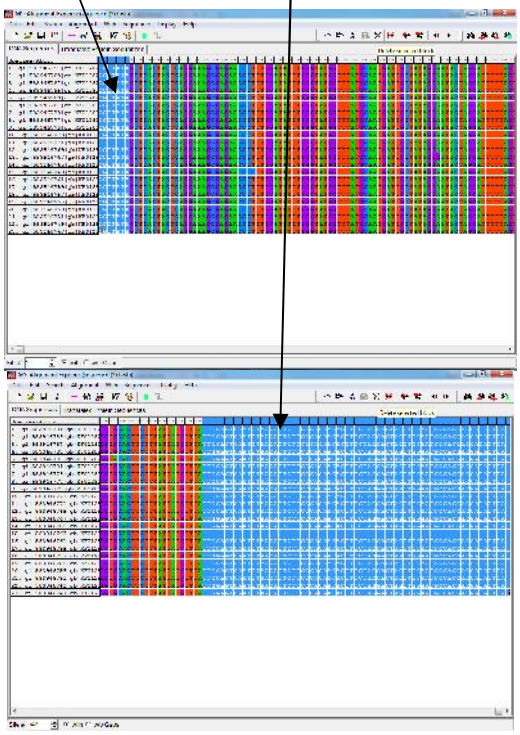
11. Blok data sekuens lalu sejajarkan dengan clustalW atau MUSCLE. Misalnya gunakan ClustalW.



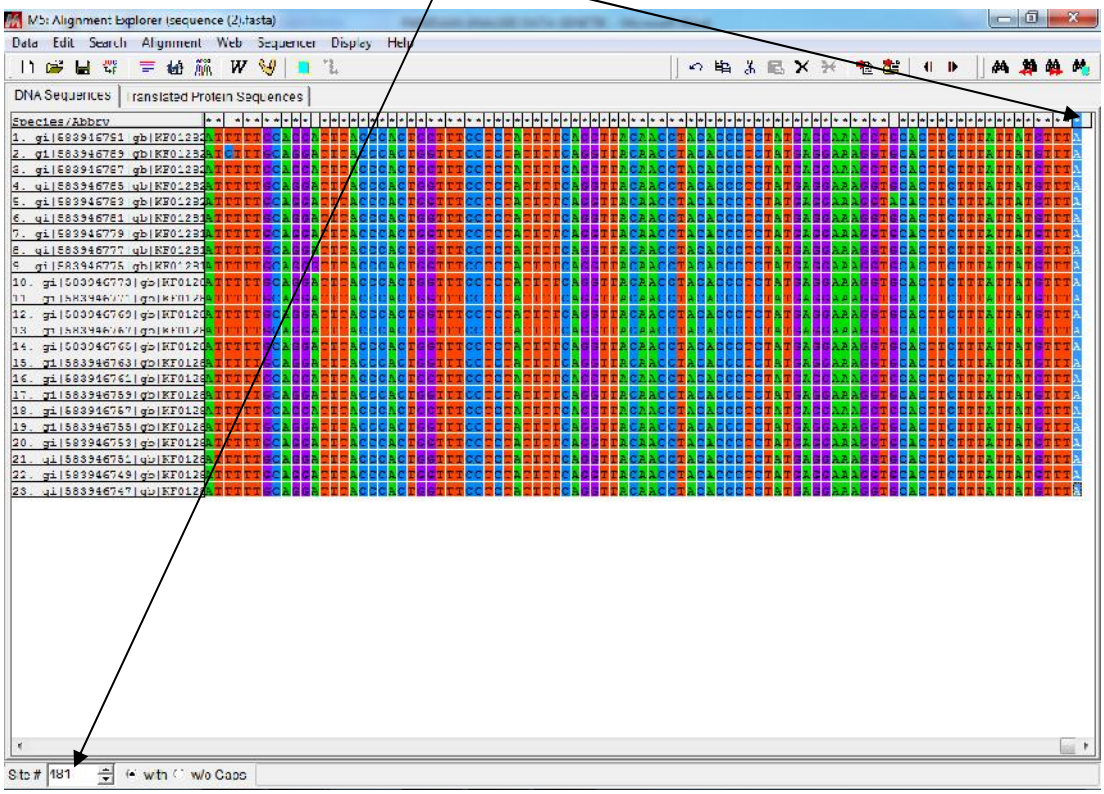
12. Edit semua sekuen. Ubah nama sekuens dengan menekan kode akses Edit name sequence. Misal T. gratilla 1 dll.



Potong nukleotida yang tidak rata dengan menekan Delete selected block ( ), mulai dari ujung kiri atau ujung kanan, dengan menyamakan jumlah nukleotida setiap sekuen.



13. Hasil pengeditan adalah sekuens yang sama panjang. Dalam hal ini panjang setiap sekuen adalah 481pb.



Hasil di atas dapat digunakan untuk analisis lanjut. Bisa digabung dengan data primer atau lainnya.

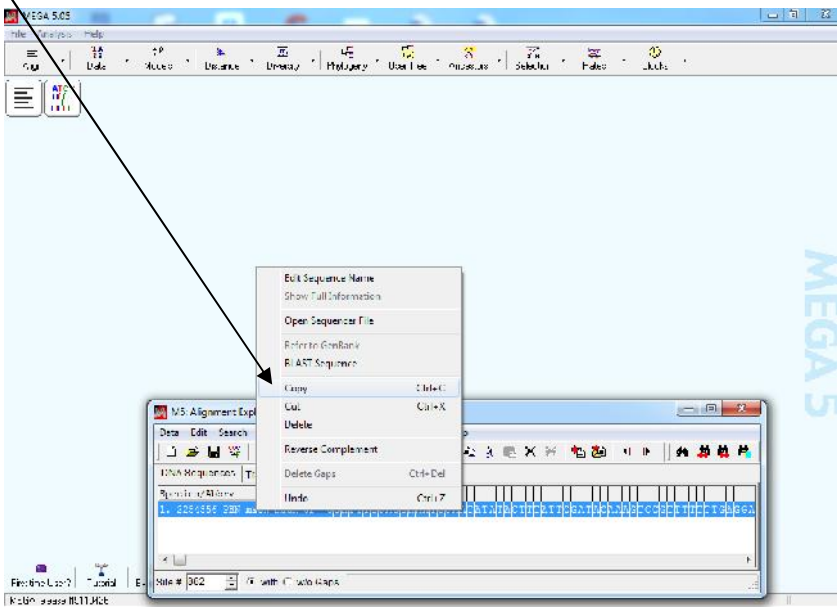
PETUNJUK KHUSUS
Tujuan: menganalisis data genetik untuk penjajaran dengan data genbank (BLAST, identifikasi), mendapatkan data karakteristik molekuler (komposisi nuleotida, prosentase GC dan AT), keragaman genetik, (polimorfik site, jumlah dan keragaman haplotipe, keragaman nukleotida), filogenetik data genetik, dan jaringan haplotipe. Petunjuk ini juga bertujuan untuk mendapatkan hasil perhitungan seperti yang ditampilkan beberapa artikel dalam jurnal nasional atau internasional.

PERHATIAN. Petunjuk khusus ini mulai dengan membuka file yang berisi data sekuen masing-masing menggunakan program MEGA5 seperti diajarkan sebelumnya (Ingat banyak program lain yang dapat digunakan untuk mengfasilitasi permulaan prosedur ini termasuk tanpa menggunakan program analisis genetik atau hanya menggunakan program Windows). Cara awal lain adalah langsung ke website blastn ncbi atau ncbi dengan terlebih dahulu menyalin (copy) urutan nukleotida yang akan digunakan oleh peneliti.

C. Identifikasi Individu secara Online

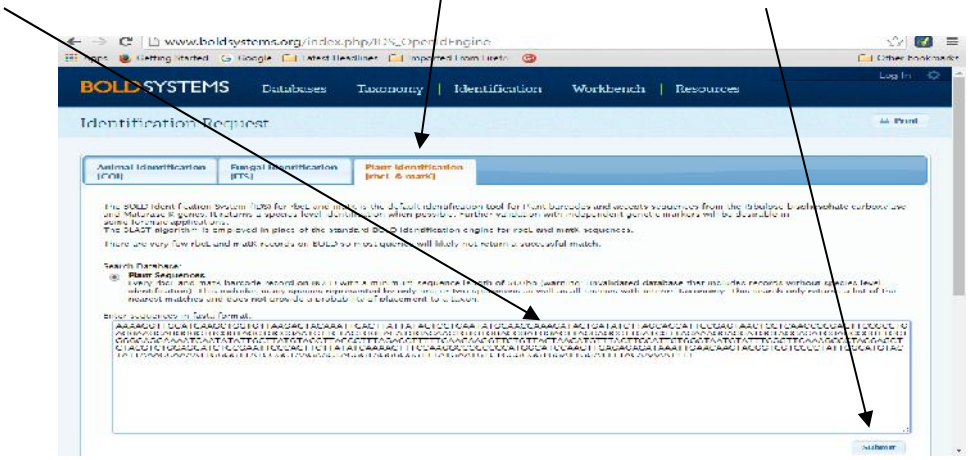
Menentukan identitas individu secara molekuler diantaranya dapat dilakukan secara mandiri dengan analisis tunggal atau berjenjang dengan 1) BLAST, 2) filogenetik, 3) jarak genetik, dan lain-lain. Misalkan menggunakan Bold System (DNA Barcode) dan atau BLAST Basic local alignment search tool (BLAST), alat mencari penjajaran lokal dasar yang dapat melaporkan nama ilmiah spesies organisme (organism report), hubungan organisme melalui laporan keturunan (lineage report), dan ringkasan klasifikasi organisme (taxonomy report).

Prosedur mengidentifikasi menggunakan Bold System sebagai berikut:
1. Copy sekuens yang akan diidentifikasi dengan cara menekan mouse bagian kanan tepat pada sekuen atau arahkan kursor ke sekuens untuk copy manual.

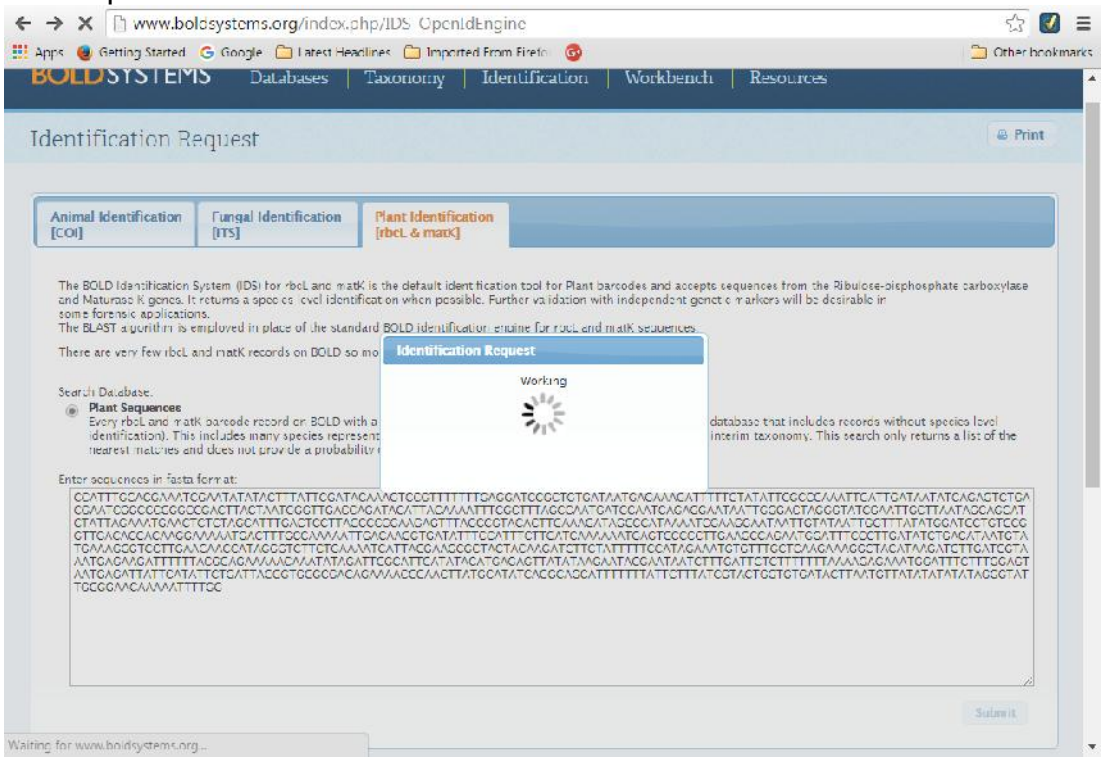


2. Ke: http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine

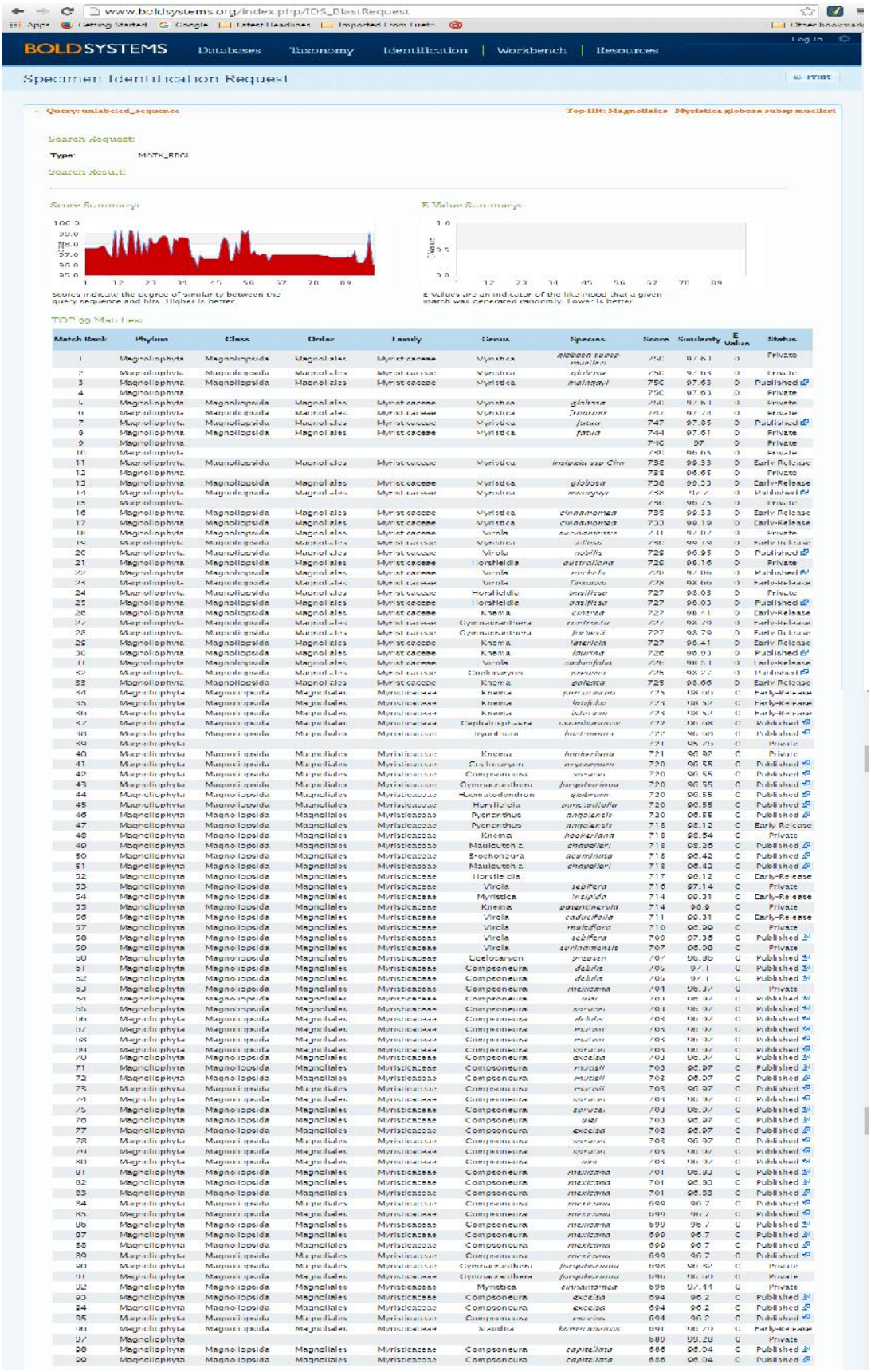
3. Pilih jenis organisme target yang diidentifikasi (ada tiga pilihan masing-masing untuk hewan gunakan COI, jamur gunakan ITS, dan tanaman menggunakan rbcl dan matK). Misalkan identifikasi tanaman menggunakan marka rbcL, pilih Plant identification (rbcL & matK). Masukkan atau paste sekuens organisme yang akan diidentifikasi lalu tekan submit.



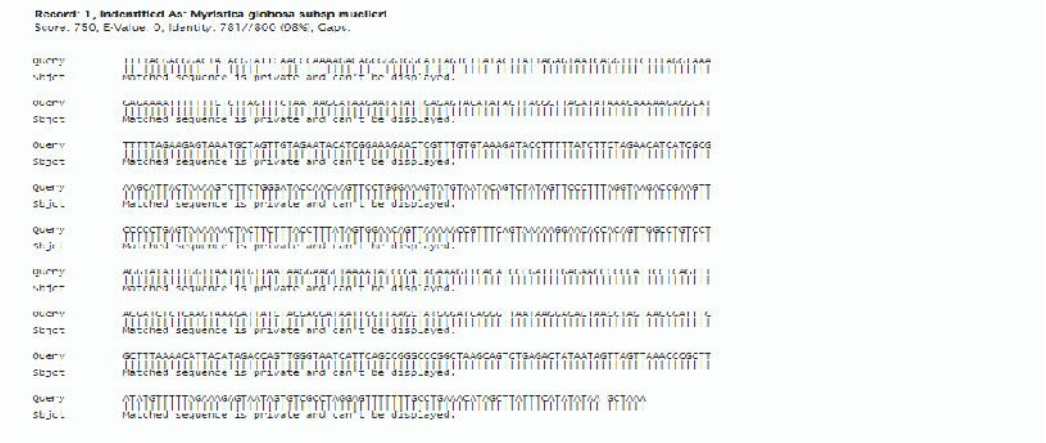
Proses permintaan identifikasi sekuens:



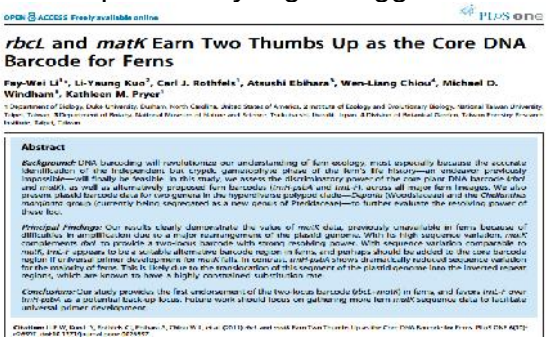
Hasil permintaan identifikasi sebagai berikut:

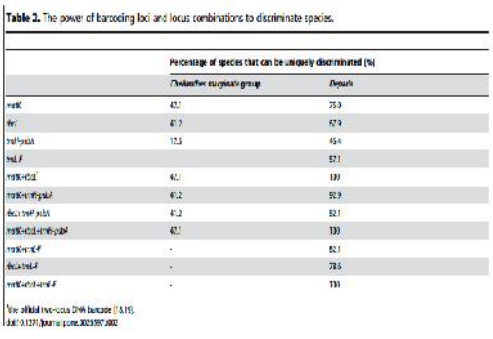


Match Rank	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Score	Similarity	E Value	Status
1	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	globosa subsp macilori	758	97.61	0	Private
2	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	globosa	758	97.61	0	Private
3	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	malaccensis	750	97.63	0	Published
4	Magnoliophyta						750	97.63	0	Private
5	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	globosa	758	97.61	0	Private
6	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	fragrans	744	97.74	0	Private
7	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	fatua	747	97.85	0	Published
8	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	fatua	744	97.61	0	Private
9	Magnoliophyta						740	97	0	Private
10	Magnoliophyta						738	96.95	0	Private
11	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	inutilis var Cim	738	99.33	0	Early Release
12	Magnoliophyta						738	96.65	0	Private
13	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	globosa	736	99.33	0	Early Release
14	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	macrantha	736	97.7	0	Published
15	Magnoliophyta						736	96.75	0	Private
16	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	cinnamomea	735	99.33	0	Early Release
17	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	cinnamomea	733	99.19	0	Early Release
18	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Virola	surinamensis	731	97.87	0	Private
19	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	elliptica	730	99.19	0	Early Release
20	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Virola	nobilis	729	96.95	0	Published
21	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Horsfieldia	australiana	729	98.16	0	Private
22	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Virola	michelii	728	97.86	0	Published
23	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Virola	flexuosa	728	98.66	0	Early Release
24	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Horsfieldia	basifissa	727	98.03	0	Private
25	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Horsfieldia	basifissa	727	98.03	0	Published
26	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Knema	glauca	727	98.41	0	Early Release
27	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Gymnacranthera	contracta	727	98.29	0	Early Release
28	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Gymnacranthera	farquhariana	727	98.79	0	Early Release
29	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Knema	latericia	727	98.41	0	Early Release
30	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Knema	laurina	726	96.93	0	Published
31	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Virola	sebifera	726	98.51	0	Early Release
32	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Endocomia	preussii	725	97.77	0	Published
33	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Knema	pallens	725	98.66	0	Early Release
34	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Knema	pierrei var	725	98.98	0	Early Release
35	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Knema	latifolia	725	98.52	0	Early Release
36	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Knema	glauca	725	98.52	0	Early Release
37	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Endocomia	macrantha	722	98.98	0	Published
38	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Iryanthera	hostmannii	722	98.98	0	Published
39	Magnoliophyta						721	96.79	0	Private
40	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Knema	beccariana	721	96.39	0	Private
41	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Osteophloeum	angustifolium	720	96.55	0	Published
42	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	sprucei	720	96.55	0	Published
43	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Gymnacranthera	farquhariana	720	96.55	0	Published
44	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Haematoxylon	glabrum	720	96.55	0	Published
45	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Horsfieldia	pamplettiana	720	96.55	0	Published
46	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Pycnanthus	angolensis	720	96.55	0	Published
47	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Pycnanthus	angolensis	718	98.12	0	Early Release
48	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Knema	hookeriana	718	98.54	0	Private
49	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Mauloutchia	chevalieri	718	98.35	0	Published
50	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Brochoneura	acuminata	718	98.42	0	Published
51	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Mauloutchia	chevalieri	718	98.42	0	Published
52	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Horsfieldia		717	98.12	0	Early Release
53	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Virola	sebifera	716	97.14	0	Private
54	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	insipida	714	99.31	0	Early Release
55	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Knema	pseudolaurina	714	98.9	0	Private
56	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Virola	caducifolia	711	99.31	0	Early Release
57	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Virola	multiflora	710	96.99	0	Private
58	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Virola	sebifera	709	97.35	0	Published
59	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Virola	surinamensis	707	96.99	0	Private
60	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Coelocaryon	preussii	707	96.36	0	Published
61	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	debilis	705	97.1	0	Published
62	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	debilis	705	97.1	0	Published
63	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mexicana	704	96.37	0	Private
64	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	sprucei	704	96.37	0	Published
65	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	sprucei	704	96.37	0	Published
66	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	debilis	704	96.37	0	Published
67	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mutisii	704	96.37	0	Published
68	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mutisii	704	96.37	0	Published
69	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	sprucei	704	96.37	0	Published
70	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	excelsa	703	96.27	0	Published
71	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mutisii	703	96.97	0	Published
72	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mutisii	703	96.97	0	Published
73	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mutisii	703	96.97	0	Published
74	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	sprucei	703	96.37	0	Published
75	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	sprucei	703	96.37	0	Published
76	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	uxi	703	96.97	0	Published
77	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	excelsa	703	96.97	0	Published
78	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	sprucei	703	96.97	0	Published
79	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	sprucei	703	96.37	0	Published
80	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	uxi	703	96.37	0	Published
81	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mexicana	701	96.33	0	Published
82	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mexicana	701	96.33	0	Published
83	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mexicana	701	96.58	0	Published
84	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mexicana	699	96.7	0	Published
85	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mexicana	699	96.7	0	Published
86	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mexicana	699	96.7	0	Published
87	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mexicana	699	96.7	0	Published
88	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mexicana	699	96.7	0	Published
89	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	mexicana	699	96.7	0	Published
90	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Gymnacranthera	farquhariana	698	96.56	0	Private
91	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Gymnacranthera	farquhariana	698	96.56	0	Private
92	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Myristica	cinnamomea	696	97.11	0	Private
93	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	excelsa	694	96.2	0	Published
94	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	excelsa	694	96.2	0	Published
95	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	excelsa	694	96.2	0	Published
96	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Staudia	kamerunensis	691	96.79	0	Early Release
97	Magnoliophyta						689	96.28	0	Private
98	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	capitellata	686	96.04	0	Published
99	Magnoliophyta	Magnoliopsida	Magnoliales	Myristicaceae	Compsoneura	capitellata	686	96.04	0	Published



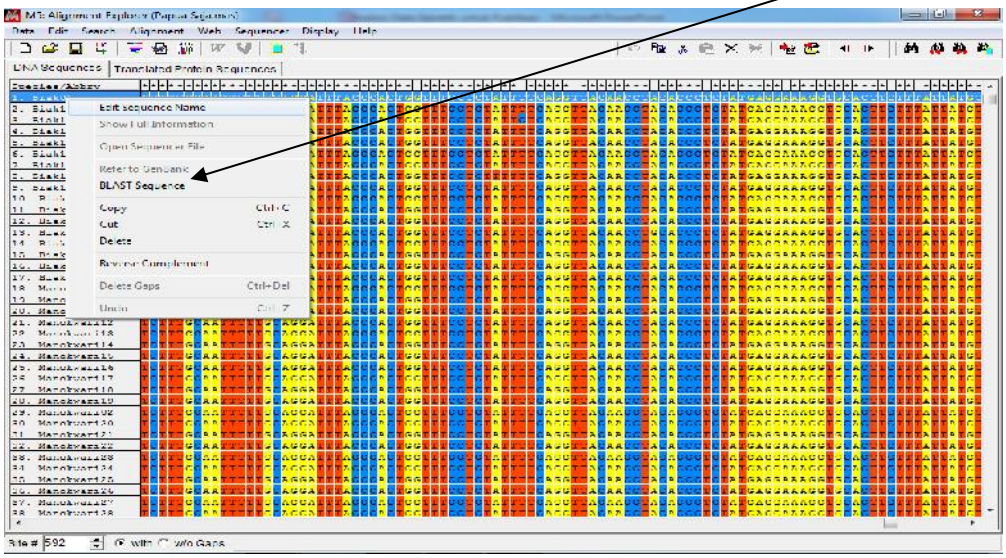
Contoh publikasi yang menggunakan Barkode DNA



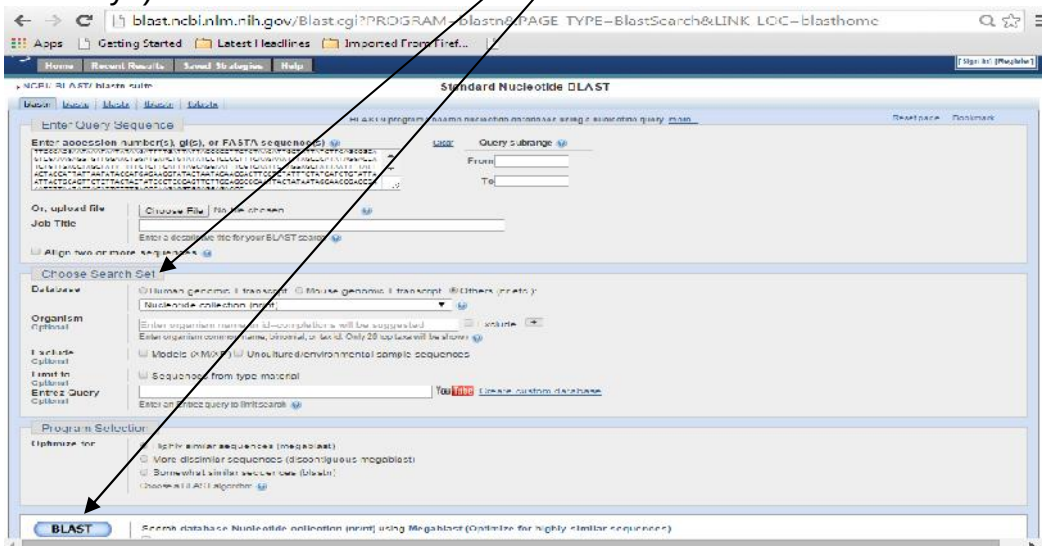


Sedangkan prosedur melakukan BLAST (nBLAST=nucleotide BLAST):

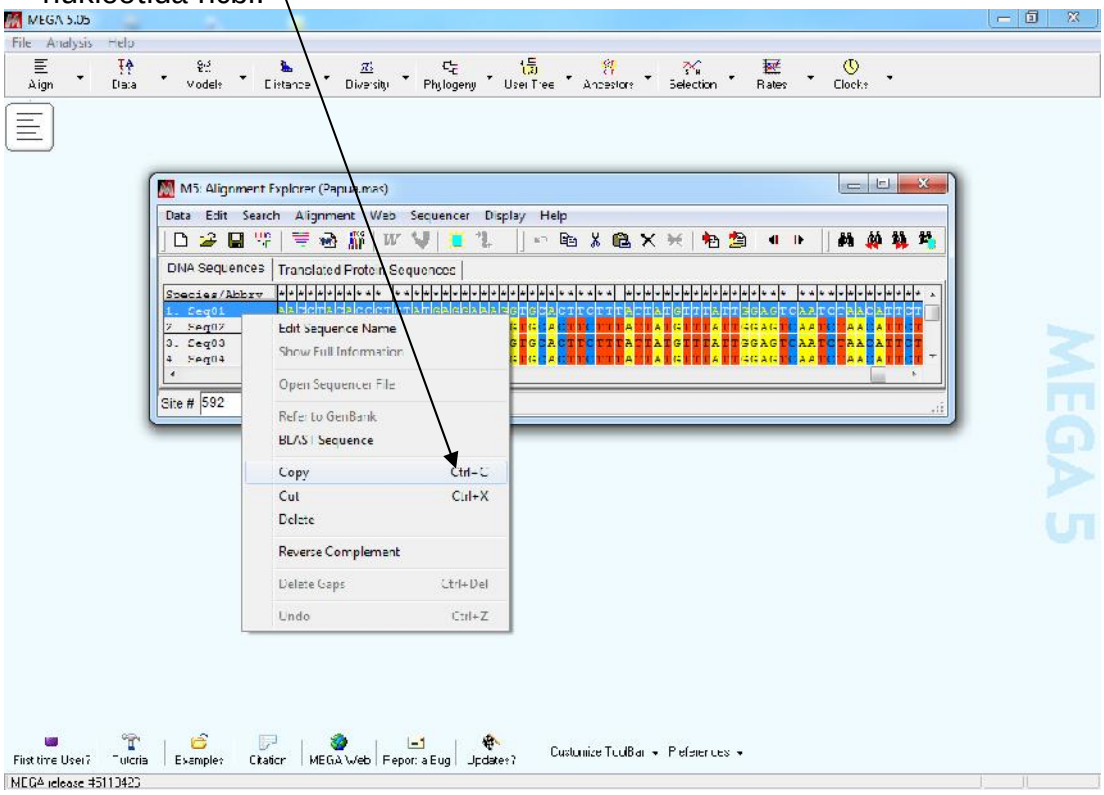
1. Tentukan sekuen yang akan di-BLAST dengan menekan sekuen target menggunakan bagian kanan mouse. Arahkan kursor ke BLAST Sequence



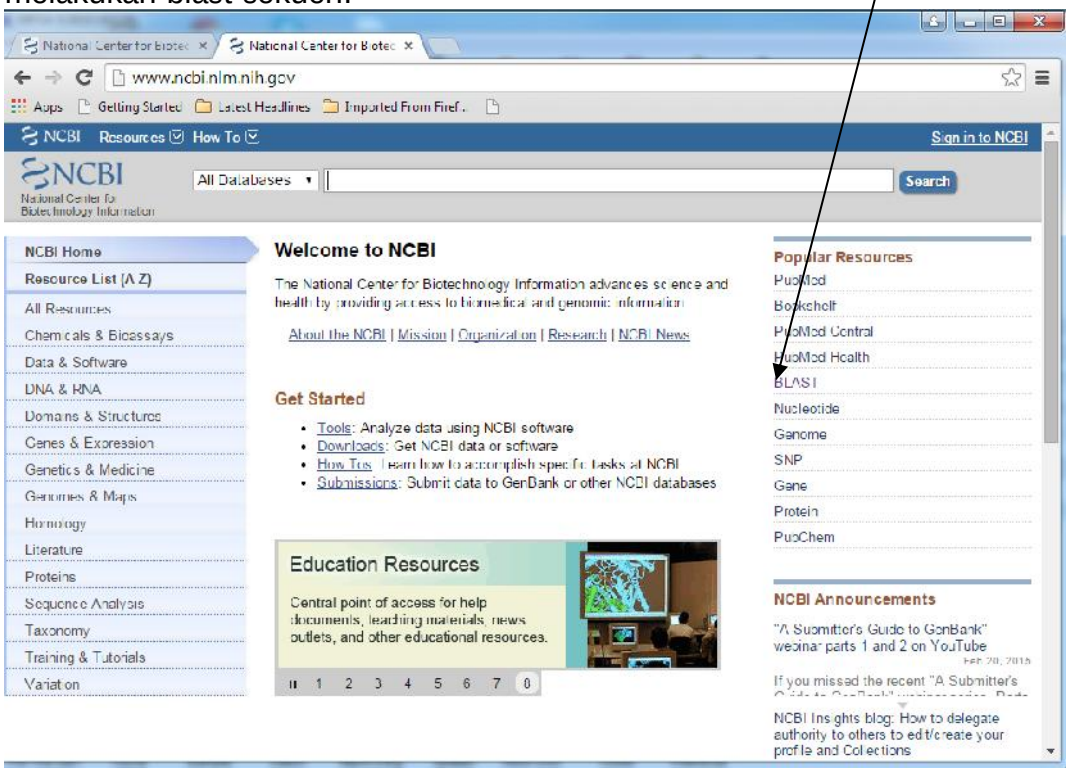
2. (Hasilnya seperti di bawah). Lanjutkan dengan menyesuaikan datasheet dengan sampel yang dimiliki, seperti Choose search set (sesuaikan denan jenis organisme) dan Optimize for (pilih highly similar atau lainnya).



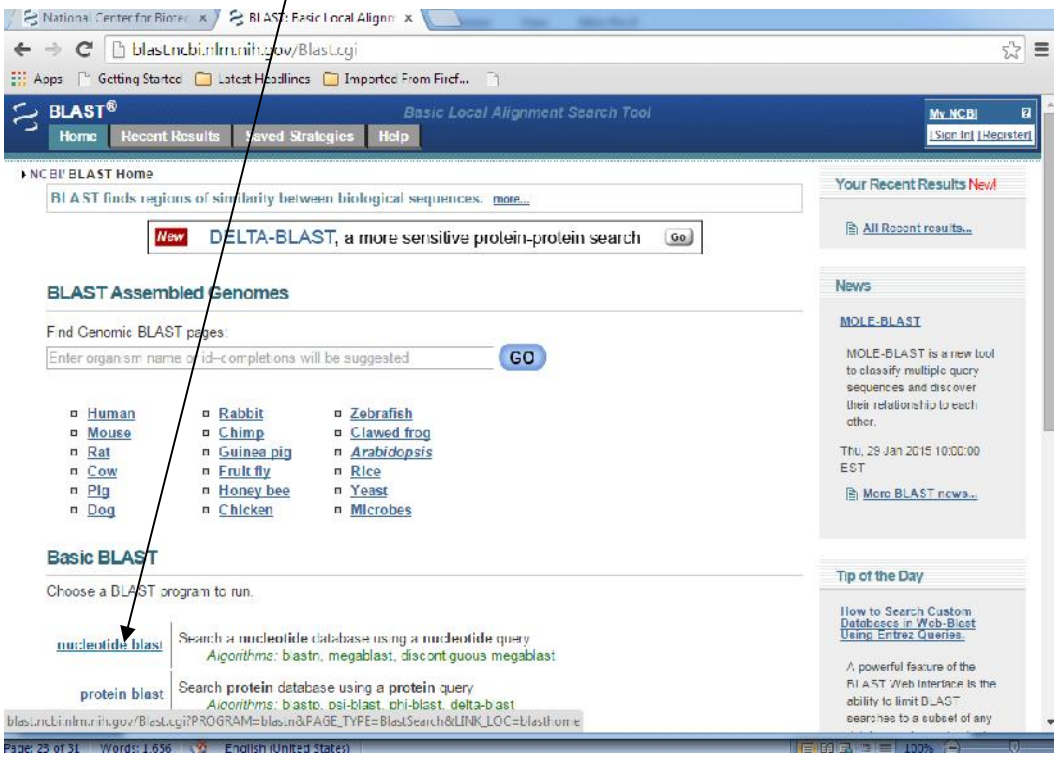
1. Cara lain, salin (copy) urutan nukleotida target lalu transkripsi ke kotak nukleotida ncbi.



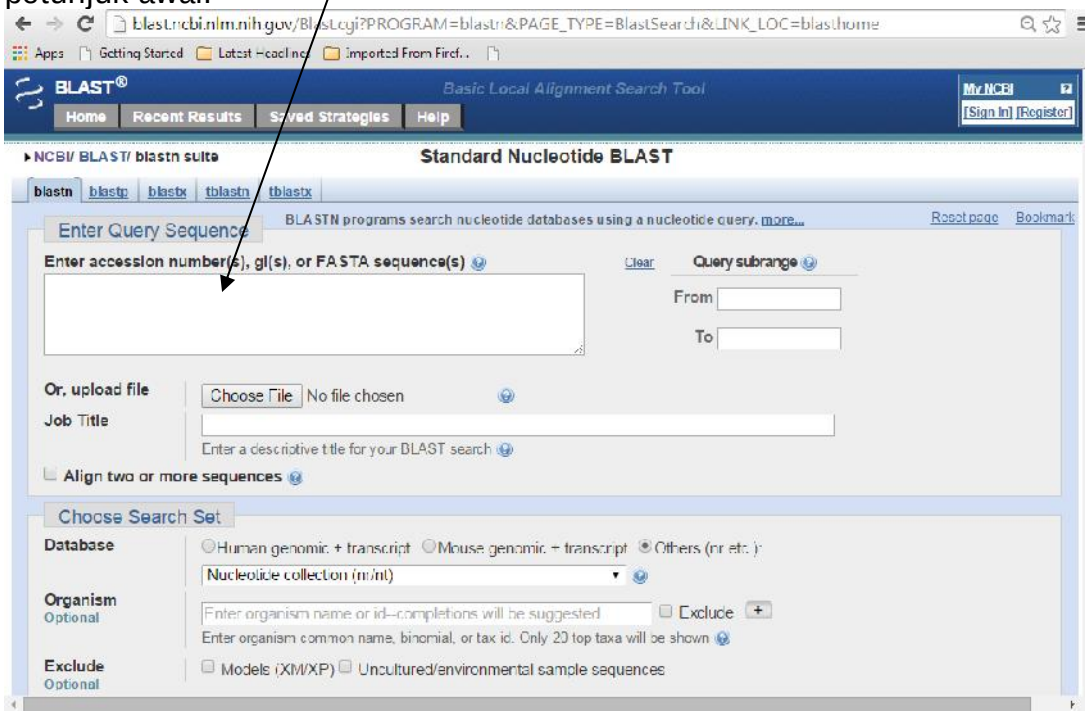
2. Link ke internet dan akses ke www.ncbi.nlm.nih.gov. Pilih BLAST untuk melakukan blast sekuen.



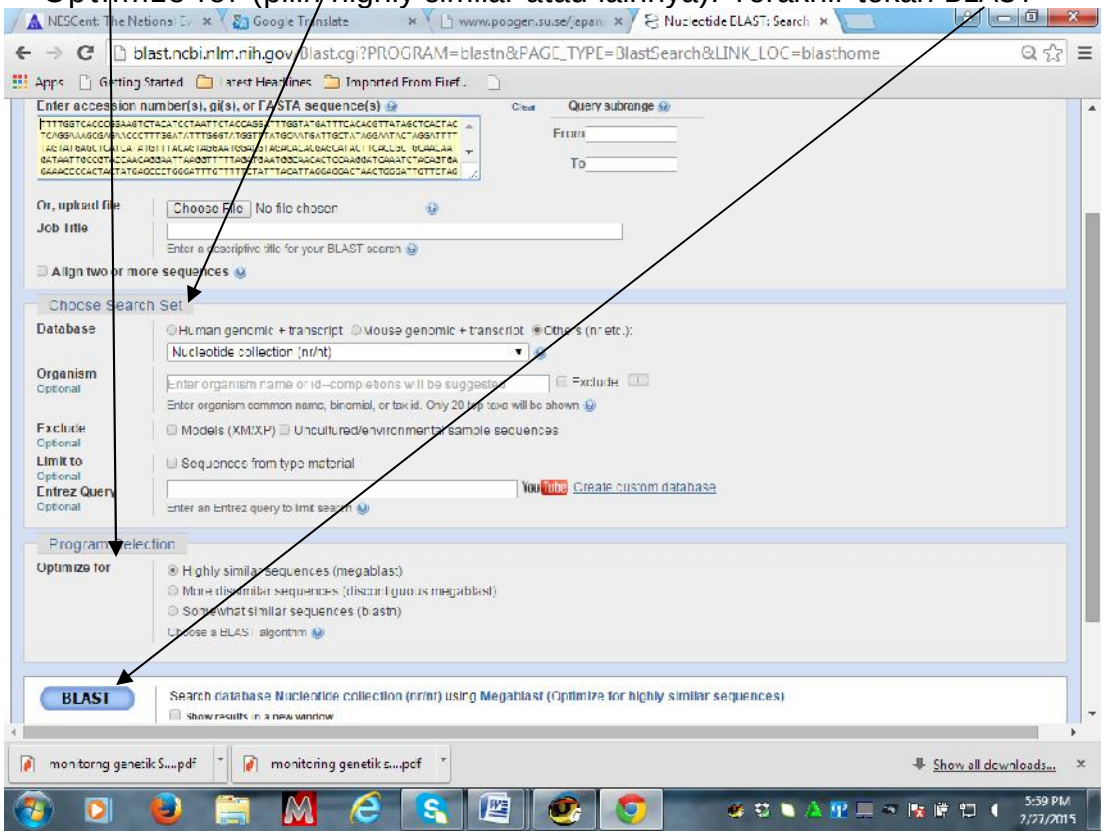
3. Pilih nucloeitde blast untuk mulai blast



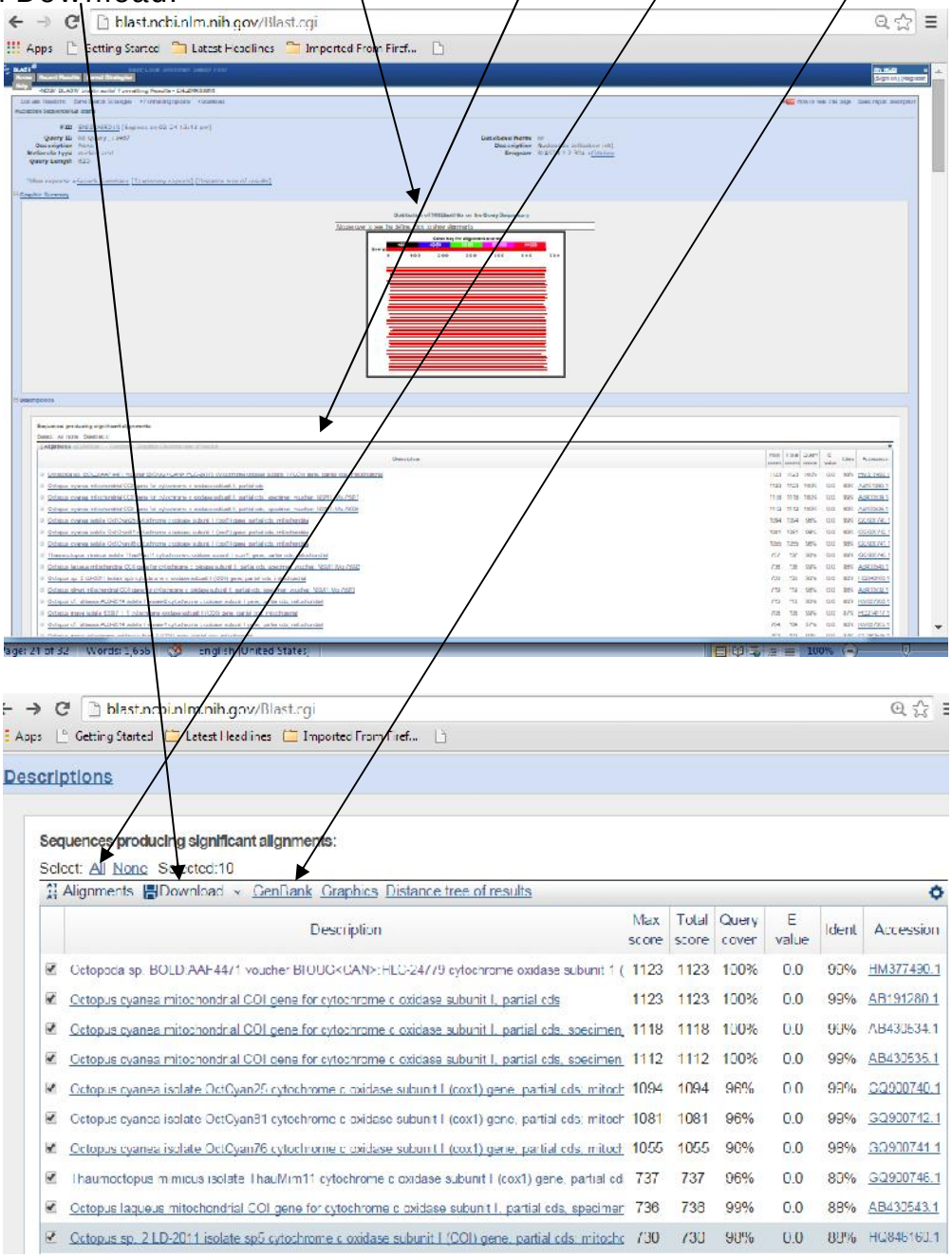
4. Salin sekuens ke kotak Blast (seperti no. 2). Lalu lakukan seperti pada petunjuk awal.



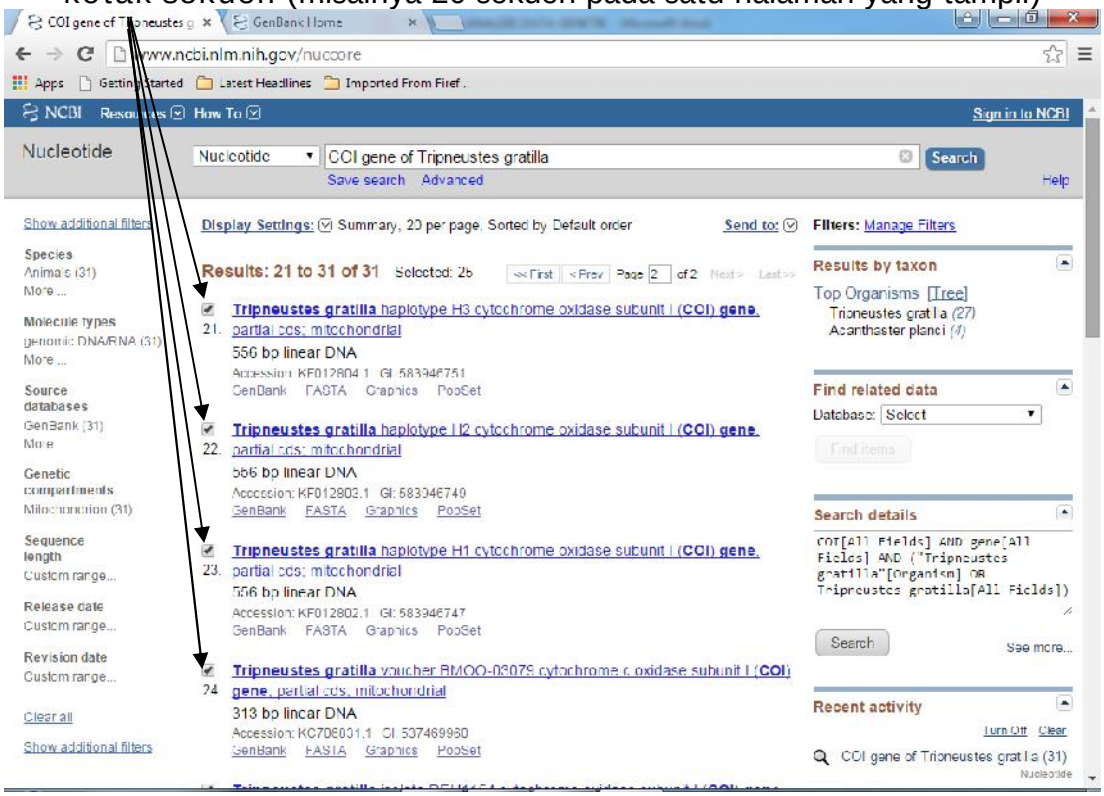
5. Lanjutkan dengan menyesuaikan datasheet dengan sampel yang dimiliki, seperti Choose search set (sesuaikan denan jenis organisme) dan Optimize for (pilih highly similar atau lainnya). Terakhir tekan BLAST



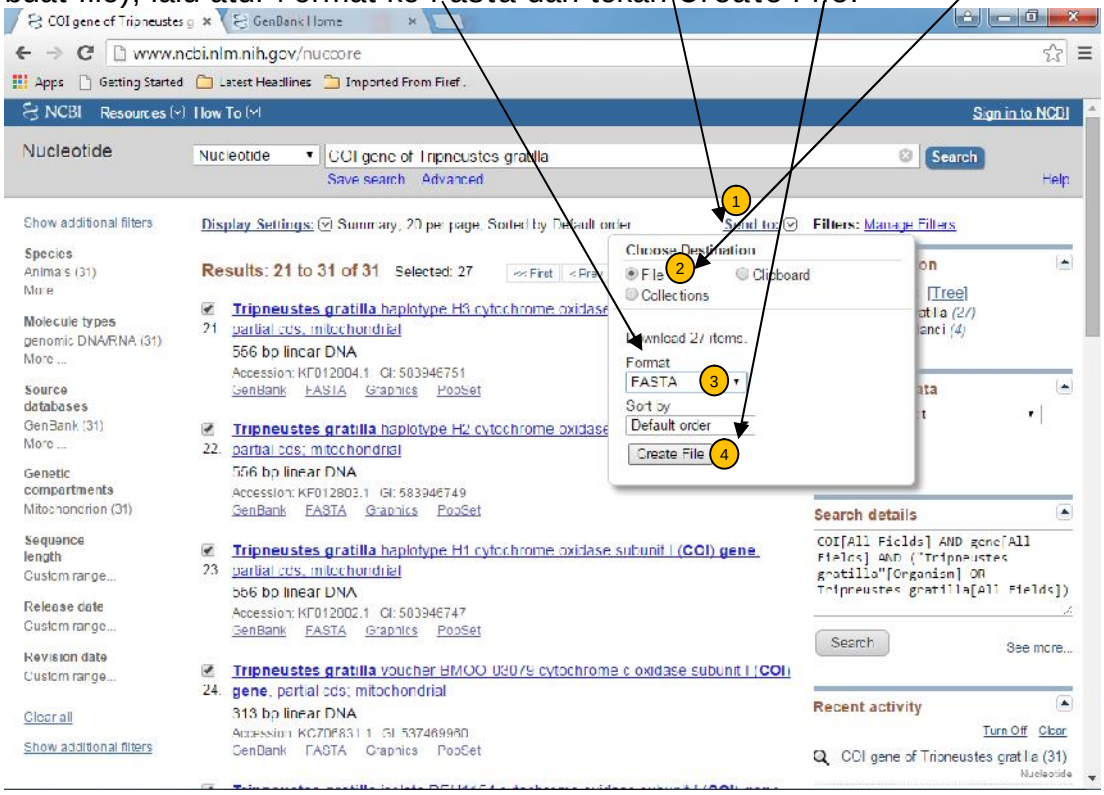
6. Hasilnya adalah kromatogram dengan data. Lakukan pengunduhan (download) data yang diperlukan dengan menekan All lalu pilih GenBank dan Download.



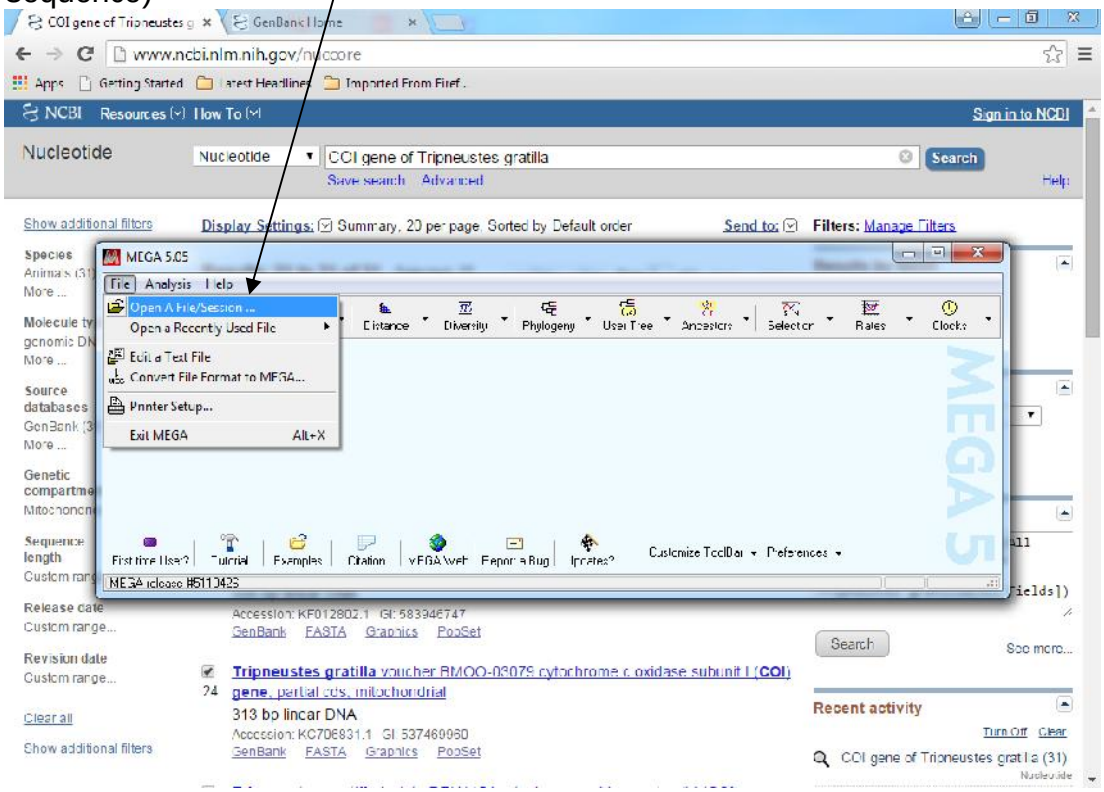
8. Pilih sekuen yang akan didownload ke komputer kita dengan mencentang kotak sekuen (misalnya 20 sekuen pada satu halaman yang tampil)



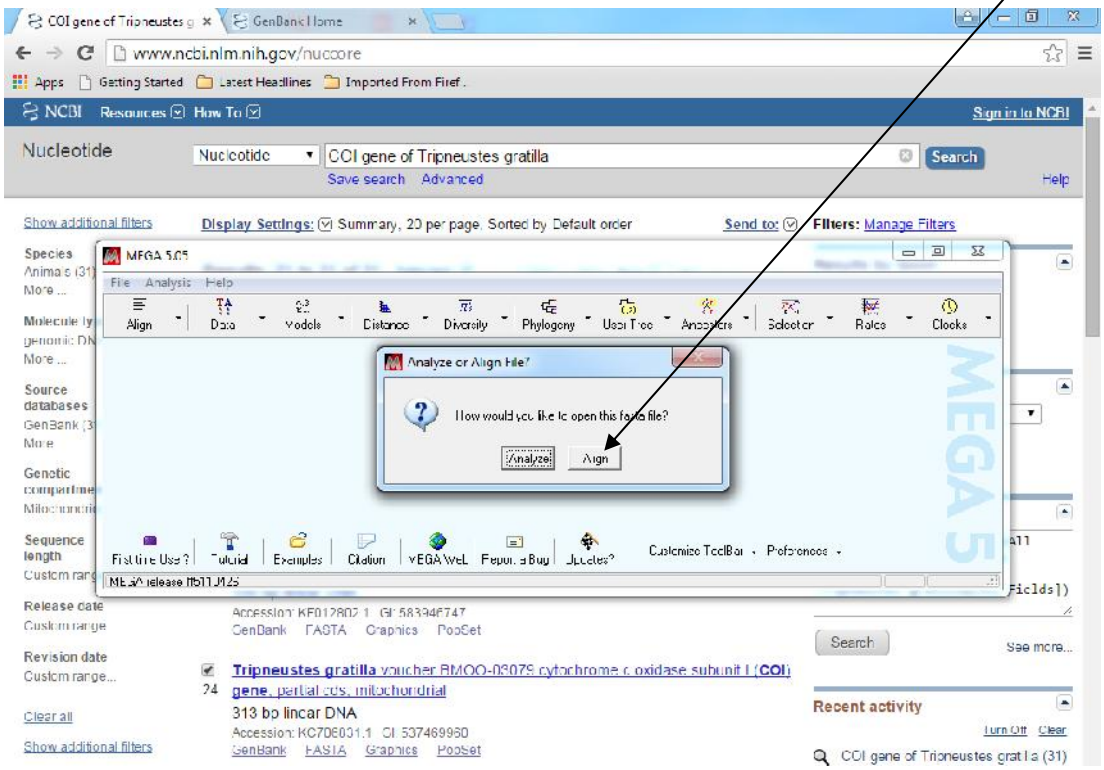
9. Download sekuen pilihan dengan menekan Send to dan pilih File (untuk buat file), lalu atur Format ke Fasta dan tekan Create File.



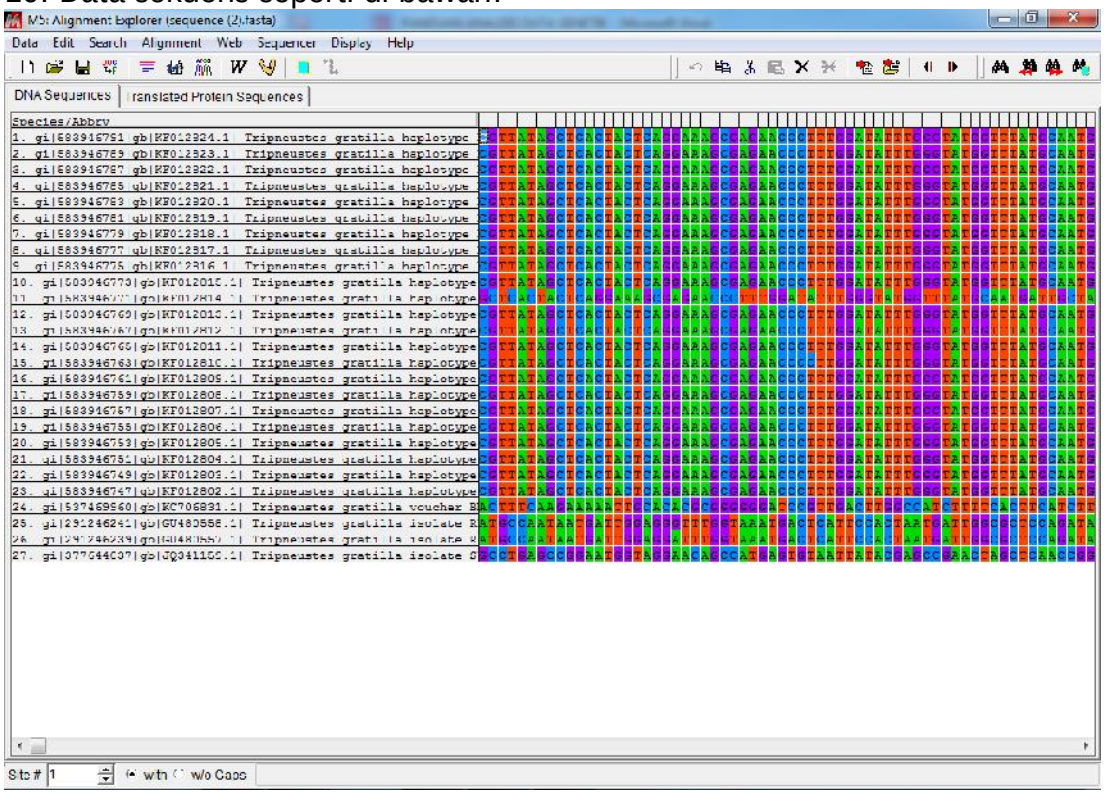
10. Lihat data yang diambil dengan membuka program MEGA 5.05/MEGA6. Tekan File lalu pilih Open A File/Session... (ke download pilih nama file, Sequence)



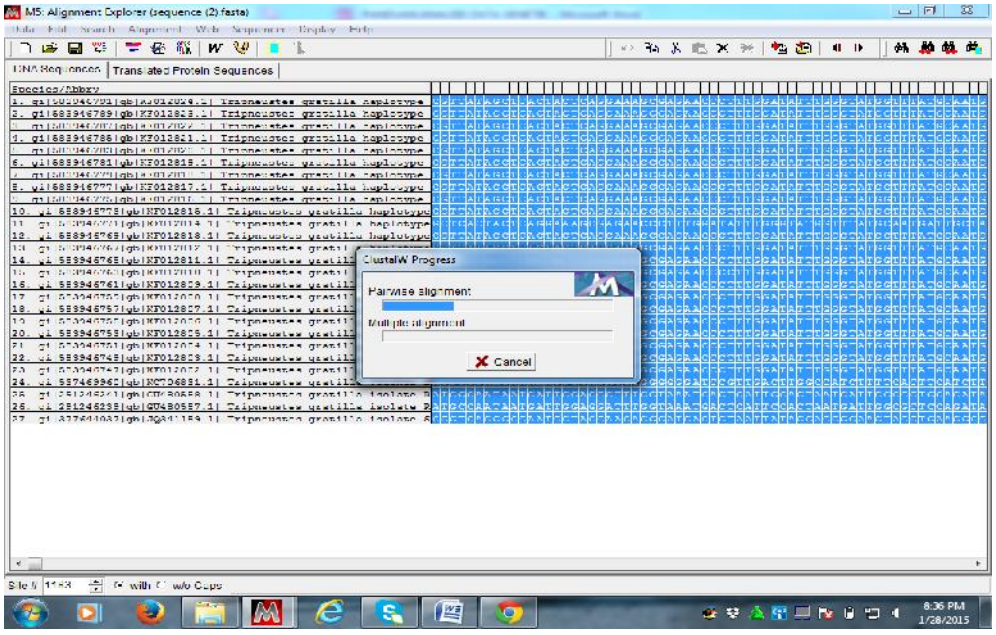
9. Pilih Align (untuk penjajaran) atau Analysis (untuk analisis). Tekan Align



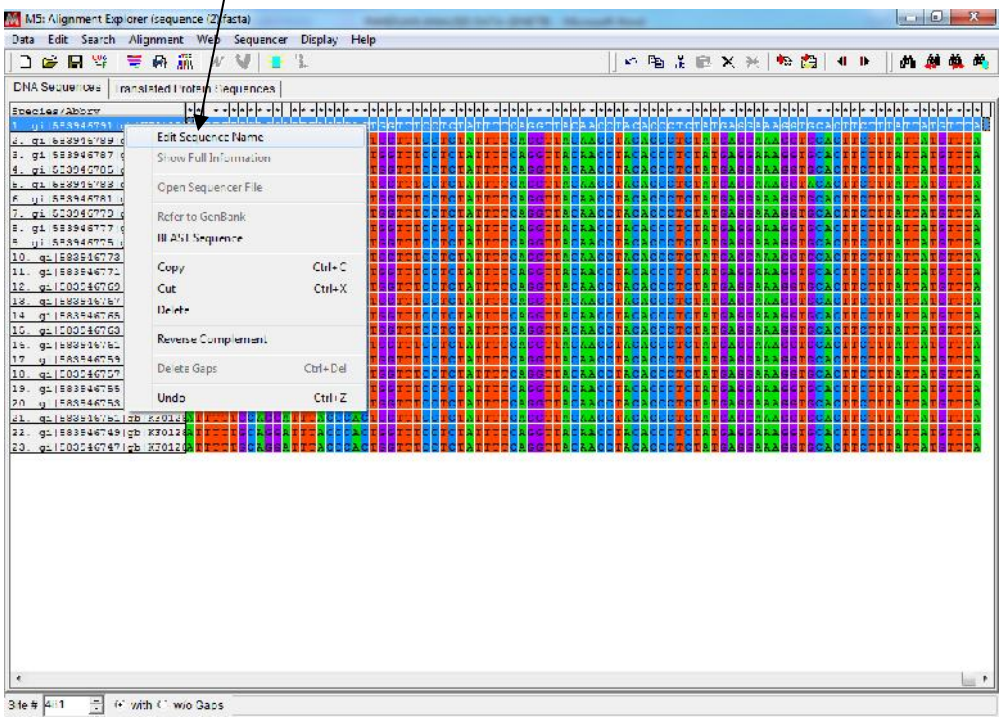
10. Data sekuens seperti di bawah:



11. Blok data sekuens lalu penjajaran dengan clustalW atau MUSCLE. Gunakan ClustalW.



12. Edit semua sekuen. Ubah nama sekuens dengan menekan kode akses Edit name sequence. Misal T. gratilla 1 dll.



Potong nukleotida yang tidak rata dengan menekan Delete selected block ( ), mulai dari ujung kiri atau ujung kanan, dengan menyamakan jumlah nukleotida setiap sekuen.

Contoh publikasi yang memanfaatkan hasil pengolahan di atas:


Egyptian Journal of Aquatic Research (2015) 41, 273–278

HOSTED BY

National Institute of Oceanography and Fisheries

Egyptian Journal of Aquatic Research

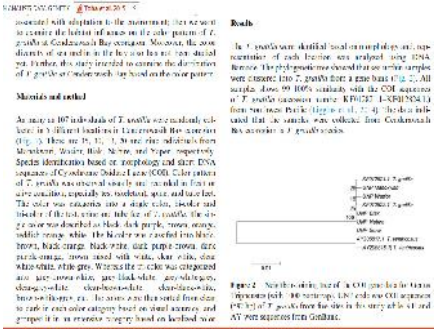
ELSEVIER

FULL LENGTH ARTICLE

Color diversity and distribution of sea urchin *Tripneustes gratilla* in Cenderawasih Bay ecoregion of Papua, Indonesia

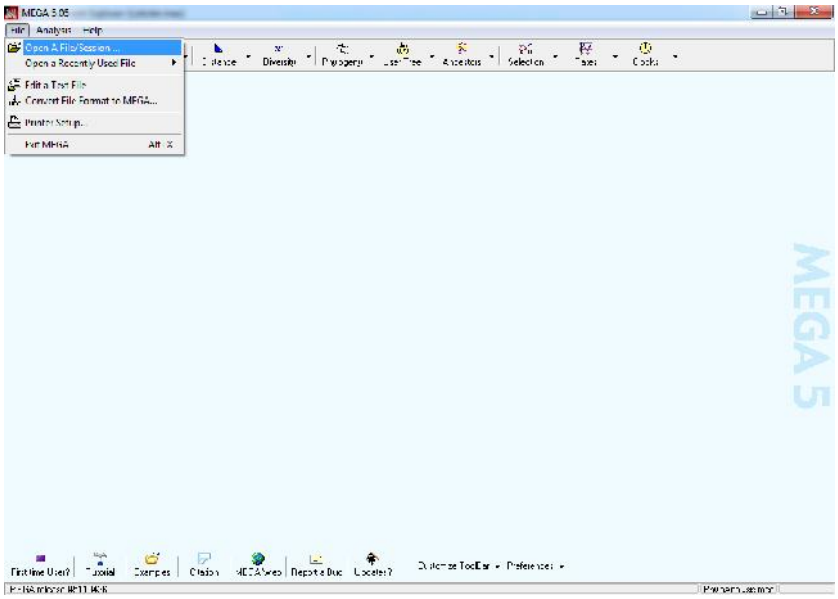
Abdul Hamid A. Toha [a,b], Sutiman B. Sumitro [b], Widodo [b,*], Luchman Hakim [b]

[a] Fishery Department of the State University of Papua, Manokwari, West Papua, Indonesia
[b] Biology Department, Brawijaya University, Malang, East Java, Indonesia

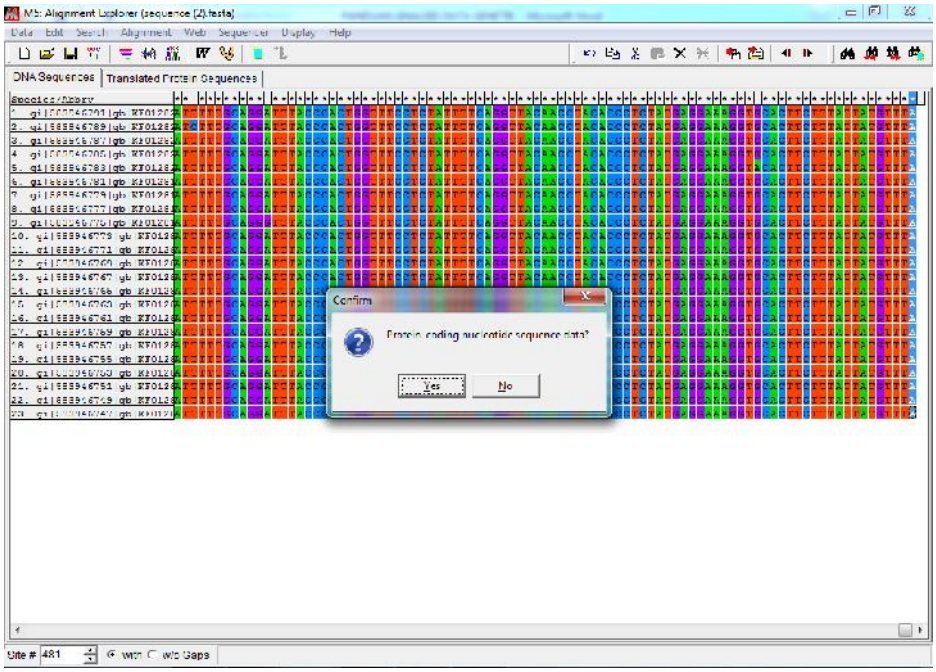


D. Analisis dengan MEGA5.05

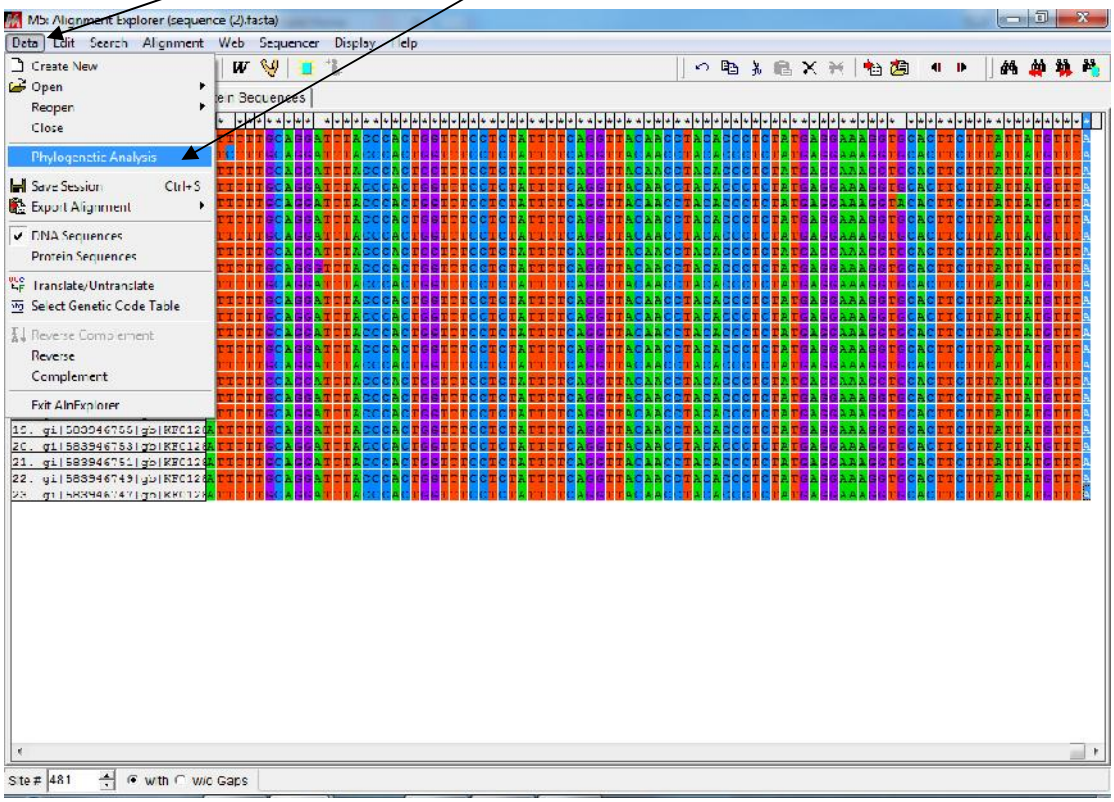
Pada program MEGA5.05, tekan File dan pilih sumber data simpanan untuk membuka sekuen data genetik yang akan dianalisis (seperti instruksi sebelumnya). MEGA dapat digunakan untuk analisis komposisi nukleotida, jarak genetik, filogenetik, diferensiasi genetik dan lain-lain (secara lengkap disampaikan sesudah ini).

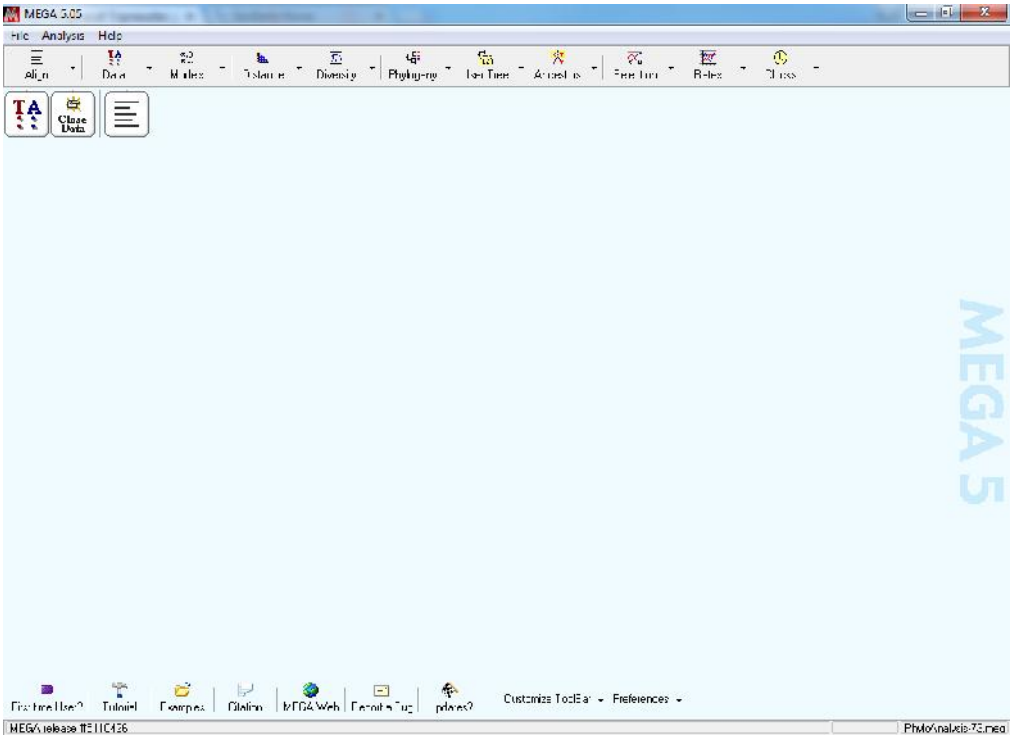


- Tekan Yes untuk menyetujui data urutan nukleotida mengkode protein. Setelah itu kembali ke layar semula (MEGA5.05):

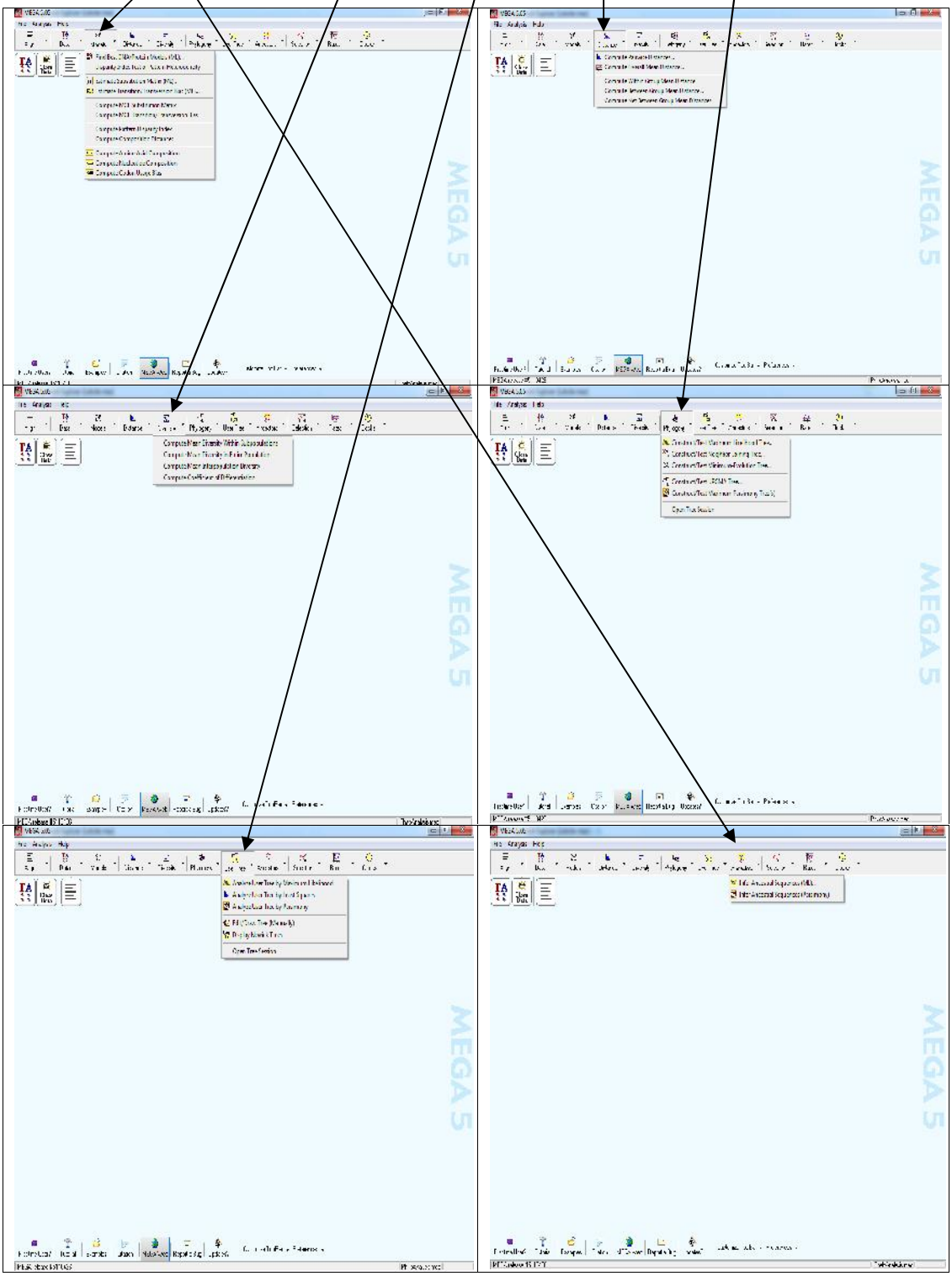


- Pada layar M5: Aligment Explorer (sequene fasta), pilih dengan menekan Data lalu pilih Phylogenetic Analysis



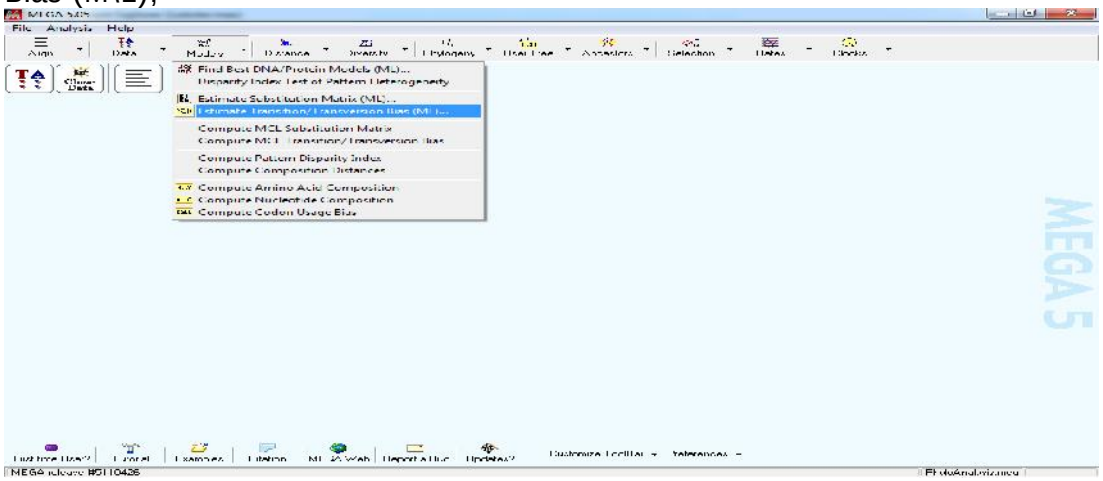


- Pilih jenis analisis dengan memindahkan kursor ke kolom masing-masing (Models, Diversity, User Tree, Distance, Phylogeny, Ancestor,dll) atau lompat ke kolom berisi analisis yang diinginkan. Sesuaikan dengan tujuan penelitian atau publikasi.

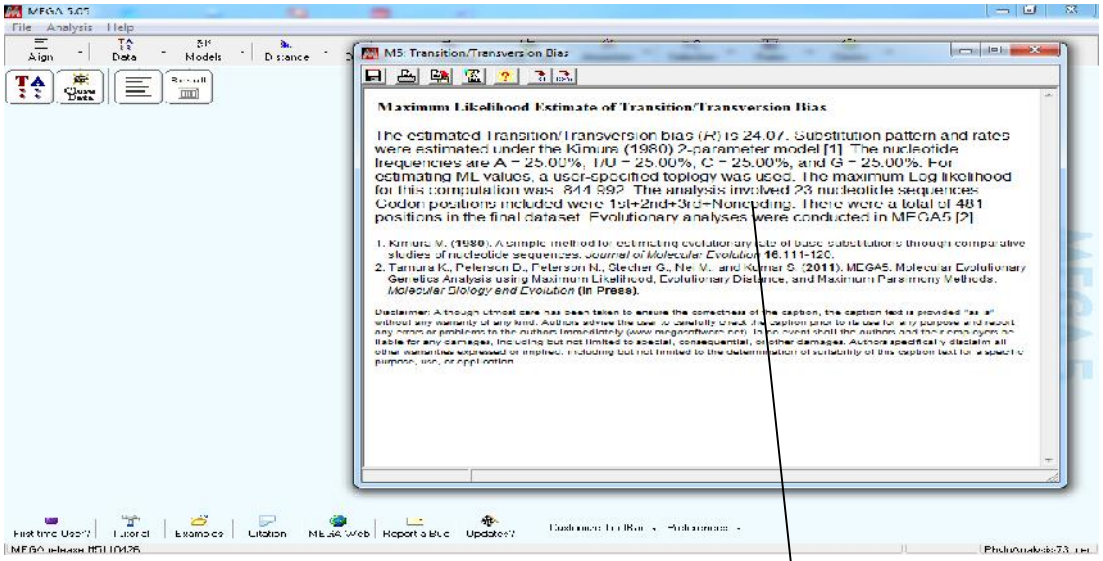


1. Perkiraan bias Transisi/Transversi

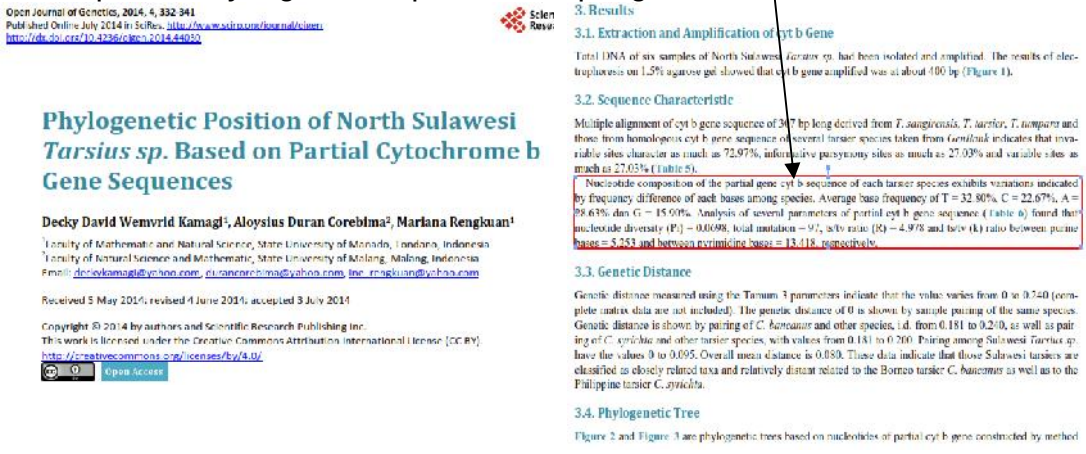
Pada MODELS, misalnya dengan menekan Estimate Transition/Transversion Bias (M\L),



akan menampilkan hasil Perkiraan bias Transisi/Transversi sebagai berikut:



Contoh publikasi yang menampilkan hasil pengolahan di atas.



Open Journal of Genetics, 2014, 4, 332-341
Published Online July 2014 in SciRes. http://www.scirp.org/journal/ojgen
http://dx.doi.org/10.4236/ojgen.2014.44030

Phylogenetic Position of North Sulawesi *Tarsius sp.* Based on Partial Cytochrome b Gene Sequences

Decky David Wenvrid Kamagi[1], Aloysius Duran Corebima[2], Mariana Rengkuan[1]

[1]Faculty of Mathematic and Natural Science, State University of Manado, Tondano, Indonesia
[2]Faculty of Natural Science and Mathematic, State University of Malang, Malang, Indonesia
Email: deckykamagi@yahoo.com, durancorebima@yahoo.com, ine_rengkuan@yahoo.com

Received 5 May 2014; revised 4 June 2014; accepted 3 July 2014

3. Results

3.1. Extraction and Amplification of cyt b Gene

Total DNA of six samples of North Sulawesi *Tarsius sp.* had been isolated and amplified. The results of electrophoresis on 1.5% agarose gel showed that cyt b gene amplified was at about 400 bp (Figure 1).

3.2. Sequence Characteristic

Multiple alignment of cyt b gene sequence of 367 bp long derived from *T. sangirensis*, *T. tarsier*, *T. lariang* and those from homologous cyt b gene sequence of several tarsier species taken from *GenBank* indicates that invariable sites character as much as 72.97%, informative parsimony sites as much as 27.03% and variable sites as much as 27.03% (Table 5).

Nucleotide composition of the partial gene cyt b sequence of each tarsier species exhibits variations indicated by frequency difference of each bases among species. Average base frequency of T = 32.80%, C = 22.67%, A = 28.63% dan G = 15.90%. Analysis of several parameters of partial cyt b gene sequence (Table 6) found that nucleotide diversity (P_i) = 0.0698, total mutation = 97, ts/tv ratio (R) = 4.978 and ts/tv (k) ratio between purine bases = 5.253 and between pyrimidine bases = 13.418, respectively.

3.3. Genetic Distance

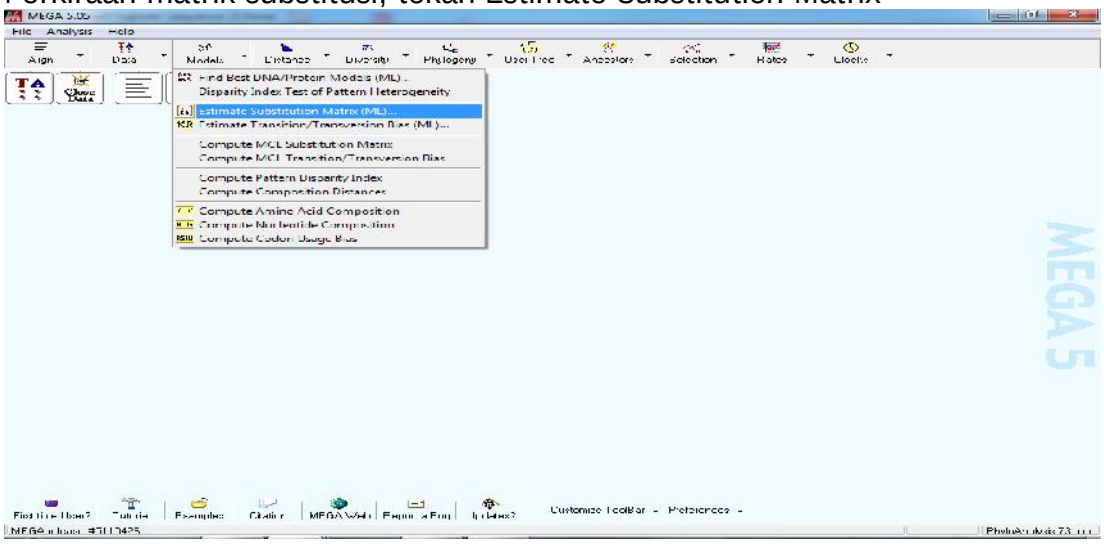
Genetic distance measured using the Tamura 3 parameters indicate that the value varies from 0 to 0.240 (complete matrix data are not included). The genetic distance of 0 is shown by sample pairing of the same species. Genetic distance is shown by pairing of *C. bancanus* and other species, i.d. from 0.181 to 0.240, as well as pairing of *C. syrichta* and other tarsier species, with values from 0.181 to 0.200. Pairing among Sulawesi *Tarsius sp.* have the values 0 to 0.095. Overall mean distance is 0.080. These data indicate that those Sulawesi tarsiers are classified as closely related taxa and relatively distant related to the Borneo tarsier *C. bancanus* as well as to the Philippine tarsier *C. syrichta*.

3.4. Phylogenetic Tree

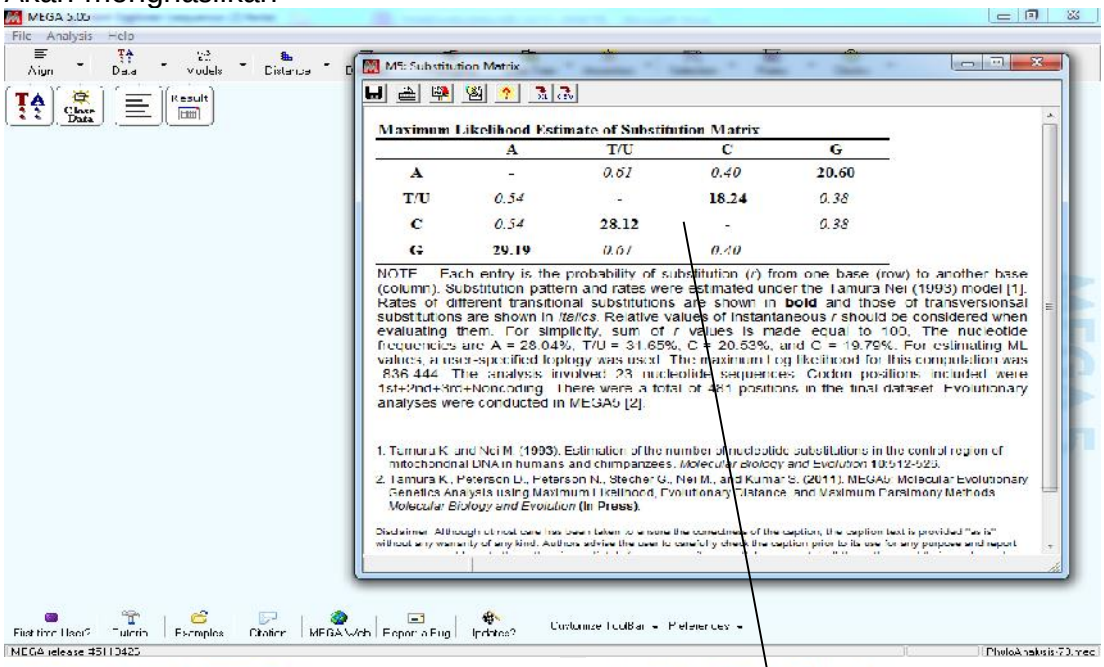
Figure 2 and Figure 3 are phylogenetic trees based on nucleotides of partial cyt b gene constructed by method

2. Perkiraan matrik substitusi

Perkiraan matrik substitusi, tekan Estimate Substitution Matrix



Akan menghasilkan



Jurnal Biotik Lestari, Volume 10 No. 2, Agustus 2010, hlm. 270 – 274

STRUKTUR GENETIK DAN FILOGENI *YELLOWFIN TUNA* (*Thunnus albacares*) BERDASARKAN SEKUEN DNA MITKONDRIA *CONTROL REGION* SITOKROM OKSIDASE I PADA DIVERSITAS ZONE BIOGEOGRAFI

I Made Sara Wijana[1] dan I Gusti Ngurah Mahardika[2]
[1]Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana
[2]Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Hewan,UniveRsitas Udayana
Kampus Bukit Jimbaran Bali
E-mail:sarawijana@yahoo.co.id

Abstract

Genetic structure and phylogeni of 37 sequences control region DNA mitochondrial cytocrome oxidase I of yellowfin tuna (Thunnus albacares) have been downloaded from GeneBank and analised using Maximum Likehood (ML), Pairwise Genetic Distance and Boostrapping Phylogeni Model of Kimura 2 Parameter. The result shows that the corrected value of the data was 5,5% and the mean of genetic distances was 3,7 %, where the shortest distance was 0.9% and the longest was 5%. The genetic diftances with the out group (Thunnus obesus) ranged between 7.8 % – 9,8 % and with the Thunnus thynus ranged between 10,4% – 12.5%. The value of bootstrap phylogeny of 37 sequences of yellowfin tuna was less than 50%. All these results shows that there was no significant genetic differences of 34 samples sourced from Philipines and 3 from Spain based on sequence region DNA mitochandrini cytocrome oxidase I.

Key word: T. albacares, control region DNA Mitochondrial cytocrome oxydase I; genetic structure; phylogeni.

Jurnal Biotik Lestari, Volume 10 No. 2, Agustus 2010, hlm. 270 – 274

Tabel 2. **Probabilitas Substitusi Nukletida dengan Analisis *Maximum Likelihood* (ML)**

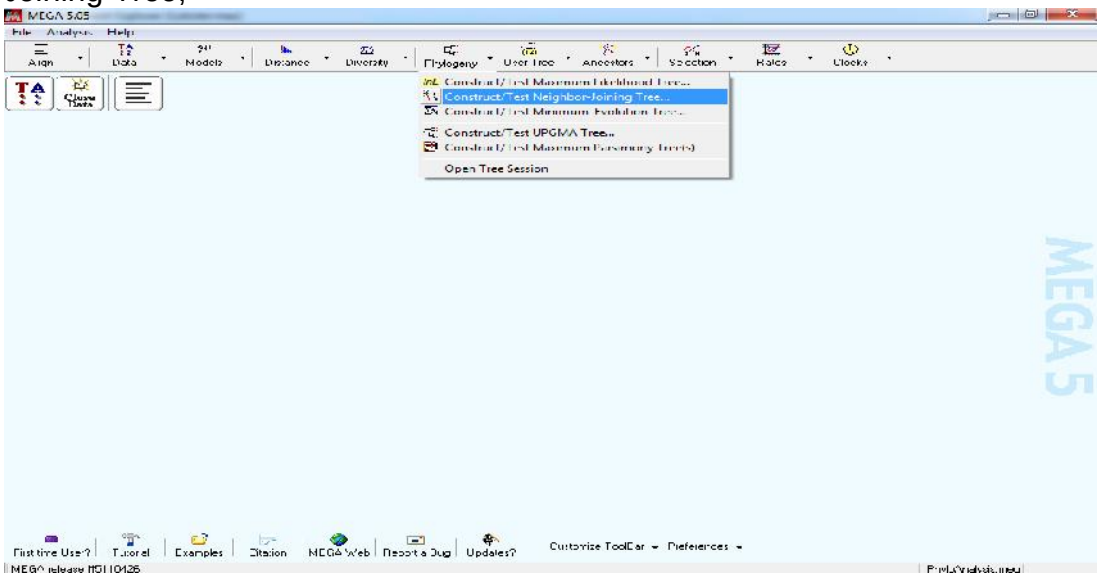
	A	T	C	G
A	-	*1.41**	*0.98**	**10.39****
T	*1.88**	-	**18.9****	*0.56**
C	*1.88**	**27.35****	-	*0.56**
G	**33.66****	*1.41**	*0.98**	-

Keterangan :
** Probabilitas substitusi transisi
* Probabilitas substitusi transversi

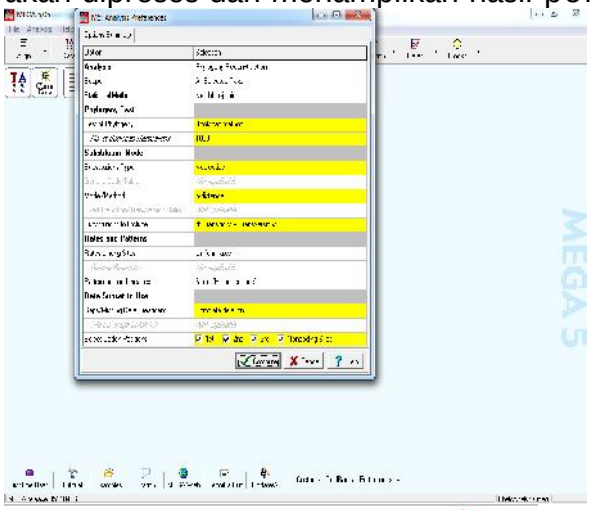
Nilai probabilitas substitusi paling tinggi ditemukan pada basa A, diikuti oleh basa T, C dan G. Hal ini berkaitan erat dengan frekuensi masing-masing nukleotida. Makin tinggi frekuensi nukleotida bersangkutan maka kemungkinan untuk terjadinya substitusi semakin besar ($P_{A\,TA\,CA\,G}$), lebih besar dari *yellofin tuna* tersebut relative tinggi. Hal ini juga didukung oleh pohon filogeni yang membentuk satu *clade* dengan nilai *bootstrap* kurang dari 50 %. Hasil ini berbeda dengan *Thunnus obesus* sebagai *out group* dengan nilai bootstrap sebesar 86 %. Hasil pengujian pohon filogeni dengan metode *bootstrapping* ditampilkan

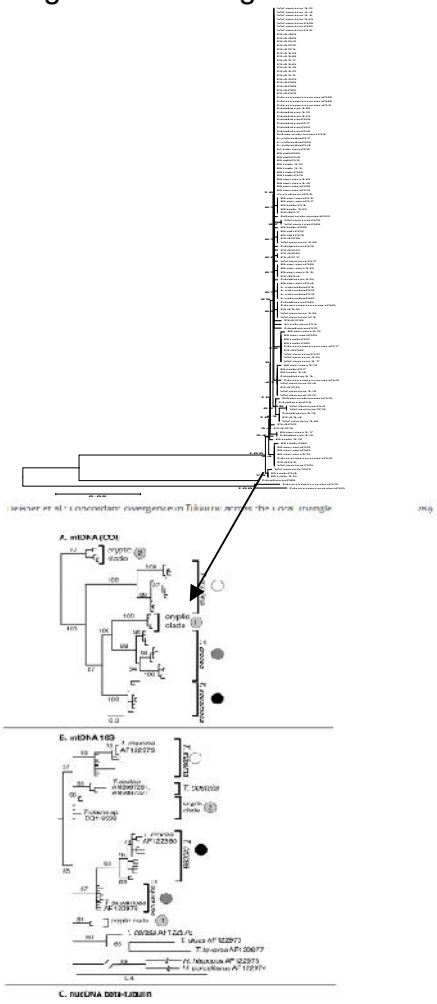
3. Analisis Filogenetik

Pada PHYLOGENY, misalnya dengan menekan Construct/test Neighbour-Joining Tree,



akan diproses dan menampilkan hasil pohon filogenetik sebagai berikut:





research paper

Concordance between phylogeographic and biogeographic boundaries in the Coral Triangle: conservation implications based on comparative analyses of multiple giant clam species

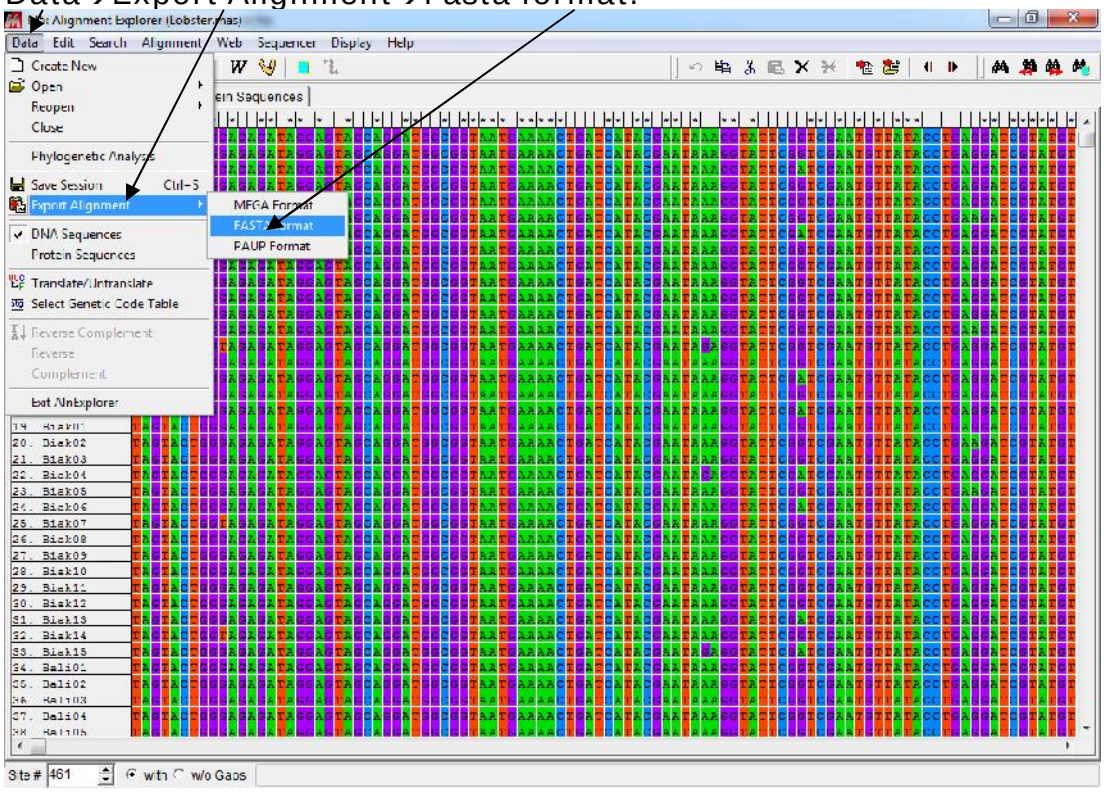
Timery S DeBoer [1,*]
Ma Rin Abdon Naguit [2]
Mark V Erdmann [3,5]
Ma Carmen A Ablan-Lagman [6]
Ambariyanto [7]
Kent E Carpenter [8]
Abdul Hamid A Toha [9]
Paul H Barber [10,*]

[1] Boston University, Biology Department, 5 Cummington St, Boston, Massachusetts 02215.
[2] Current address: Ocean Genome Legacy, Ipswich, Massachusetts 01938.
[3] Jose Rizal Memorial State University, Dapitan City, Philippines.
[5] Conservation International, Indonesia Marine Program, Jl. Dr. Muwardi No. 17 Bali, Indonesia.
[6] California Academy of Sciences, Golden Gate Park, San Francisco, California 94118.
[7] Biology Department and CMMSH De La Salle University, Manila, Philippines.
[8] Marine Science Department, Faculty of Fisheries and Marine Science, Diponegoro University, Kampus Tembalang, Semarang, Indonesia.
[9] Department of Biological Sciences, Ch. Dumbrian

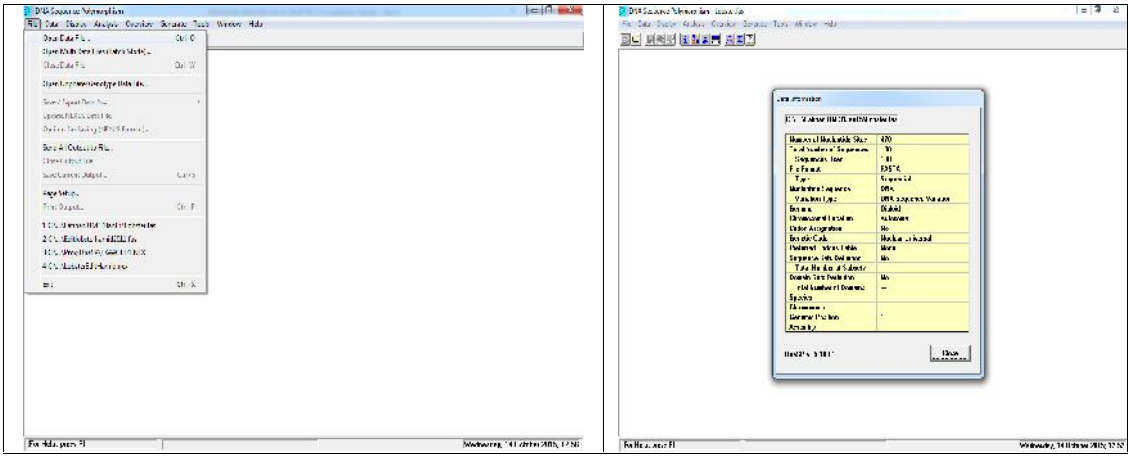
ABSTRACT.—Marine habitats are in decline worldwide, precipitating a strong interest in marine conservation. The use of biogeographic data to designate ecoregions has had significant impacts on terrestrial conservation efforts. However, classification of marine environments into ecoregions has only become available in the last several years, based on biogeographic data supplemented by geomorphology, ocean currents, and water temperatures. Here we use a comparative phylogeographic approach to test for concordant phylogeographic patterns in three closely related species of *Tridacna* giant clams across the Coral Triangle, the most biodiverse marine region in the world and one of the most threatened. Data from a 450 base pair fragment of mitochondrial cytochrome-c oxidase

E. Analisis dengan DnaSP

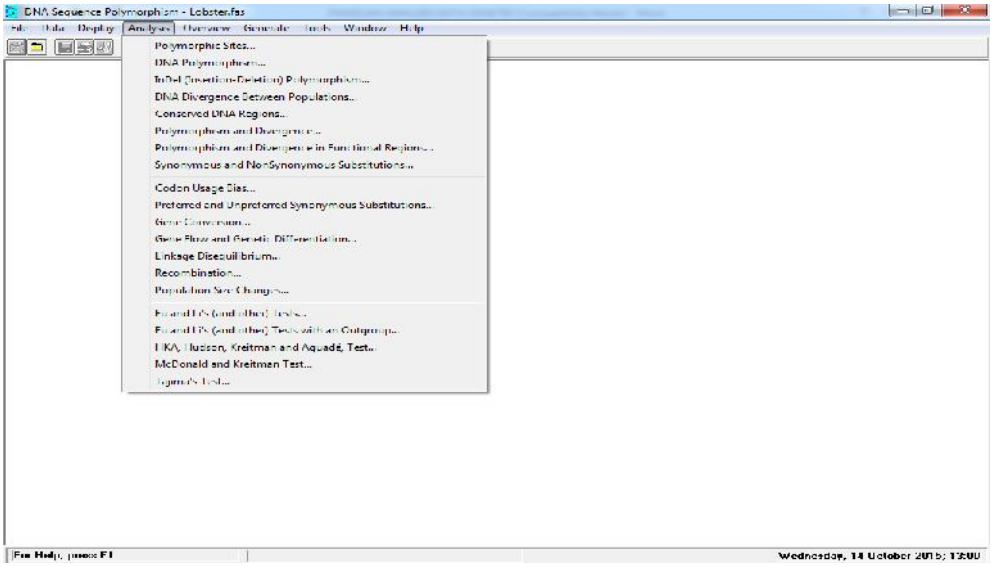
Sebelum menggunakan program ini, data yang ada (misalnya pada MEGA5-6) diekspor atau disimpan dalam format Fasta dengan menekan Data→Export Alignment→Fasta format.



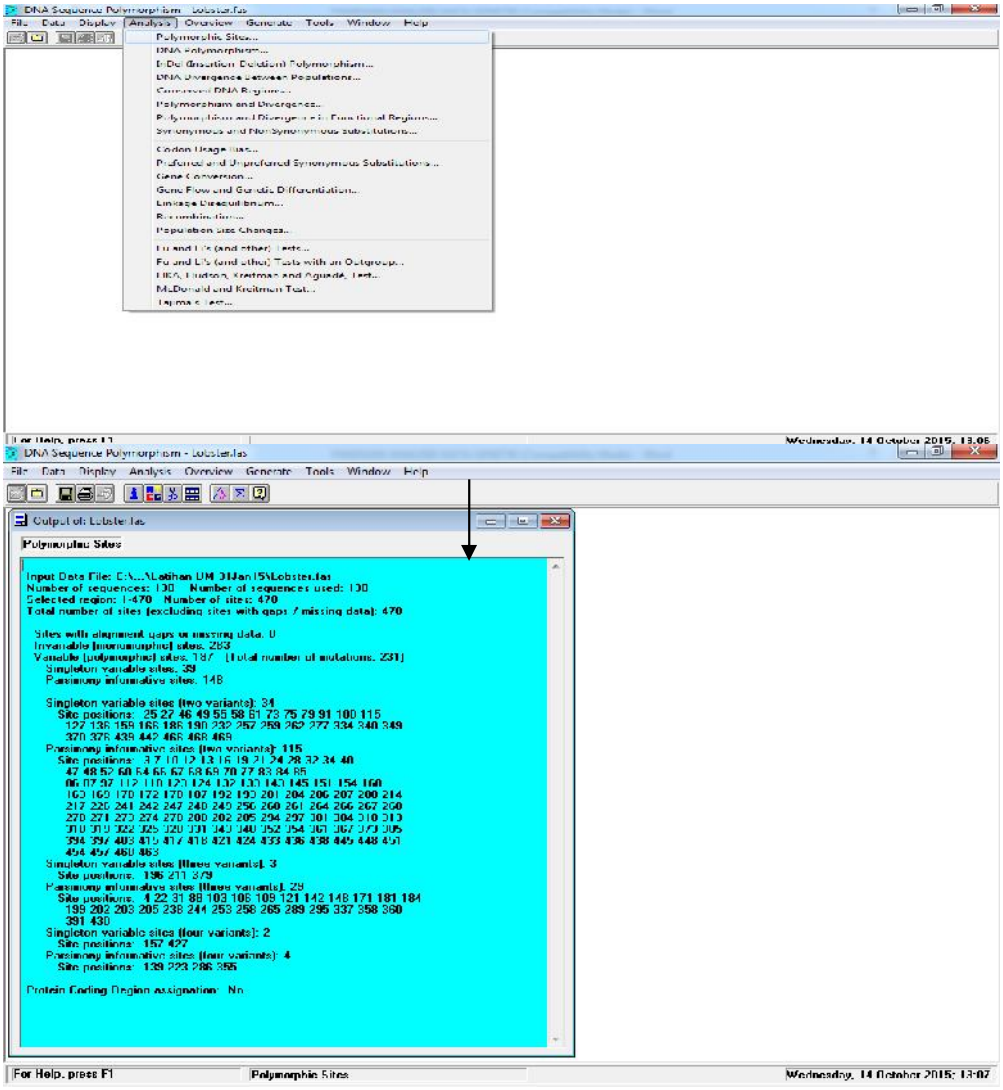
Pada program DnaSP (DNA sequence polymorphism), tekan File dan pilih open data file untuk membuka sekuen data genetik yang akan dianalisis.



DnaSP berguna untuk analisis polymorphic sites, DNA Polymorphism, Gene Flow and Genetic Differentiation, Fu and Li's Test, dan lain-lain (secara lengkap lihat di bawah).

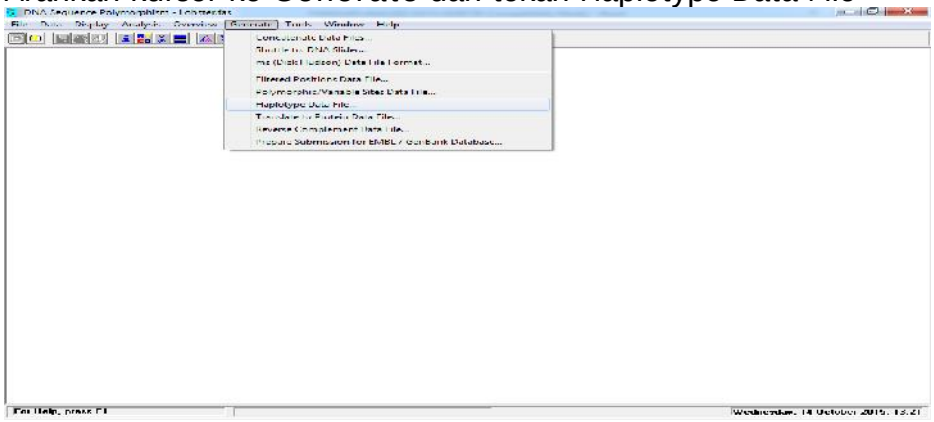


1. Polimorphic site

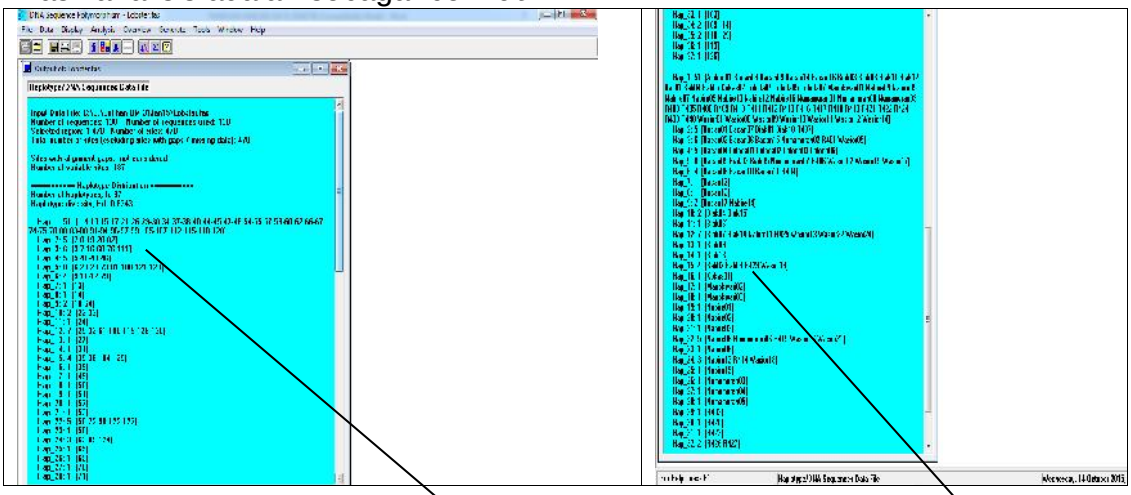


2. Haplotipe

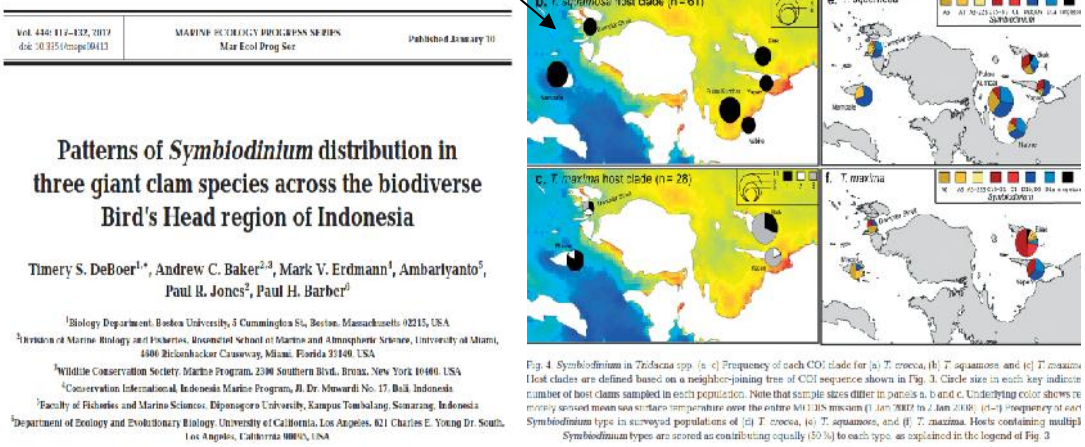
Arahkan kursor ke Generate dan tekan Haplotype Data File



Hasil analisis adalah sebagai berikut:



Frekuensi haplotype biasa ditampilkan dalam diagram Pie dengan kombinasi lokasi penelitian



Vol. 444: 117–132, 2012 | MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES Mar Ecol Prog Ser | Published January 10

doi: 10.3354/meps09413

Patterns of *Symbiodinium* distribution in three giant clam species across the biodiverse Bird's Head region of Indonesia

Timery S. DeBoer[1,*], Andrew C. Baker[2,3], Mark V. Erdmann[4], Ambariyanto[5], Paul R. Jones[2], Paul H. Barber[6]

[1]Biology Department, Boston University, 5 Cummington St., Boston, Massachusetts 02215, USA

[2]Division of Marine Biology and Fisheries, Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, University of Miami, 4600 Rickenbacker Causeway, Miami, Florida 33149, USA

[3]Wildlife Conservation Society, Marine Program, 2300 Southern Blvd., Bronx, New York 10460, USA

[4]Conservation International, Indonesia Marine Program, Jl. Dr. Muwardi No. 17, Bali, Indonesia

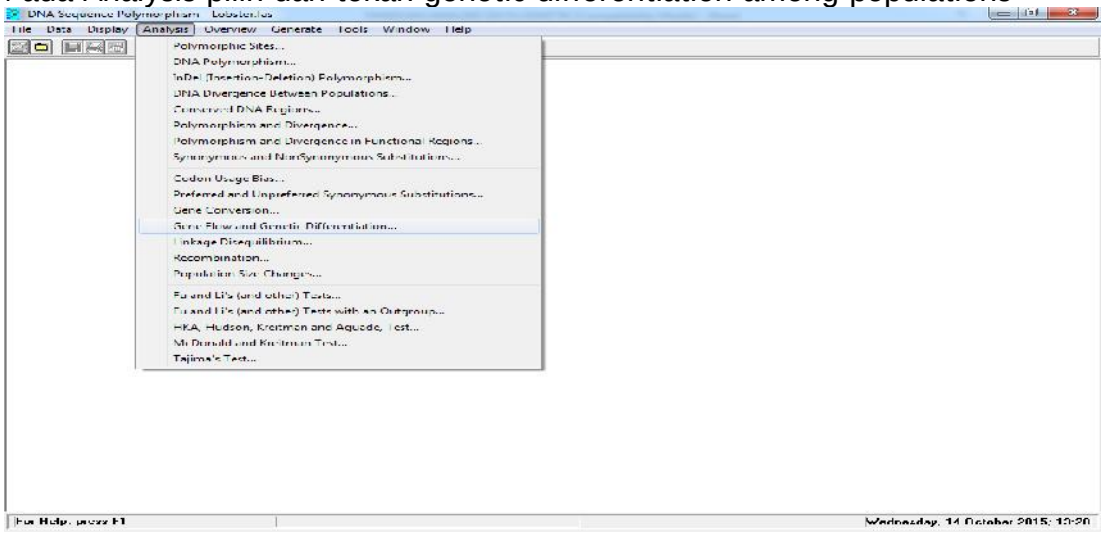
[5]Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Diponegoro University, Kampus Tembalang, Semarang, Indonesia

[6]Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of California, Los Angeles, 621 Charles E. Young Dr. South, Los Angeles, California 90095, USA

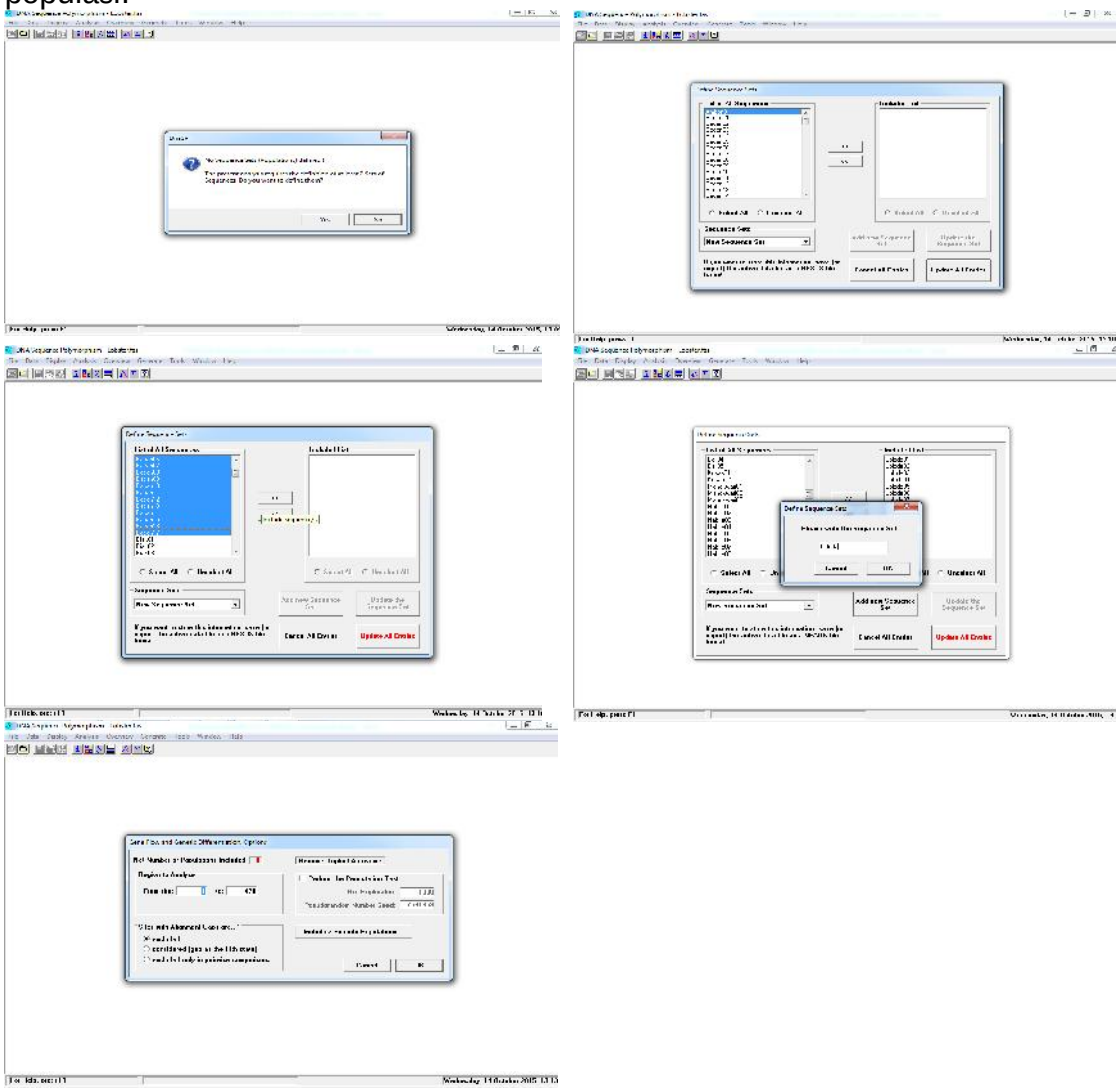
Fig. 4. *Symbiodinium* in *Tridacna* spp. (a–c) Frequency of each COI clade for (a) *T. crocea*, (b) *T. squamosa* and (c) *T. maxima*. Host clades are defined based on a neighbor-joining tree of COI sequence shown in Fig. 3. Circle size in each key indicates number of host clams sampled in each population. Note that sample sizes differ in panels a, b and c. Underlying color shows remotely sensed mean sea surface temperature over the entire MODIS mission (1 Jan 2002 to 2 Jan 2010). (d–f) Frequency of each *Symbiodinium* type in surveyed populations of (d) *T. crocea*, (e) *T. squamosa*, and (f) *T. maxima*. Hosts containing multiple *Symbiodinium* types are scored as contributing equally (50 %) to each type, as explained in the legend of Fig. 3

3. Gene Flow and Genetic Differentiation among Populations

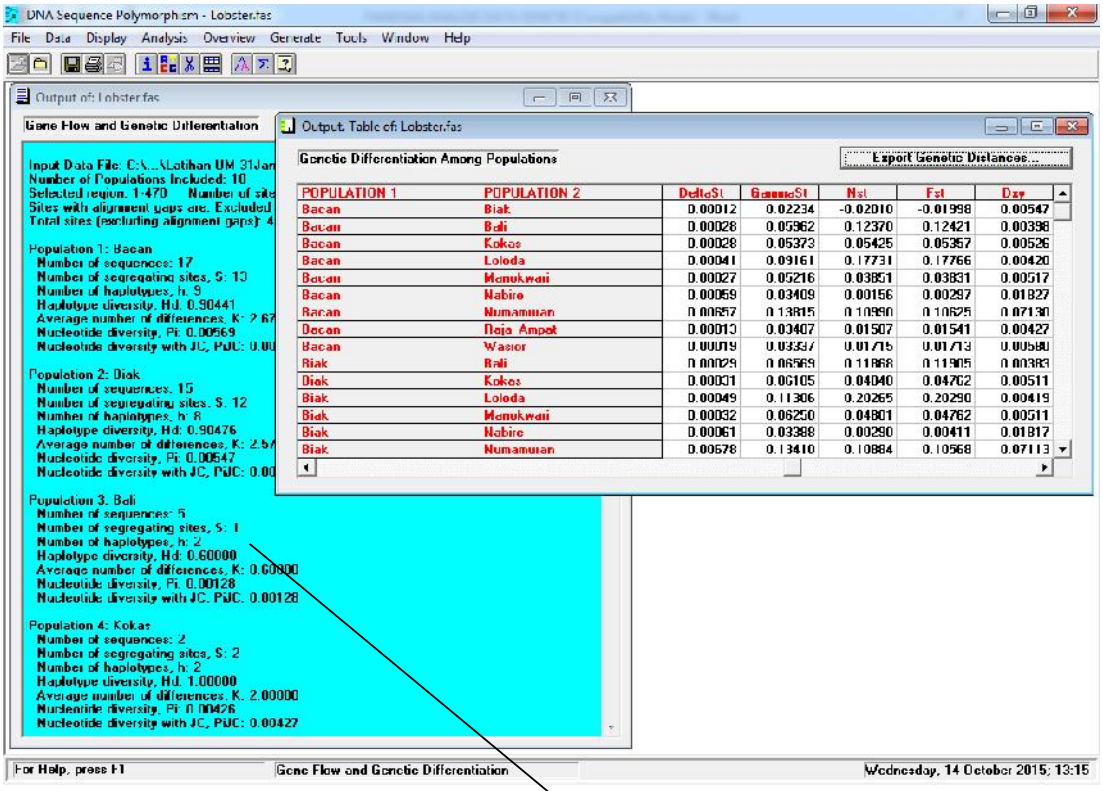
Pada Analysis pilih dan tekan genetic differentiation among populations



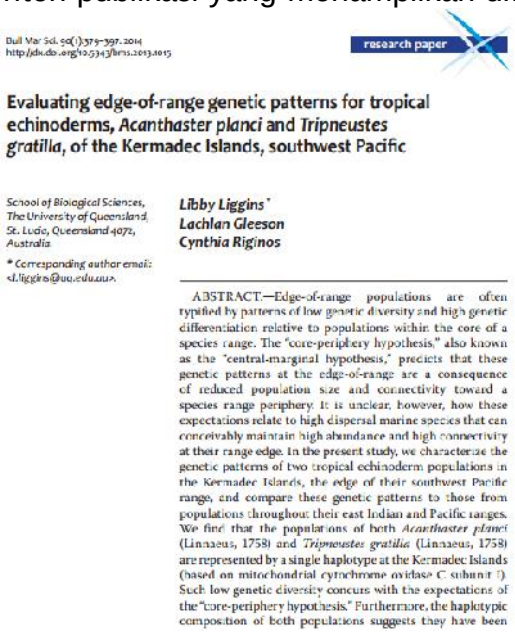
Dalam analisis ini, terlebih dahulu semua individu dikelompokkan dalam populasi.



Hasil analisis adalah:



Contoh publikasi yang menampilkan diferensiasi genetik



Bull Mar Sci. 90(1):375–397. 2014
http://dx.doi.org/10.5343/bms.2013.1015

research paper

Evaluating edge-of-range genetic patterns for tropical echinoderms, *Acanthaster planci* and *Tripneustes gratilla*, of the Kermadec Islands, southwest Pacific

School of Biological Sciences, The University of Queensland, St. Lucia, Queensland 4072, Australia

* Corresponding author email: <l.liggins@uq.edu.au>.

*Libby Liggins**
Lachlan Gleeson
Cynthia Riginos

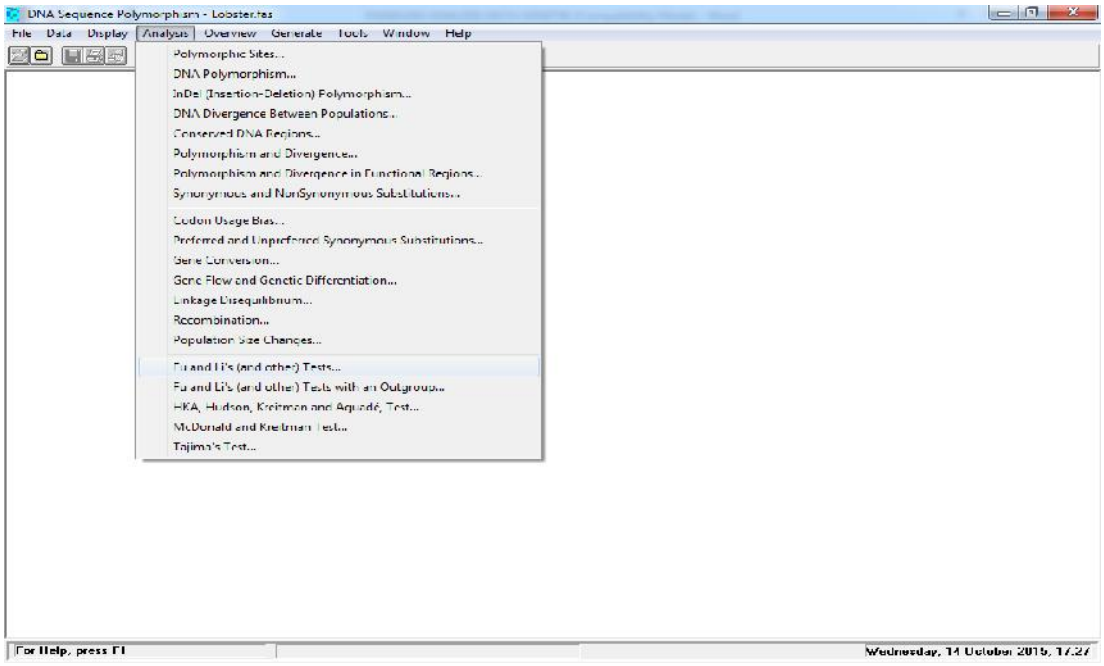
ABSTRACT.—Edge-of-range populations are often typified by patterns of low genetic diversity and high genetic differentiation relative to populations within the core of a species range. The "core-periphery hypothesis," also known as the "central-marginal hypothesis," predicts that these genetic patterns at the edge-of-range are a consequence of reduced population size and connectivity toward a species range periphery. It is unclear, however, how these expectations relate to high dispersal marine species that can conceivably maintain high abundance and high connectivity at their range edge. In the present study, we characterize the genetic patterns of two tropical echinoderm populations in the Kermadec Islands, the edge of their southwest Pacific range, and compare these genetic patterns to those from populations throughout their east Indian and Pacific ranges. We find that the populations of both *Acanthaster planci* (Linnaeus, 1758) and *Tripneustes gratilla* (Linnaeus, 1758) are represented by a single haplotype at the Kermadec Islands (based on mitochondrial cytochrome oxidase C subunit I). Such low genetic diversity concurs with the expectations of the "core-periphery hypothesis." Furthermore, the haplotypic composition of both populations suggests they have been

Table 2. Summary of included data and genetic diversity statistics for each location studied for *Acanthaster planci* and *Tripneustes gratilla*: number of sequences (*n*), polymorphic sites (*S*), number of haplotypes (*H*), haplotype diversity (*Hd* (SD)), nucleotide diversity (*π* (SD)), Tajima's *D* statistic and significance (*P*, ns correction). Source (src) of the CO1 data: a = Vogler et al. (2008), b = present study, c = Lessios et al. (2003).

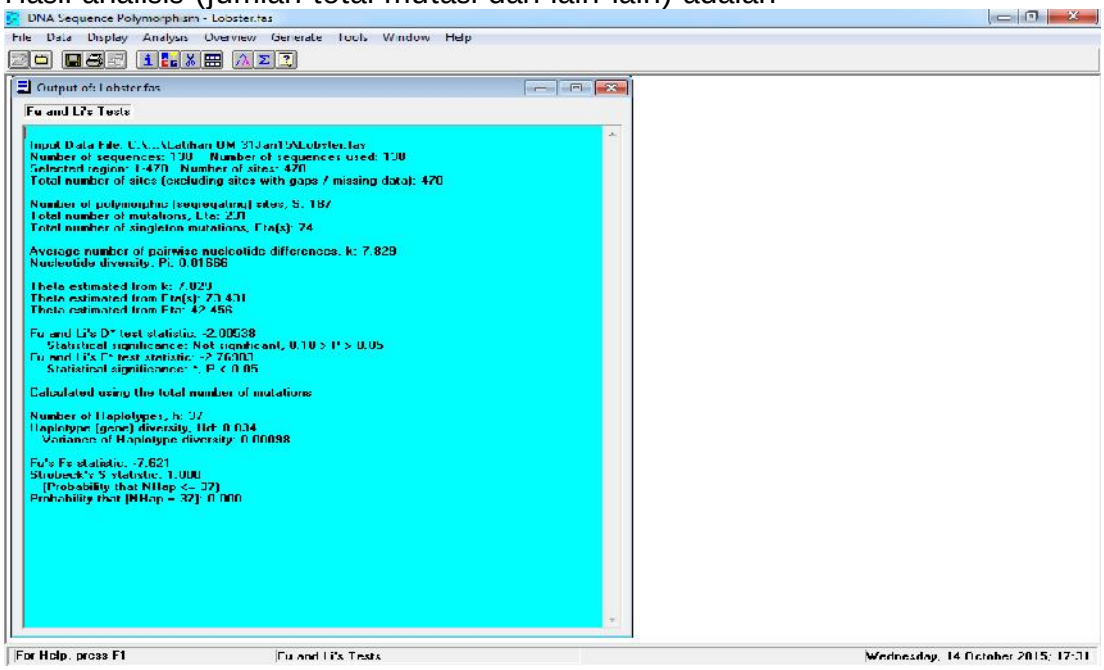
Code	Location	*n*	Latitude	Longitude	*S*	*H*	*Hd* (SD)	*π* (SD)	Tajima's *D*	*P*	Src
Acanthaster planci											
IP	Okinawa	6	36.18	138.25	2	3	0.73 (0.16)	0.0014 (0.0013)	−0.85	0.45	a
HW	Hawaii	5	19.97	−155.63	3	4	0.93 (0.16)	0.0019 (0.0017)	−1.05	0.15	a
JH	Johnston Atoll	7	16.73	−169.54	3	4	0.81 (0.13)	0.0021 (0.0017)	0.40	0.66	a
GM	Guam	8	13.44	144.79	5	5	0.86 (0.11)	0.0030 (0.0022)	−0.17	0.45	a
PH	Philippines	7	13.04	121.71	5	5	0.95 (0.10)	0.0031 (0.0023)	−1.15	0.16	a
PM	Panama	7	8.53	−80.78	0	1	0.00 (0.00)	0.0000 (0.0000)	na	na	a
KG	Kingman Reef	8	6.45	−162.40	12	5	0.93 (0.01)	0.0070 (0.0044)	−0.29	0.40	a
CR	Cocos Island	13	5.52	−87.07	1	2	0.28 (0.14)	0.0005 (0.0006)	−0.27	0.30	a
IN	Pulau Seribu	8	−5.79	105.71	4	4	0.64 (0.18)	0.0016 (0.0014)	−1.53	0.05	a
SO	Solomon Islands	3	−8.24	157.37	2	2	0.67 (0.32)	0.0021 (0.0022)	0.00	0.93	b
GV	Gove	7	−12.35	136.79	2	3	0.52 (0.21)	0.0009 (0.0010)	−1.24	0.12	a
AS	Swains Island	6	−11.27	−170.73	13	5	0.93 (0.08)	0.0067 (0.0042)	0.37	0.67	a
LZ	Lizard Island	19	−14.67	145.46	7	8	0.64 (0.07)	0.0025 (0.0018)	−0.71	0.27	a,b
VU	Vanuatu	7	−15.38	166.95	9	5	0.91 (0.10)	0.0063 (0.0041)	0.33	0.61	a
MR	Moorea	6	17.52	149.84	15	5	0.93 (0.12)	0.0134 (0.0066)	0.10	0.48	a
ED	Enderby Island	8	20.61	116.53	1	2	0.25 (0.18)	0.0004 (0.0006)	1.05	0.21	a
KE	Kermadec Islands	29	29.27	177.92	0	1	0.00 (0.00)	0.0000 (0.0000)	na	na	b
Tripneustes gratilla											
IP	Japan	10	36.18	138.25	5	5	0.84 (0.10)	0.0036 (0.0025)	0.50	0.34	c
HW	Hawaii	10	19.92	155.60	8	7	0.91 (0.08)	0.0035 (0.0024)	1.47	0.07	c
GM	Guam	7	13.44	144.79	0	1	0.00 (0.00)	0.0000 (0.0000)	na	na	c
PH	Philippines	13	13.04	121.71	13	9	0.94 (0.05)	0.0059 (0.0037)	−1.04	0.16	c
CF	Cleopatra Island	15	10.78	−109.22	11	8	0.85 (0.07)	0.0053 (0.0034)	−0.40	0.38	c
PM	Panama	4	8.53	−80.78	0	1	0.00 (0.00)	0.0000 (0.0000)	na	na	c
ML	Marshall Islands	7	7.13	171.18	4	3	0.67 (0.16)	0.0034 (0.0025)	0.80	0.81	c
CR	Cocos Island	10	5.52	−87.07	2	2	0.20 (0.13)	0.0008 (0.0009)	−1.40	0.08	c
KR	Kiritimati	10	1.87	−153.36	7	7	0.91 (0.05)	0.0044 (0.0030)	−0.24	0.42	c
GP	Galápagos	6	−0.82	−91.10	7	5	1.00 (0.10)	0.0046 (0.0033)	−1.01	0.20	c
KV	Kavieng	11	−2.57	150.80	8	7	0.89 (0.14)	0.0026 (0.0019)	−1.70	0.05	b
SO	Solomon Islands	11	−8.24	157.37	15	10	0.92 (0.06)	0.0042 (0.0027)	−1.74	0.05	b
MQ	Marquesas	9	−9.45	−139.59	8	8	0.86 (0.17)	0.0039 (0.0027)	−1.37	0.09	e
PG	Motupore Island	23	9.51	147.31	12	12	0.81 (0.08)	0.0030 (0.0020)	−1.79	0.02	b,c
LZ	Lizard Island	6	14.67	145.46	5	5	0.93 (0.12)	0.0034 (0.0027)	−1.34	0.05	b
MO	Mocleodaba	19	−26.68	158.12	6	7	0.61 (0.13)	0.0016 (0.0013)	−1.54	0.05	b
CL	Easter Island	8	27.12	109.37	5	5	0.93 (0.08)	0.0033 (0.0024)	0.42	0.38	c
KE	Kermadec Islands	7	29.27	177.92	0	1	0.00 (0.00)	0.0000 (0.0000)	na	na	b

4. Fu and Li's (and other) Tests (Keragaman nukleotida, Keragaman haplotype, dan lainnya)

Kursor ke Analysis lalu tekan Fu and Li's (and other) Tests



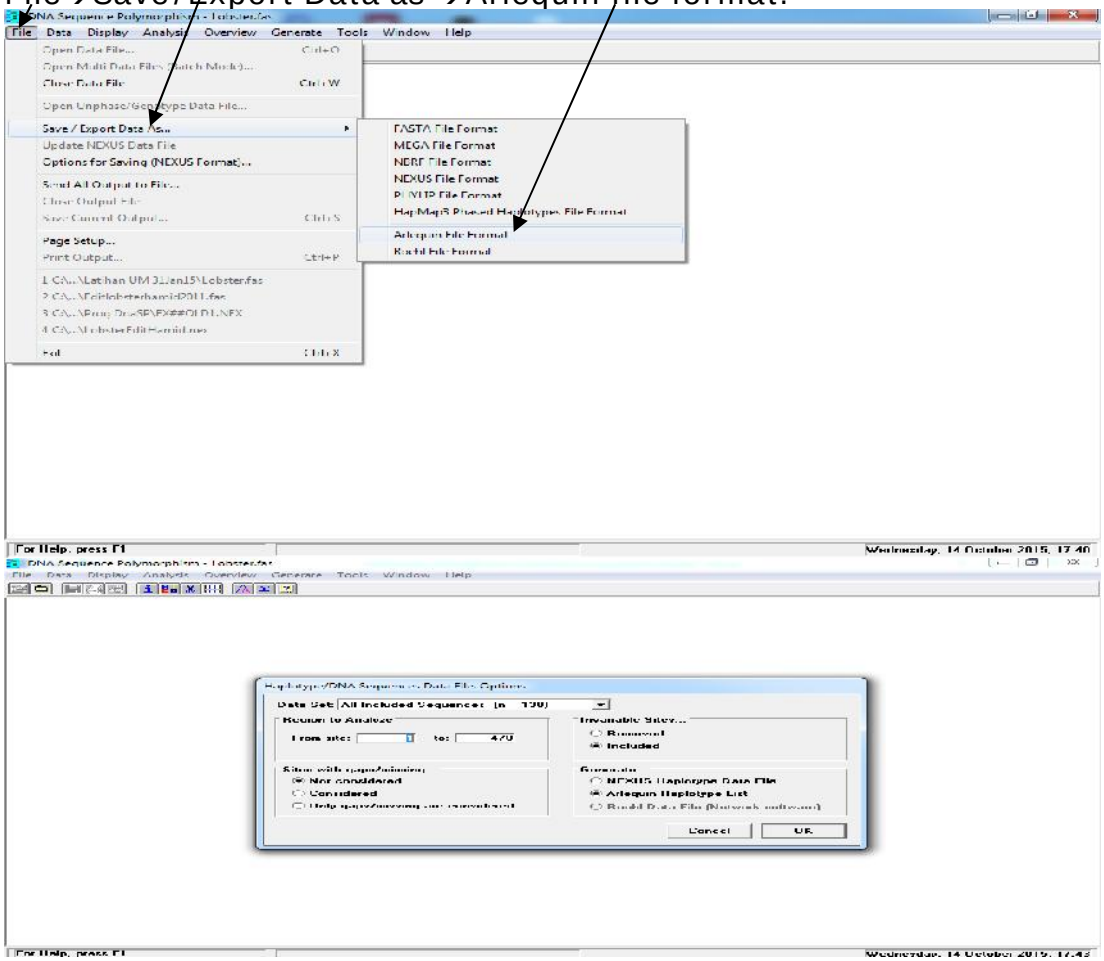
Hasil analisis (jumlah total mutasi dan lain-lain) adalah



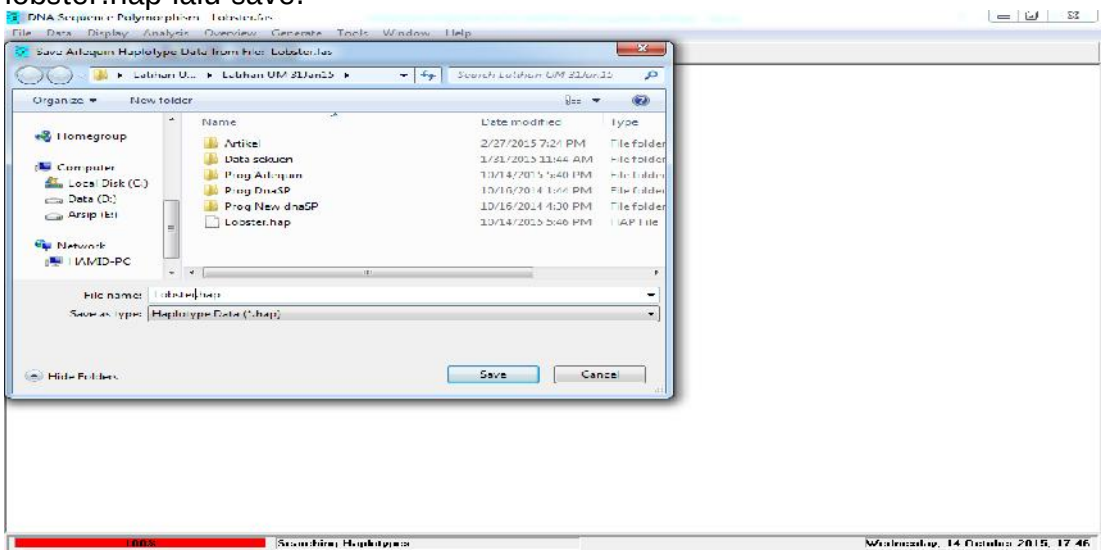
Hasil-hasil analisis di atas dapat ditemukan pada berbagai artikel penelitian.

F. Analisis dengan Arlequin

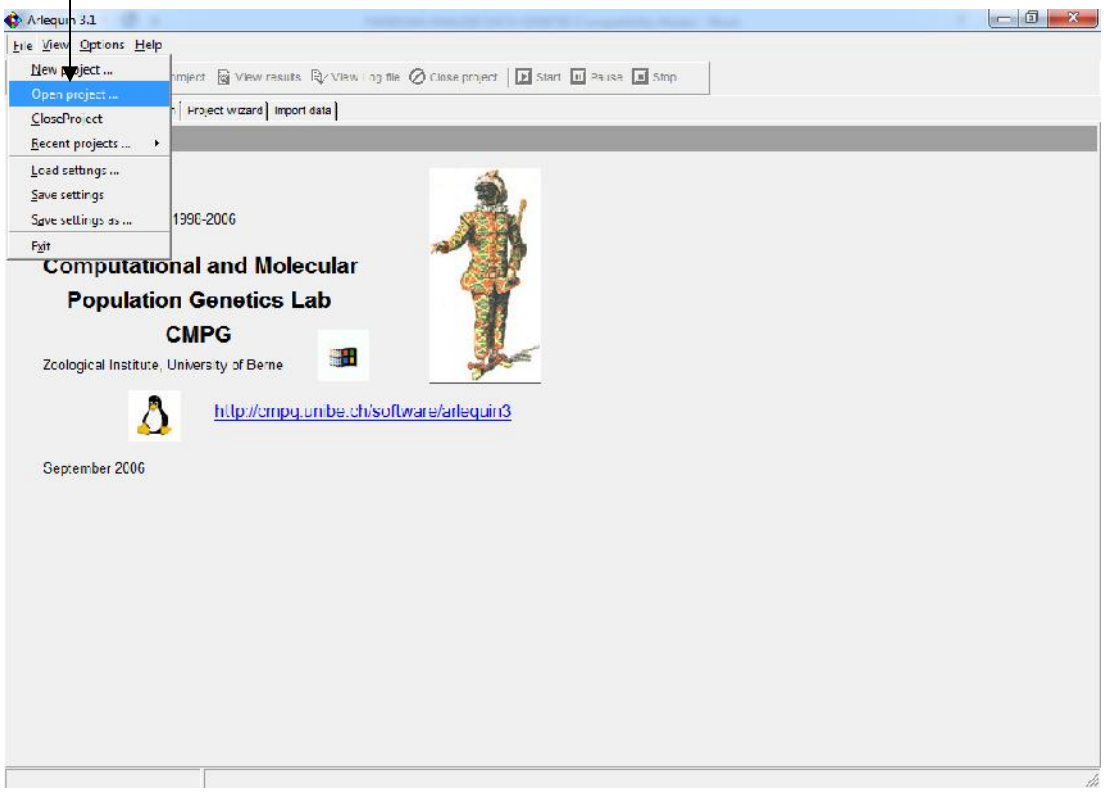
Sebelum menggunakan Arlequin, data yang ada (misalnya pada DnaSP) diekspor atau disimpan dalam format Arlequin format dengan menekan File→Save/Export Data as →Arlequin file format.



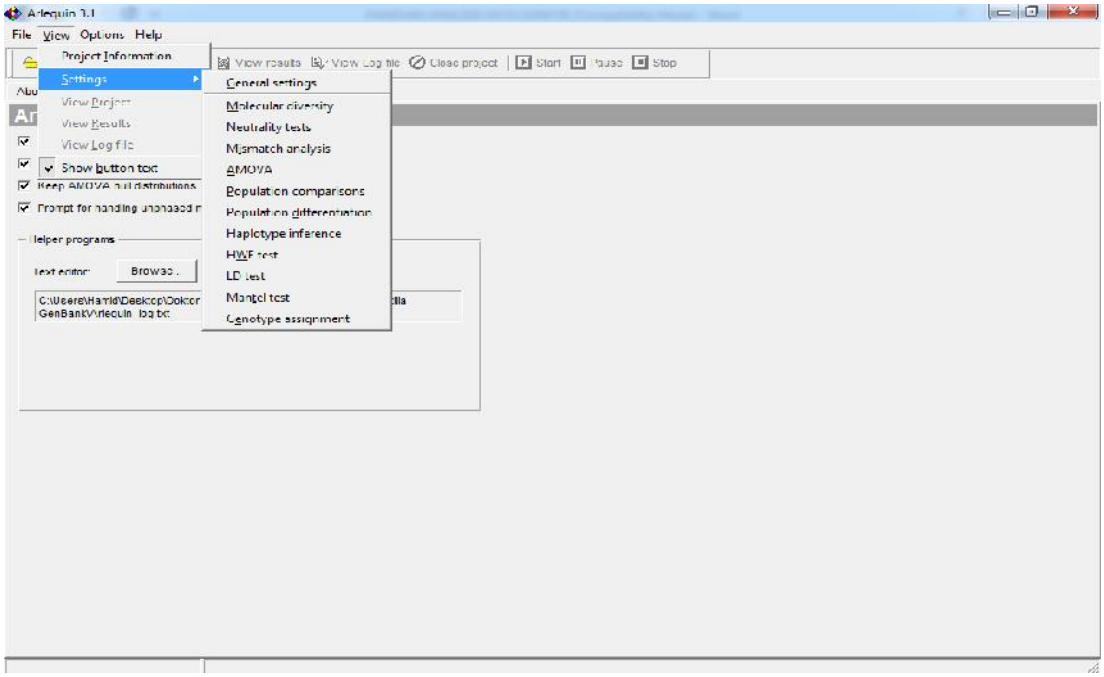
Setelah menekan Ok, namai file dalam format haplotype (*hap). Misalnya lobster.hap lalu save.



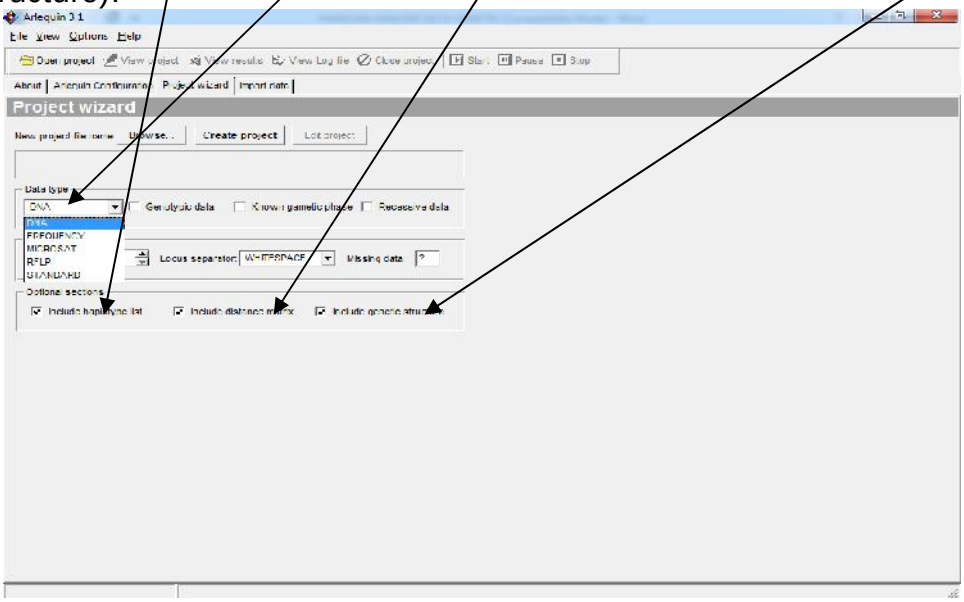
Mulai mengoperasikan program Arlequin dengan menekan File dan pilih open project untuk membuka data haplotype yang akan dianalisis.



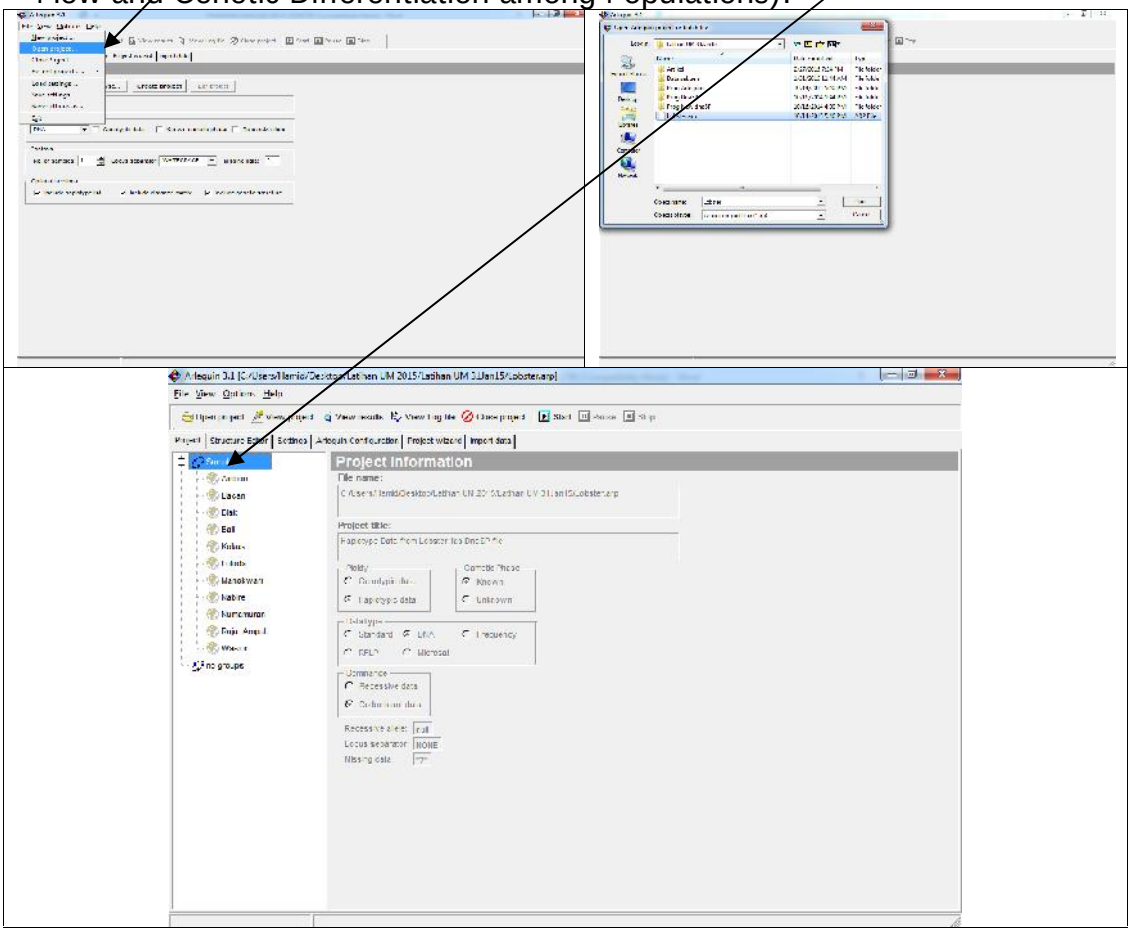
Arlequin dapat disetting untuk analisis Keragaman molekuler, uji netralitas, analisis mismatch, AMOVA, perbandingan populasi, dan lain-lain (lihat di bawah).



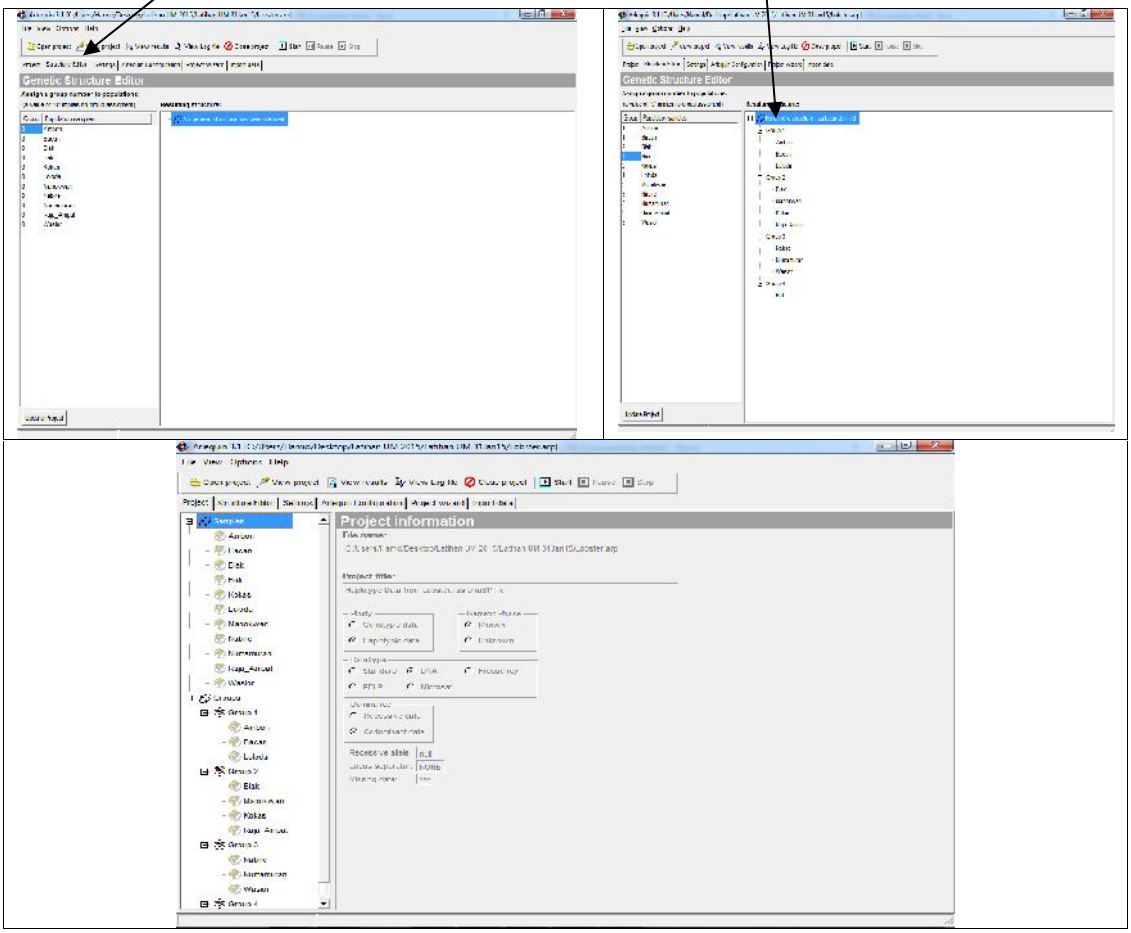
1. Atur terlebih dahulu Data type ke DNA dan centang semua optional section (include haplotype list, include distance matrix, include genetic structure).



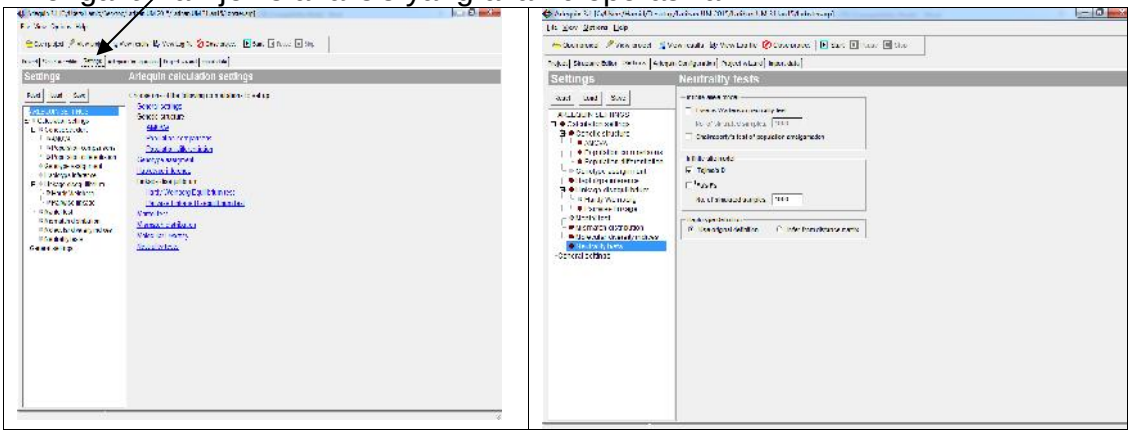
2. Mulai dengan Open Project. Setelah menekan Open, maka program Arlequin membuka Project sebagai berikut (settingan project samples seperti ini merupakan bawaan awal DnaSP, ingat pada saat analisis Gene Flow and Genetic Differentiation among Populations):



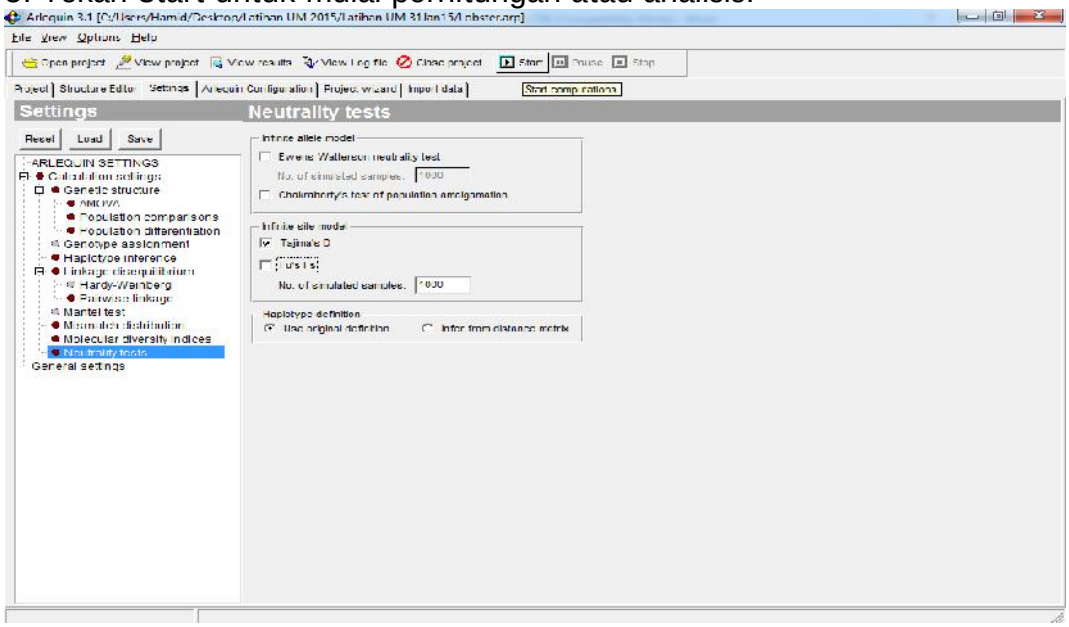
3. Arahkan kursor ke Structure Editor (samping kanan project) untuk mengelompokkan populasi (misalnya kelompok berdasarkan batas administrasi). Dalam contoh ada empat kelompok (grup) yaitu grup Maluku (tiga populasi=Loloda, Bacan dan Ambon), Papua non teluk (empat populasi=Biak, Manokwari, Raja Ampat, dan Kokas), Papua teluk (tiga populasi=Wasior, Numamuran dan Nabire) dan grup Bali satu populasi. Update project.



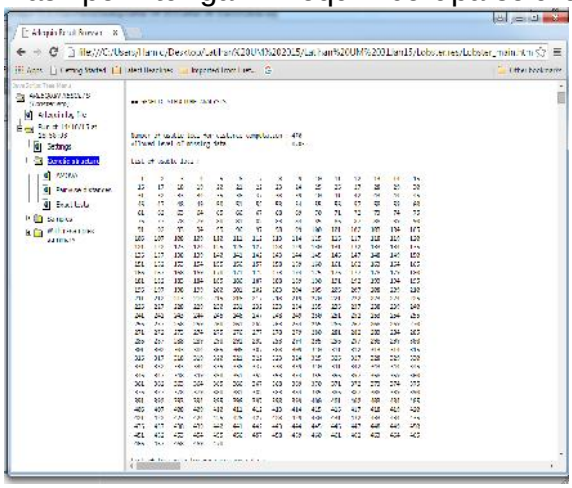
4. Tekan Setting (sebelah kanan structure editor) untuk memilih dan mengaktifkan jenis analisis yang akan dioperasikan.

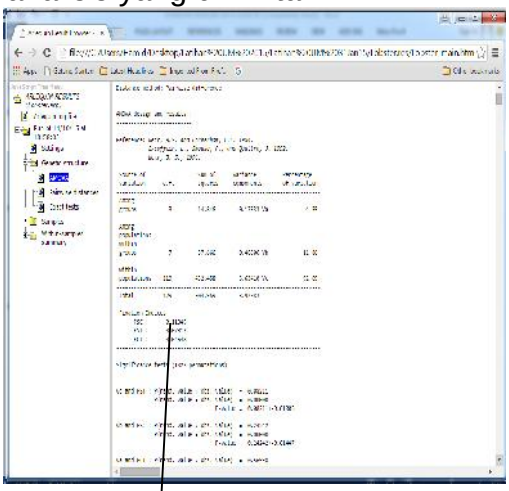


5. Tekan Start untuk mulai perhitungan atau analisis.



Hasil perhitungan Arlequin berupa seluruh analisis yang diminta.





Contoh publikasi yang menampilkan hasil AMOVA

research article

Strong genetic structure among coral populations within a conservation priority region, the Bird's Head Seascape (Papua, Indonesia)

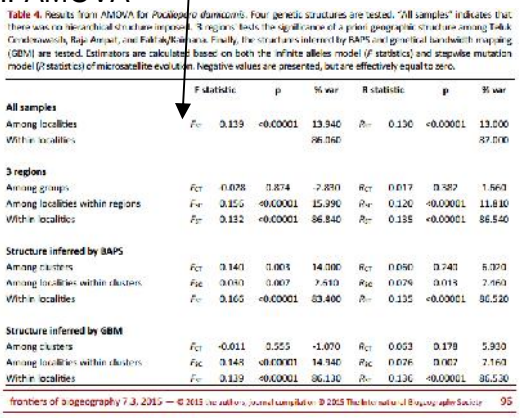
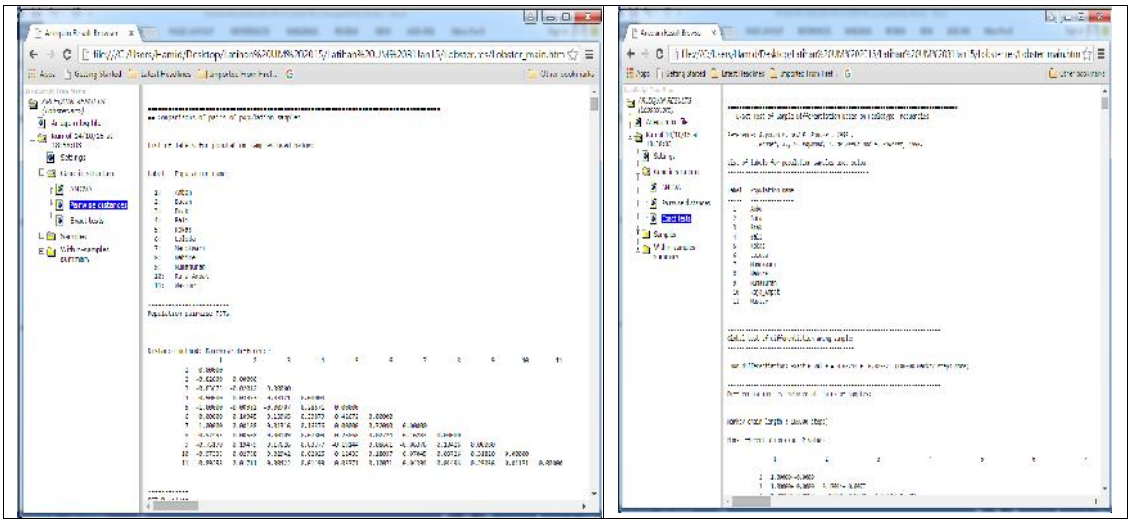
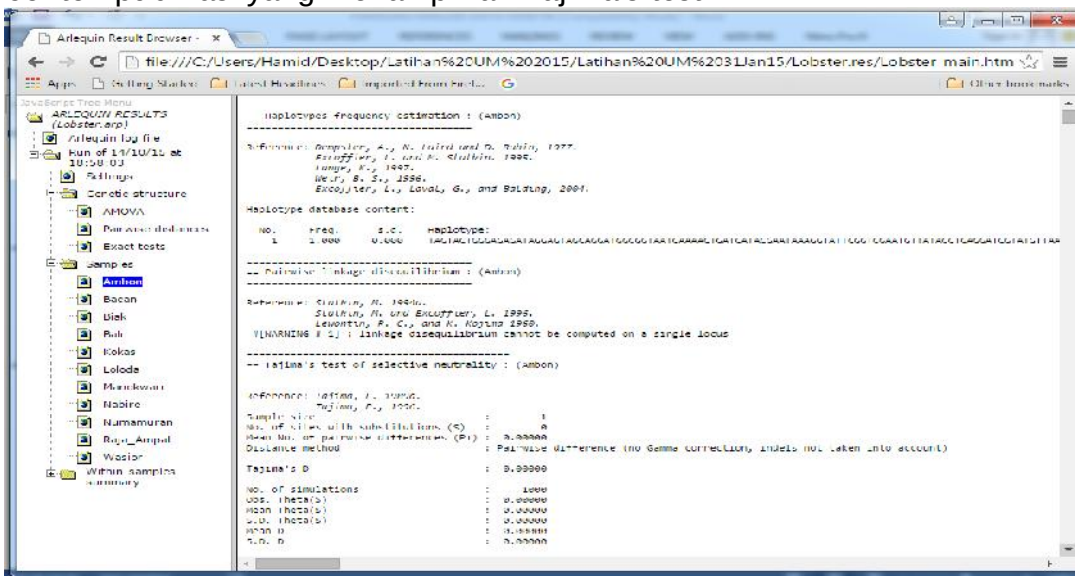


Table 4. Results from AMOVA for *Pocillopora damicornis*. Four genetic structures are tested. "All samples" indicates that there were no hierarchical structure imposed. 3 regions tests the significance of a priori geographic structure among Teluk Cenderawasih, Raja Ampat, and Fakfak/Kaimana. Finally, the structures inferred by BAPS and genetical landscape mapping (GBM) are tested. Estimators are calculated based on both the infinite alleles model (*F* statistics) and stepwise mutation model (*R* statistics) of microsatellite evolution. Negative values are presented, but are effectively equal to zero.

	F statistic	p	% var	R statistic	p	% var
All samples						
Among localities	F_{CT} 0.139	<0.00001	13.940	R_{CT} 0.130	<0.00001	13.000
Within localities			86.060			87.000
3 regions						
Among groups	F_{CT} 0.028	0.074	2.830	R_{CT} 0.017	0.382	1.660
Among localities within regions	F_{SC} 0.159	<0.00001	15.990	R_{SC} 0.120	<0.00001	11.810
Within localities	F_{ST} 0.132	<0.00001	86.840	R_{ST} 0.135	<0.00001	86.540
Structure inferred by BAPS						
Among clusters	F_{CT} 0.140	0.005	14.000	R_{CT} 0.080	0.240	8.000
Among localities within clusters	F_{SC} 0.080	0.007	7.610	R_{SC} 0.029	0.013	2.660
Within localities	F_{ST} 0.165	<0.00001	83.400	R_{ST} 0.135	<0.00001	86.520
Structure inferred by GBM						
Among clusters	F_{CT} -0.011	0.555	-1.070	R_{CT} 0.063	0.178	5.930
Among localities within clusters	F_{SC} 0.148	<0.00001	14.940	R_{SC} 0.026	0.002	2.460
Within localities	F_{ST} 0.139	<0.00001	86.130	R_{ST} 0.130	<0.00001	86.530



Contoh publikasi yang menampilkan Tajima's test.



Bull Mar Sci. 90(1):379–397. 2014
http://dx.doi.org/10.5343/bms.2013.1015

research paper

Evaluating edge-of-range genetic patterns for tropical echinoderms, *Acanthaster planci* and *Tripneustes gratilla*, of the Kermadec Islands, southwest Pacific

School of Biological Sciences, The University of Queensland, St. Lucia, Queensland 4072, Australia.

** Corresponding author email: <l.liggins@uq.edu.au>.*

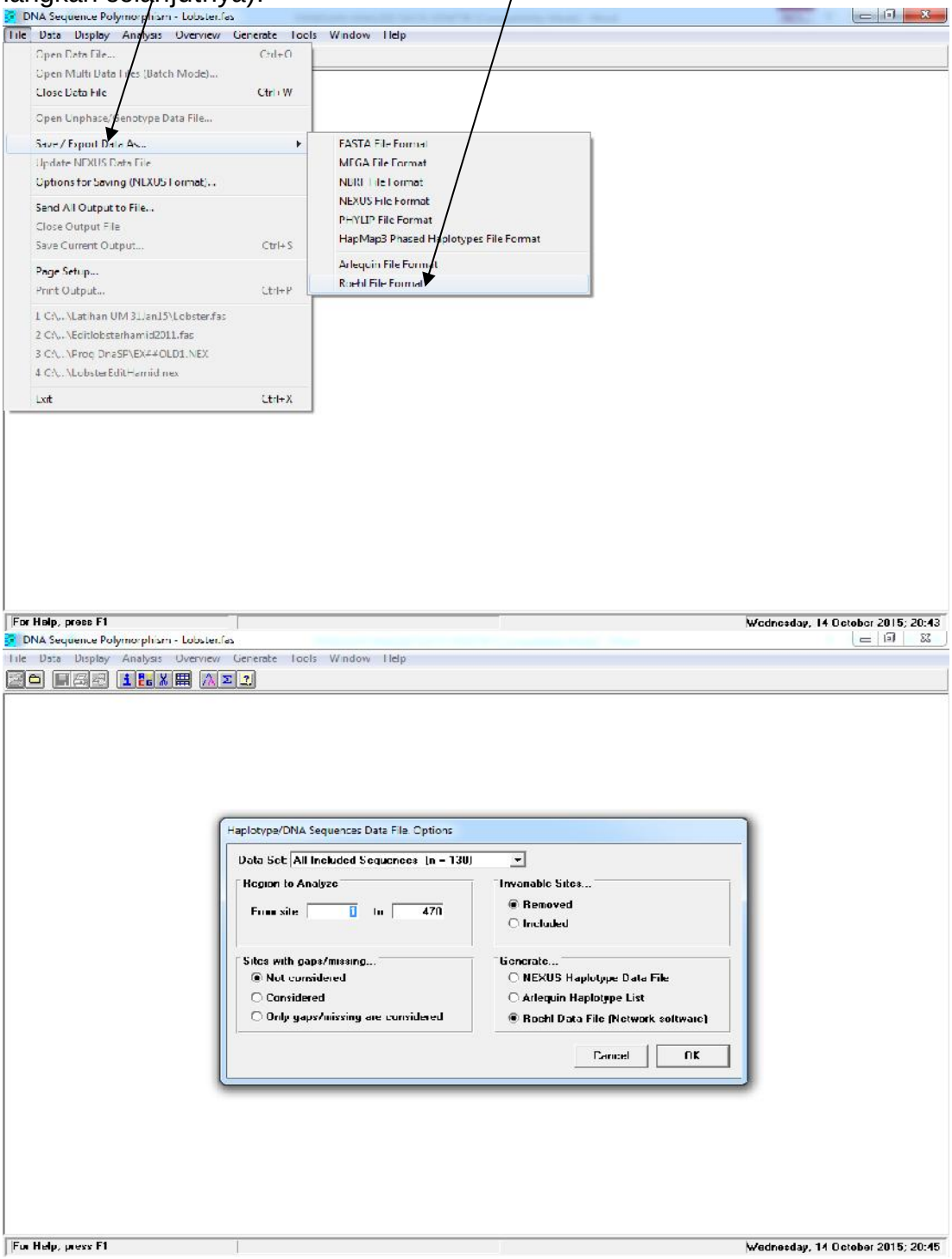
Libby Liggins*
Lachlan Gleeson
Cynthia Riginos

Table 2. Summary of included data and genetic diversity statistics for each location studied for *Acanthaster planci* and *Tripneustes gratilla*: number of sequences (n), polymorphic sites (θ), number of haplotypes (h), haplotype diversity [Hd (SD)], nucleotide diversity [π (SD)], Tajima's D statistic and significance (P, no correction). Source (Src) of the CO1 data: a = Vogler et al. (2008), b = present study, c = Lessios et al. (2003).

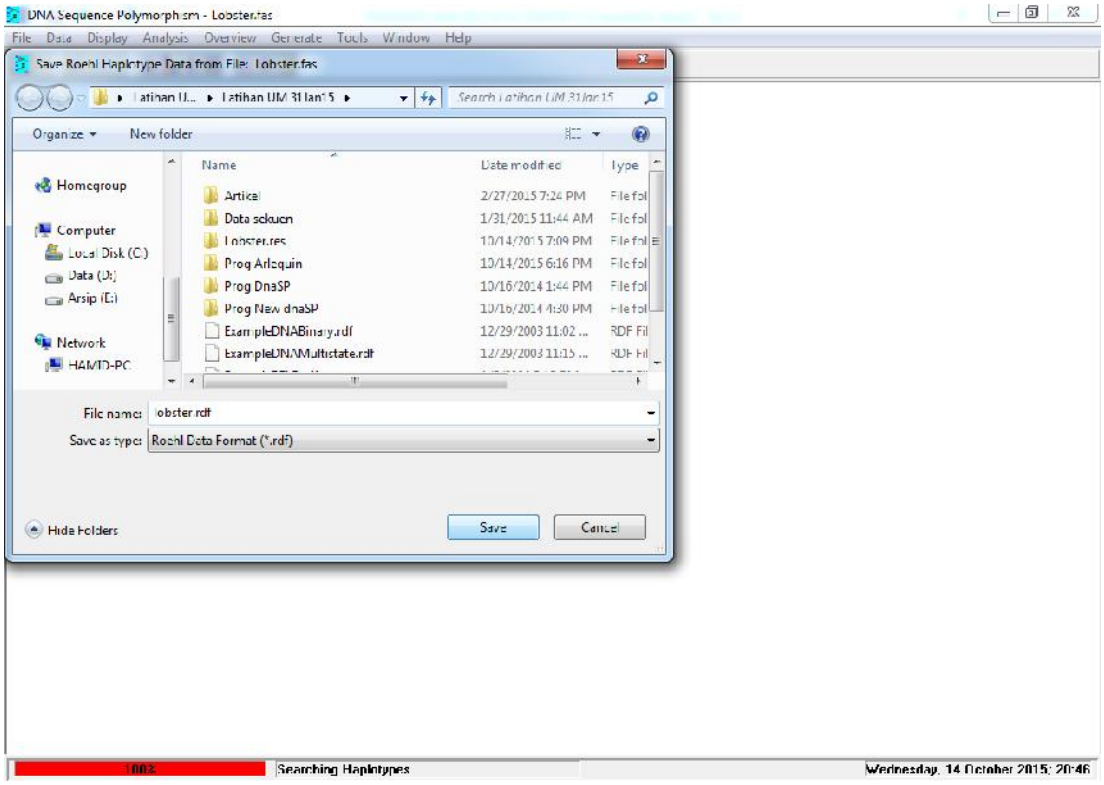
Code	Location	n	Latitude	Longitude	θ	h	Hd (SD)	π (SD)	Tajima's D	P	Src
Acanthaster planci											
JP	Okinawa	6	36.18	138.25	2	3	0.73 (0.16)	0.0014 (0.0013)	−0.05	0.45	a
HW	Hawaii	5	19.92	−155.60	3	4	0.90 (0.16)	0.0019 (0.0017)	−1.05	0.15	a
JI	Johnston Atoll	7	16.73	169.54	3	4	0.81 (0.12)	0.0021 (0.0017)	0.40	0.66	a
GM	Guam	8	13.44	144.79	5	5	0.86 (0.11)	0.0030 (0.0022)	−0.17	0.45	a
PH	Philippines	7	13.04	121.71	6	6	0.95 (0.10)	0.0031 (0.0023)	−1.13	0.16	a
PM	Panama	2	8.53	80.78	0	1	0.00 (0.00)	0.0000 (0.0000)	na	na	a
KG	Kingman Reef	8	6.45	162.40	12	6	0.93 (0.08)	0.0070 (0.0044)	0.29	0.40	a
CR	Cocos Island	13	5.52	−87.07	1	2	0.28 (0.14)	0.0005 (0.0006)	−0.27	0.40	a
IN	Palau Section	8	−5.79	105.71	4	4	0.86 (0.18)	0.0016 (0.0014)	−1.33	0.05	a
SO	Solomon Islands	9	−8.74	157.37	5	5	0.67 (0.17)	0.0071 (0.0052)	0.00	0.93	a
GV	Gove	7	−12.35	136.79	2	3	0.52 (0.21)	0.0009 (0.0010)	−1.24	0.12	a
AS	Swains Island	8	−14.27	−170.70	10	6	0.93 (0.08)	0.0057 (0.0042)	0.37	0.67	a
LI	Lizard Island	15	−14.67	145.46	7	4	0.63 (0.07)	0.0005 (0.0018)	−0.71	0.27	a,b
VU	Vanuatu	7	15.38	166.96	9	5	0.91 (0.10)	0.0063 (0.0041)	0.33	0.64	a
MR	Moorea	6	17.52	149.84	15	5	0.93 (0.12)	0.0134 (0.0066)	0.10	0.48	a
ED	Enderby Island	8	−20.67	116.53	1	2	0.25 (0.18)	0.0004 (0.0006)	−1.05	0.21	a
KR	Kermadec Islands	35	−29.27	−177.92	0	1	0.00 (0.00)	0.0000 (0.0000)	na	na	b

G. Analisis dengan Network

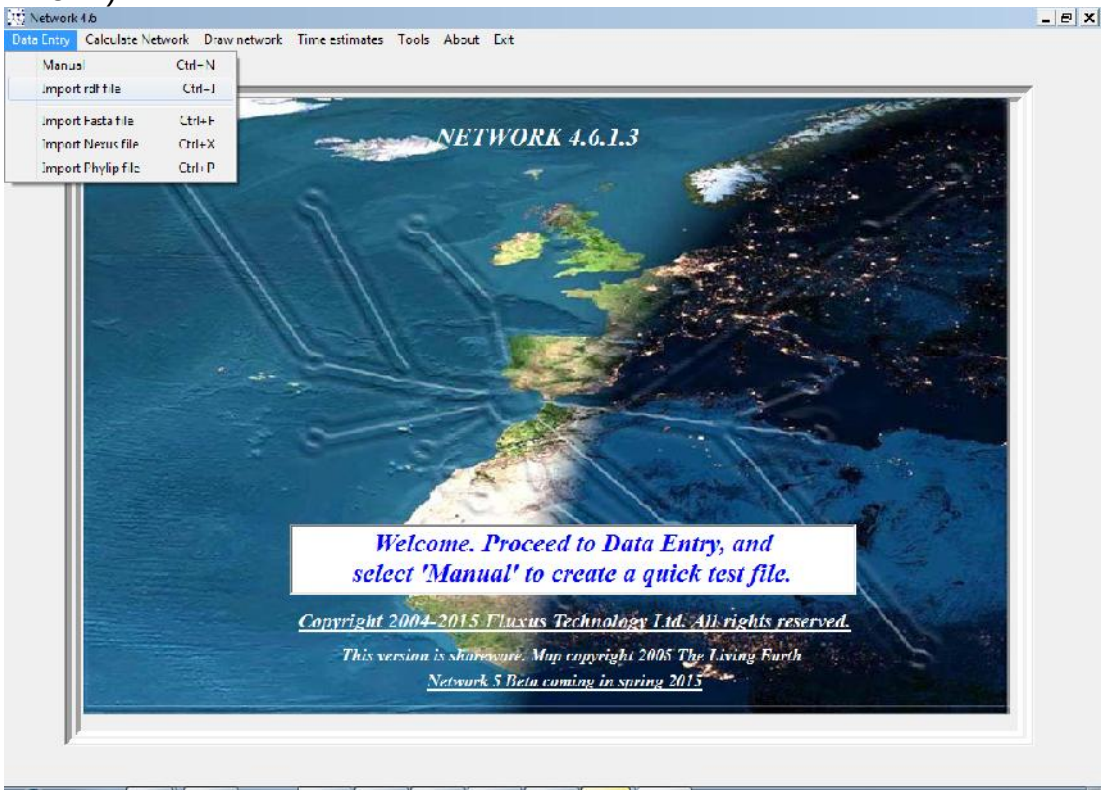
Sebelum menggunakan Network, data yang ada (misalnya pada DnaSP) diekspor atau disimpan dalam format Roehl File format dengan menekan File→Save/Export Data as →Arlequin file format. Permulaan pengoperasian Network 5.6.1.3 dapat juga dilakukan secara langsung (lihat langkah selanjutnya).



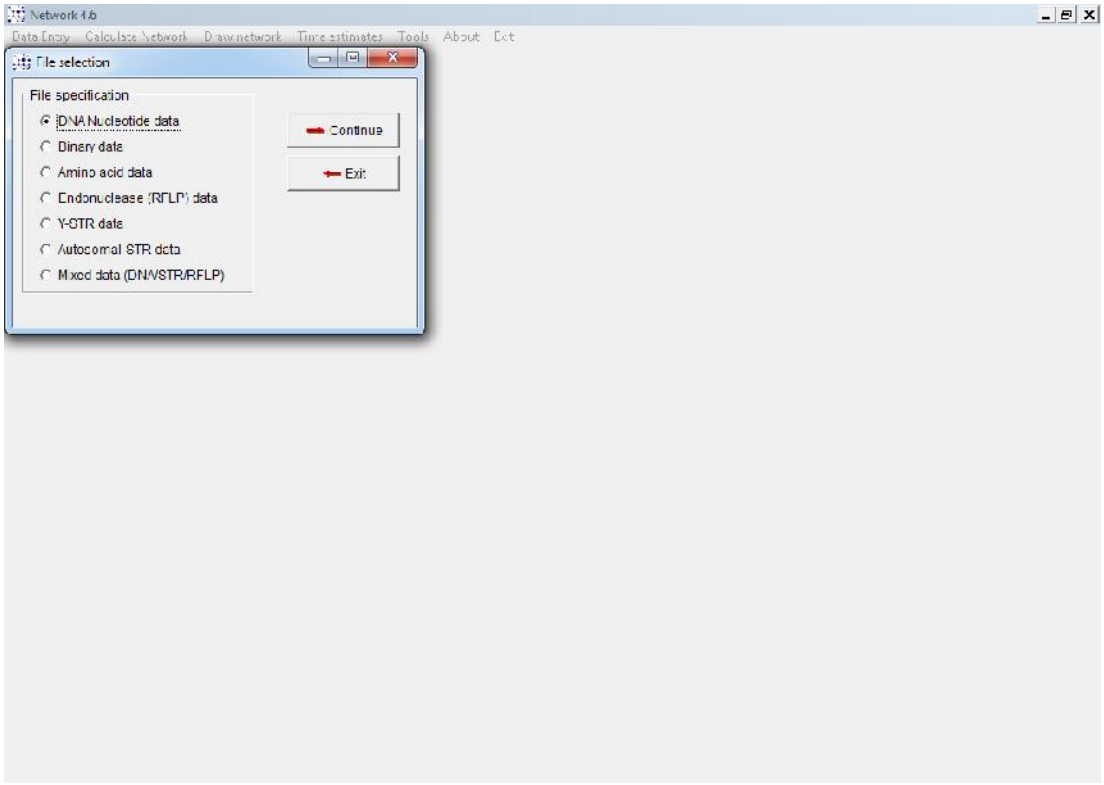
Save dengan memberikan nama misalnya lobster.rdf



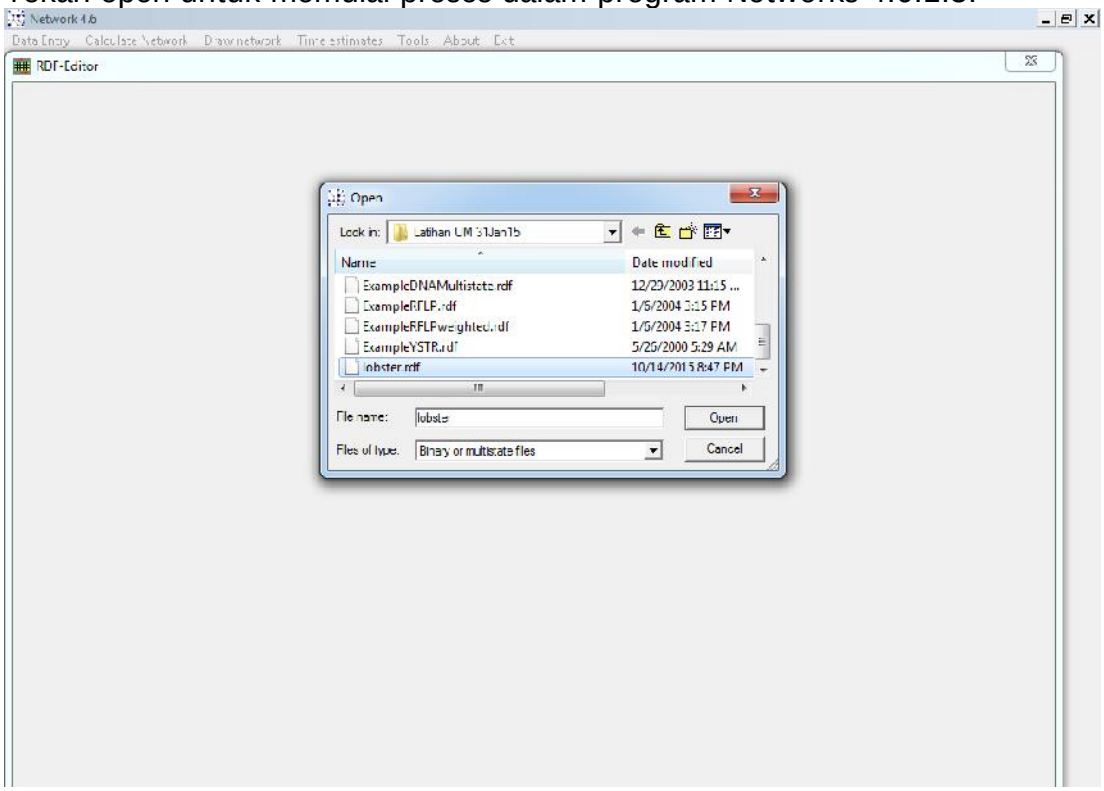
1. Buka program Network 4.6 secara langsung. Pilih dan tekan Data Entry untuk memulai program Networ 4.6.1.3. Salah satu cara mengimpor rdf file (dieksport atau disimpan melalui DnaSP). Cara lain dengan mengimpor Fasta file pada tahapan sebelumnya (menggunakan MEGA5 atau MEGA6 atau MEGA7)



File selection yang ada pilih/centang pada DNA nucleotide data lalu tekan continue.

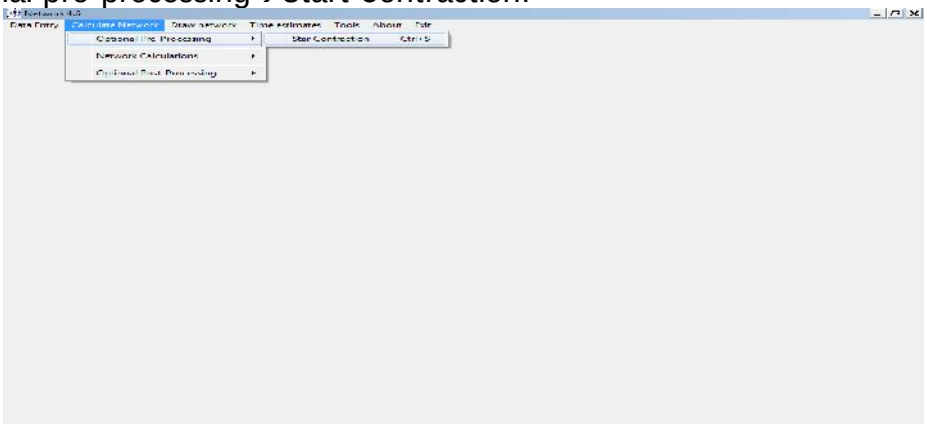


Tekan open untuk memulai proses dalam program Networks 4.6.1.3.

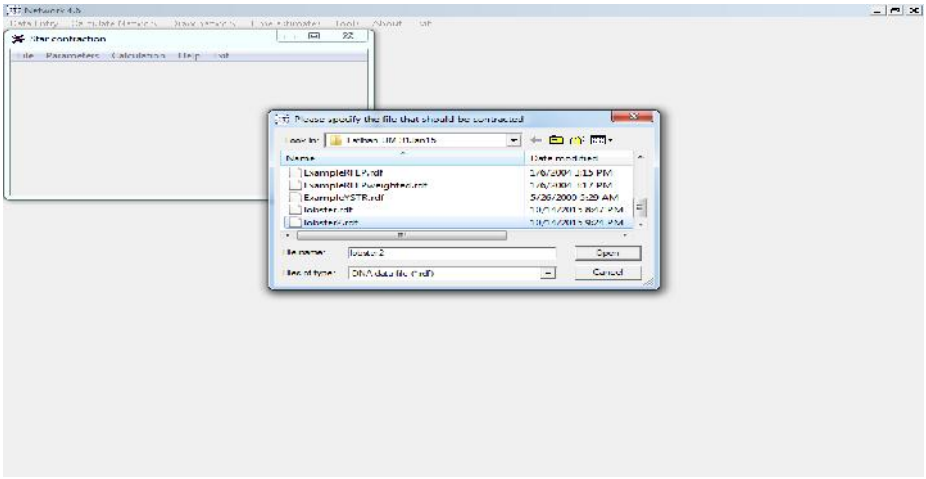


Data yang akan dianalisis seperti di bawah. Simpan data Save dan tutup data dengan menekan exit.

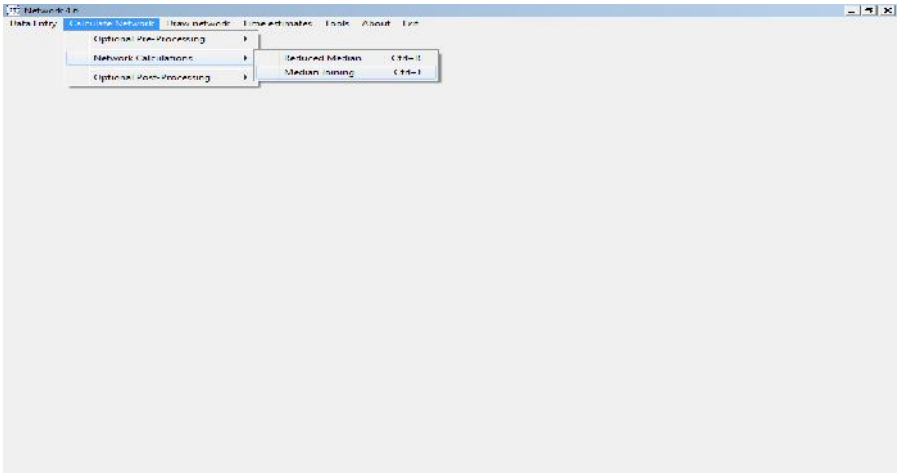
Mulai menghitung Network dengan menekan Calculate Network lalu tekan Optional pre-processing→Start Contraction.



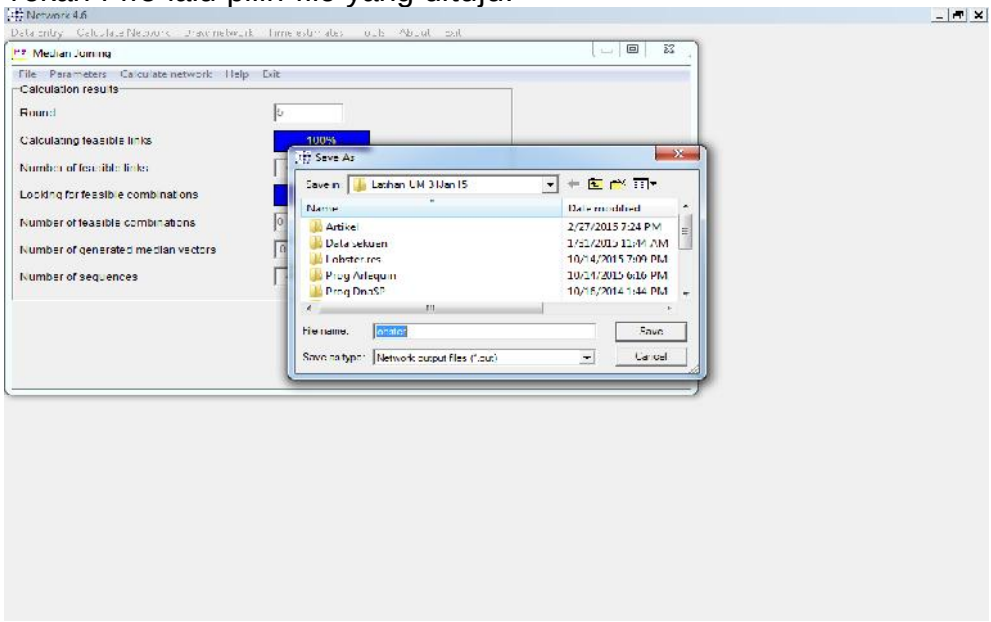
Pilih File lalu arahkan kursor ke file yang dituju (lobster.rdf) lalu tekan open.



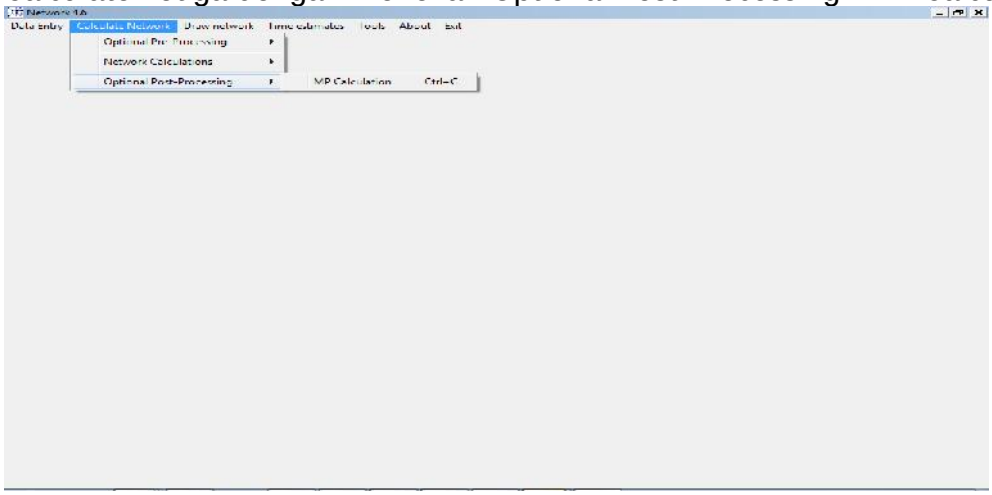
Calculate kedua dengan memilih dan menekan network calculation→misalnya Median Joining.

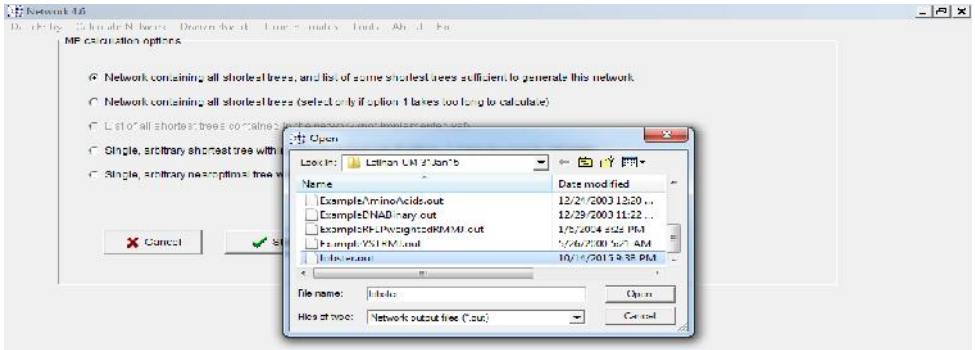


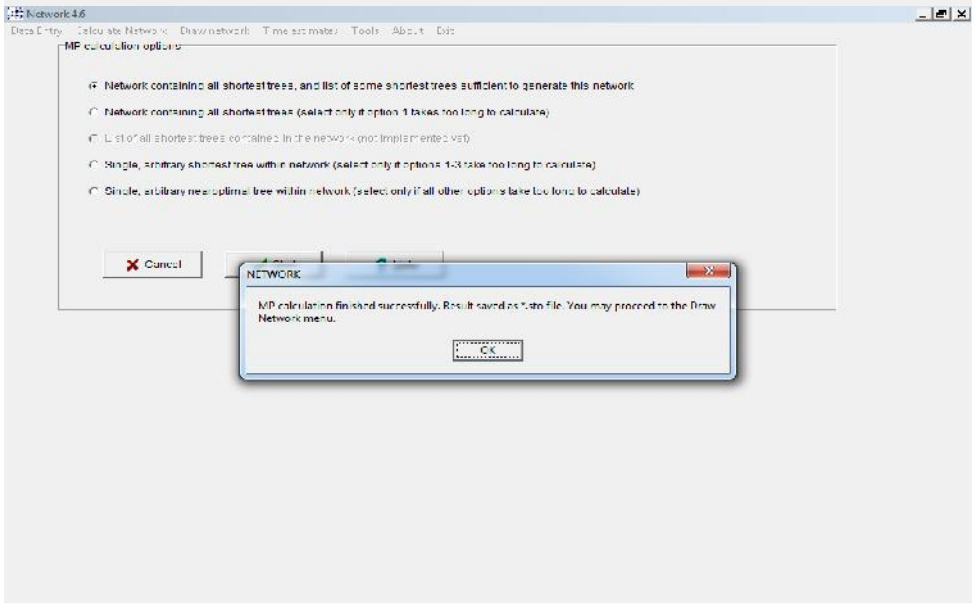
Tekan File lalu pilih file yang dituju.



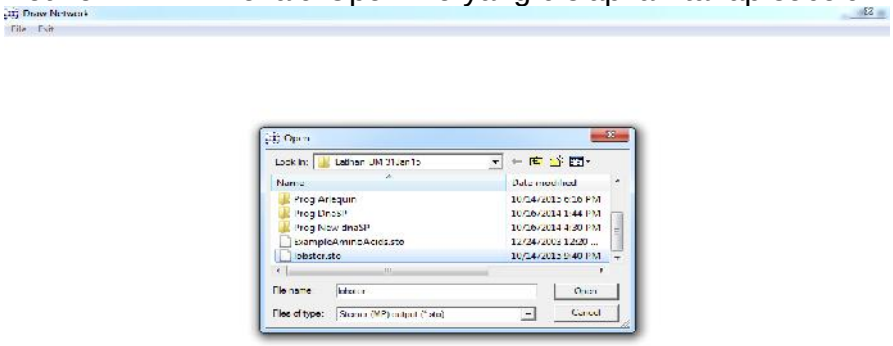
Calculate ketiga dengan menekan Optional Post-Processing→MP Calculation.

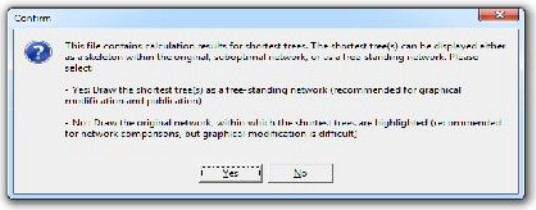




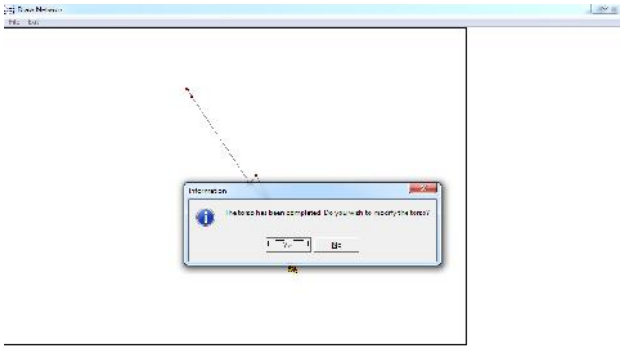


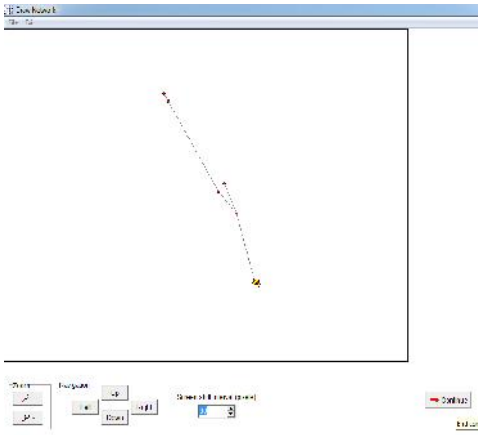
Tahap selanjutnya adalah membuat gambar dengan menekan Draw Network. Pilih File lalu Open file yang disiapkan tahap sebelumnya.



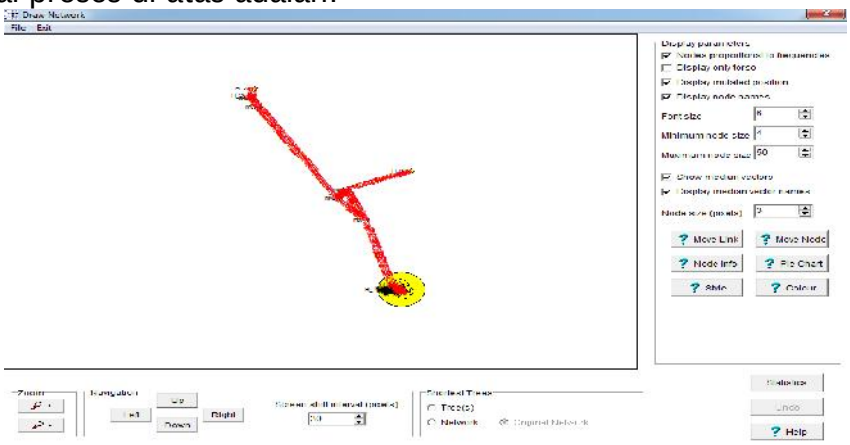


Tekan Continue dan Finalise.

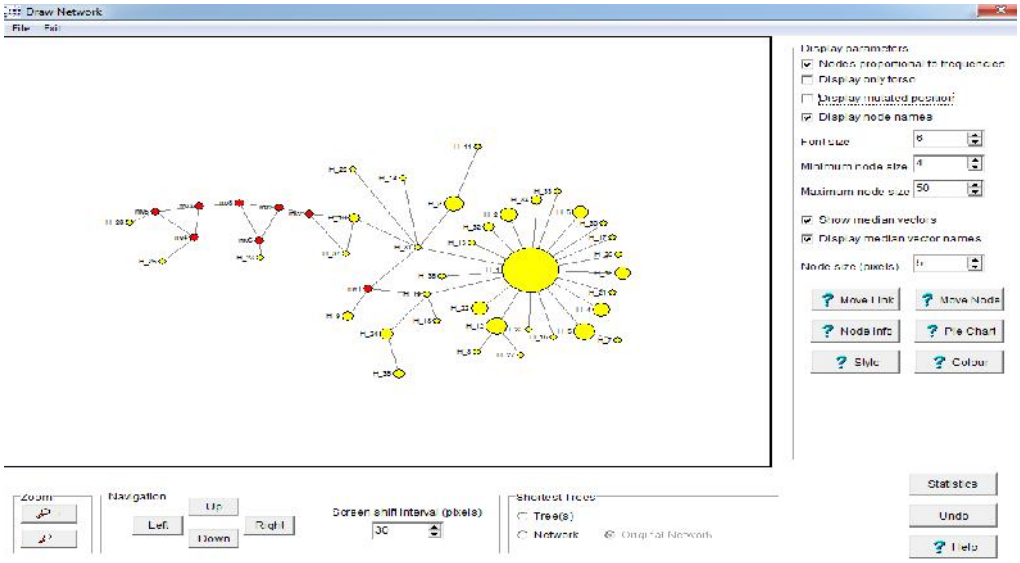




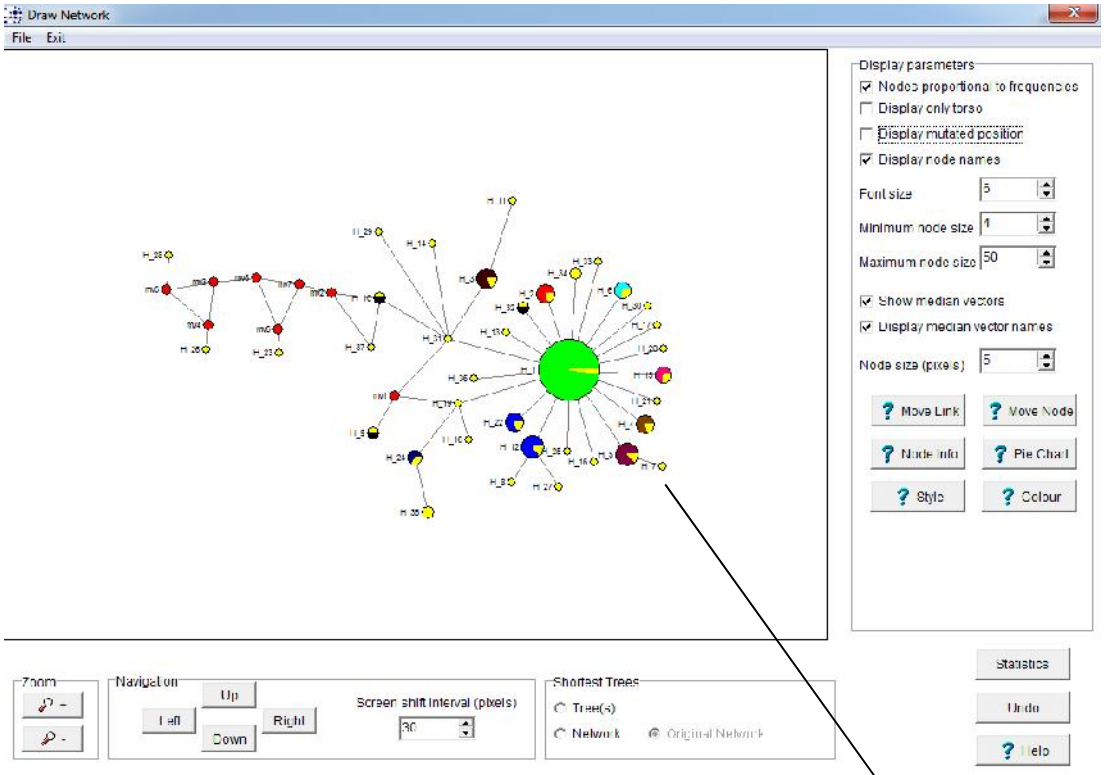
Hasil awal proses di atas adalah:



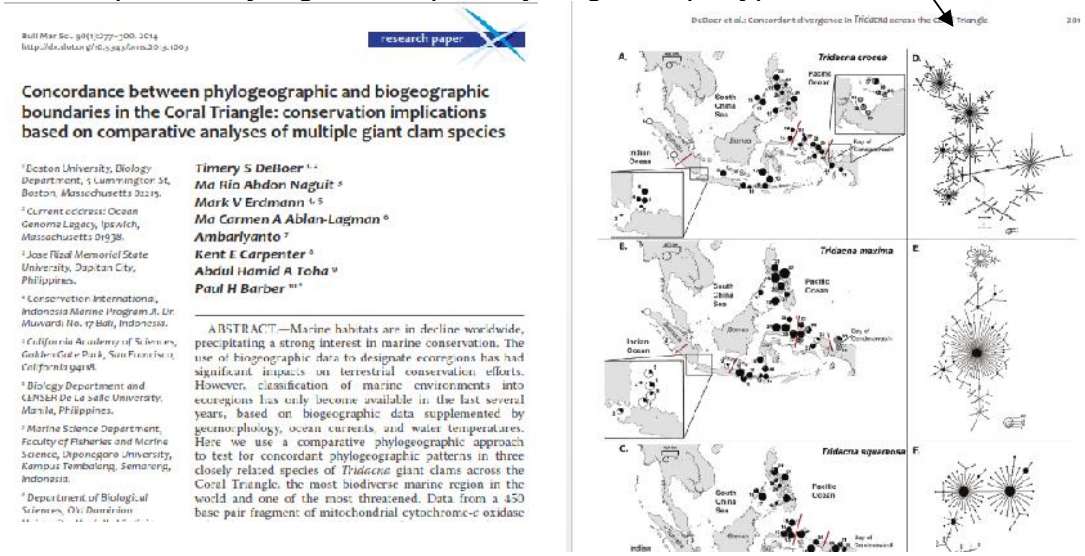
Edit dengan mehilangkan posisi mutasi, misalnya, dengan menekan Display mutated position.



Jaringan haplotype dapat diubah warna sesuai dengan populasi atau jumlah individu setiap haplotype. Perubahan warna dengan menekan diagram pie setiap haplotype dengan mengclick mouse sebelah kanan.



Contoh publikasi yang menampilkan jaringan Haplotype



research paper

Concordance between phylogeographic and biogeographic boundaries in the Coral Triangle: conservation implications based on comparative analyses of multiple giant clam species

Timery S DeBoer
Ma Rin Abdon Naguit
Mark V Erdmann
Ma Carmen A Ablan-Lagman
Ambariyanto
Kent E Carpenter
Abdul Hamid A Toha
Paul H Barber

ABSTRACT—Marine habitats are in decline worldwide, precipitating a strong interest in marine conservation. The use of biogeographic data to designate ecoregions has had significant impacts on terrestrial conservation efforts. However, classification of marine environments into ecoregions has only become available in the last several years, based on biogeographic data supplemented by geomorphology, ocean currents, and water temperatures. Here we use a comparative phylogeographic approach to test for concordant phylogeographic patterns in three closely related species of *Tridacna* giant clams across the Coral Triangle, the most biodiverse marine region in the world and one of the most threatened. Data from a 450 base pair fragment of mitochondrial cytochrome-c oxidase

DAFTAR PUSTAKA

Bandelt H-J, Forster P, Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol Biol Evol 16:37-48

DeBoer TS, Naguit MRA, Erdmann MV, Ma Ablan-Lagman MC, Ambariyanto, Carpenter KE, Toha AHA, Barber PH. 2014. Concordance between phylogeographic and biogeographic boundaries in the Coral Triangle: conservation implications based on comparative analyses of multiple giant clam species. Bull Mar Sci. 90(1):277–300. http://dx.doi.org/10.5343/bms.2013.1003.

Deboer TS, Baker AC, Erdmann MV, Ambariyanto, Barber PH. 2012. Patterns of Symbiodinium distribution in three giant clam species across the biodiverse Bird's Head region of Indonesia. Marine Ecology Progress Series 444:117-132. DOI: 10.3354/meps09413·

Excoffier L, Lischer HEL. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources. 10: 564-567.

Kamagi DDW, Corebima AD, Rengkuan M. 2014. Phylogenetic Position of North Sulawesi Tarsius sp. Based on Partial Cytochrome b Gene Sequences. Open Journal of Genetics 4: 332-341.

Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution. Mol Biol Evol. doi: 10.1093/molbev/msw054

Liggins L, Gleeson L, Riginos C. 2014. Evaluating edge-of-range genetic patterns for tropical echinoderms, Acanthaster planci and Tripneustes gratilla, of the Kermadec Islands, southwest Pacific. Bull. Mar.Sci. 90 (1): 379-397.

Li F-W, Kuo L-Y, Rothfels CJ, Ebihara A, Chiou W-L, et al. (2011) rbcL and matK Earn Two Thumbs Up as the Core DNA Barcode for Ferns. PLoS ONE 6(10): e26597. doi:10.1371/journal.pone.0026597

Rozas J. 2009. DNA Sequence Polymorphism Analysis using DnaSP. Pp. 337-350.*In* Posada, D. (ed.) *Bioinformatics for DNA Sequence Analysis; Methods in Molecular Biology Series* Vol. 537. Humana Press, NJ, USA.

Starger CJ, Erdmann MV, Toha AHA, Baker AC, Barber PH. 2015. Strong genetic structure among coral populations within a conservation priority region, the Bird's Head Seascape (Papua, Indonesia). Frontiers of Biogeography 7(3): 91-106.

Toha AHA, Sutiman B. Sumitro, Widodo, Hakim L. 2015. Color diversity and distribution of Sea Urchin *Tripneustes gratilla* in Cenderawasih Bay ecoregion of Papua, Indonesia. The Egyptian journal of aquatic research 41(3): 273-278. Doi: 10.1016/j.ejar.2015.05.001.

Wijana IMS, Mahardika IGN. 2010. Struktur Genetik dan Filogeni Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) berdasarkan Sekuen DNA Mitkondria control region sitokrom oksidase I pada diversitas zone biogeografi. Jurnal Bumi Lestari 10(2): 270 – 274.


9 786239 016678


9 786239 016685