



**Alignment dan Analisis Kekerabatan Rayap *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae) pada Habitat yang berbeda dengan software Bioedit dan MEGA 6 (Studi Pustaka DNA Sekuensing dari NCBI)**

**Fredy Leiwakabessy<sup>1</sup>, Ali Awan<sup>2</sup>, Muhammad Tarmizi Kubangun<sup>3\*</sup>, Eifan Boyke Pattiasina<sup>4</sup>**

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pattimura, Jalan Ir. M. Putuhena, Kampus Unpatti, Poka, Ambon, Indonesia

Corresponding: [muhammad.kubangun@gmail.com](mailto:muhammad.kubangun@gmail.com)

**Abstract**

**Background:** Bioinformatics is a science that can relate information which includes molecular biology, biochemical structure, enzymatic, cell biology, physiology and pathology by using a computerized system based on data that has been collected.

**Methods:** sequence alignment and phylogenetic tree construction of DNA sequences registered at NCBI in the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki that lives in different habitats, namely in Mississippi, Southeast Asia, and China using Bioedit and MEGA software.

**Results:** Sequence alignment showed that termite *C. formosanus* isolated from MS12 gene COII (FJ870577.1) in the Mississippi area had a base pair of 790 bp, termite *C. formosanus* isolated from Dinghu Mountain gene COII (KU257993.1) in China has a base pair of 779 bp, and the termite *C. formosanus* isolated from CF003JP gene COII (EF379943.1) in Southeast Asia has a base pair of 676 bp. The construction of the phylogenetic tree shows that the termite *C. formosanus* isolated from Dinghu Mountain gene COII (KU257993.1) in the China region has a close kinship with the termite *C. formosanus* isolated from CF003JP gene COII (EF379943.1) in the Southeast Asia region, while The termite *C. formosanus* isolated from MS12 gene COII (FJ870577.1) in the Mississippi area is distantly related to *C. formosanus* (KU257993.1) from China and *C. formosanus* (EF379943.1) from Southeast Asia.

**Conclusion:** Mississippi has a base pair of 790 bp, termite *C. formosanus* isolated from Dinghu Mountain gene COII (KU257993.1), China has a base pair of 779 bp, and termite *C. formosanus* isolated from CF003JP gene COII (EF379943.1), Southeast Asia has a base pair of 676 bp. China is closely related to the termite *C. formosanus* isolated from COII gene CF003JP (EF379943.1), Southeast Asia, while the termite *C. formosanus* isolated from MS12 gene COII (FJ870577.1), Mississippi is distantly related to *C. formosanus* (KU257993.1) from China and *C. formosanus* (EF379943.1) from Southeast Asia.

**Keywords:** *Alignment, Kinship Analysis, Coptotermes formosanus*

**Abstrak**

**Latar Belakang:** Bioinformatika merupakan ilmu yang dapat menghubungkan informasi yang meliputi biologi molekular, struktur biokimia, enzimologi, biologi sel, fisiologi dan patologi dengan menggunakan sistem komputerisasi berdasarkan data yang telah dikumpulkan.

**Metode:** penyejajaran sekuen dan konstruksi pohon filogenetik dari sekuen DNA yang terdaftar di NCBI pada spesies rayap bawah tanah *Coptotermes formosanus* Shiraki yang hidup pada habitat berbeda, yaitu di Mississippi, Asia Tenggara, dan Cina dengan menggunakan software Bioedit dan MEGA.

**Hasil:** Penyejajaran sekuen menunjukkan bahwa rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari MS12 gen COII (FJ870577.1) pada daerah Mississippi memiliki pasangan basa sebanyak 790 bp, rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari Dinghu Mountain gen COII (KU257993.1) pada daerah Cina memiliki pasangan basa sebanyak 779 bp, dan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari CF003JP gen COII (EF379943.1) pada daerah Asia Tenggara memiliki pasangan basa sebanyak 676 bp. konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari Dinghu Mountain gen COII (KU257993.1) pada daerah Cina memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari CF003JP gen COII (EF379943.1) pada daerah Asia Tenggara, sedangkan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari MS12 gen COII (FJ870577.1) pada daerah Mississippi memiliki hubungan kekerabatan jauh dengan *C. formosanus* (KU257993.1) dari daerah Cina dan *C. formosanus* (EF379943.1) dari daerah Asia Tenggara.

**Kesimpulan:** Mississippi memiliki pasangan basa sebanyak 790 bp, rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari Dinghu Mountain gen COII (KU257993.1), Cina memiliki pasangan basa sebanyak 779 bp, dan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari CF003JP gen COII (EF379943.1), Asia Tenggara memiliki pasangan basa sebanyak 676 bp. Cina memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari CF003JP gen COII (EF379943.1), Asia Tenggara, sedangkan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari MS12 gen COII (FJ870577.1), Mississippi memiliki hubungan kekerabatan jauh dengan *C. formosanus* (KU257993.1) dari daerah Cina dan *C. formosanus* (EF379943.1) dari daerah Asia Tenggara.

**Kata Kunci:** Alignment, Analisis Kekerabatan, *Coptotermes formosanus*



## **PENDAHULUAN**

Bioinformatika merupakan ilmu yang dapat menghubungkan informasi yang meliputi biologi molekular, struktur biokimia, enzimologi, biologi sel, fisiologi dan patologi dengan menggunakan sistem komputerisasi berdasarkan data yang telah dikumpulkan. Definisi bioinformatika adalah ilmu yang dapat mengorganisir dan menganalisis data kompleks dengan ilmu biologi molekular dan biokimia modern berdasarkan pada informasi yang tersimpan di dalam sekuen nukleotida-DNA, sebagai dasar tersusunnya molekul kehidupan yaitu protein. National Center for Biotechnology Information (NCBI) merupakan organisasi yang diperkenalkan pada tahun 1988 di Serikat yang bertujuan untuk memproses data secara komputerisasi dalam bidang biomedical dan biokimia. Pada saat itu NCBI berada di dalam National Library of Medicine (NLM), yaitu badan yang menangani data base biomedical. NCBI sendiri secara spesifik bergerak dalam bidang pengembangan alat analisis untuk membantu dalam mengerti proses genetik dan molekular maupun sifat-sifat patogenik. Organisasi NCBI mempunyai tujuan pokok, yaitu meliputi 1) menciptakan mekanisme otomatis yang dapat menganalisis dan menyimpan data yang berhubungan dengan biologi molekular, genetik dan biokimia. 2) memfasilitasi penggunaan data base dan perangkat lunak yang tersedia kepada komunitas sains, seperti peneliti, pekerja dalam bidang kesehatan maupun mahasiswa. 3) mengkoordinasi komunitas sains global di seluruh dunia untuk mengumpulkan data genetik dan 4) melakukan penelitian baru yang berhubungan dengan analisis struktur dan hubungan fungsional antara molekul biologis secara komputerisasi (Rashidi et al. 2000). Beberapa kajian dalam penggunaan NCBI, yaitu analisis filogenetik dan analisis alignment.

Filogenetika menggambarkan klasifikasi secara taksonomi dari suatu organisme berdasarkan pada sejarah evolusi. Proses evolusi melibatkan proses rekombinan gen dan mutasi genetik pada spesies yang membentuk spesies yang

baru. Sejarah evolusi suatu organisme dapat dilihat berdasarkan perubahan karakter organisme. Karakter merupakan dasar yang digunakan untuk menganalisis hubungan antara spesies (Schmidt 2003).

Tujuan dari penyusunan filogenetika salah satunya adalah untuk merekonstruksi dengan tepat hubungan antara organisme dan menganalisis perbedaan yang terjadi dari satu nenek moyang kepada keturunannya. Filogenetika dapat menganalisis perubahan yang terjadi dalam evolusi organisme yang berbeda. Pohon filogenetik adalah pendekatan logis untuk menunjukkan hubungan evolusi organisme satu dengan yang lainnya dapat digambarkan melalui sebuah pohon filogenetik (Schmidt 2003). Sebelum menganalisis filogenetika suatu organisme, terlebih dahulu mengetahui sejarah filogeni suatu organisme.

Sedangkan alignment terhadap susunan asam amino juga sangat penting dilakukan mengingat adanya mutasi dari nukleotida pada daerah coding sequence, dikhawatirkan akan berpengaruh terhadap fungsi dari protein yang dibentuknya (Dale dan Park 2004).

Tujuan utama dari tahap ini adalah untuk menentukan apakah satu sikuen DNA atau protein adalah homolog dengan yang lainnya. Alignment yang melibatkan dua sikuen yang homolog disebut pairwise alignment, sedangkan yang melibatkan banyak sikuen yang homolog disebut multiple alignment. Keberhasilan analisis filogenetika sangat tergantung kepada akurasi proses alignment. Saat ini, banyak program komputer tersedia secara gratis di internet untuk membantu proses alignment, misalnya ClustalX.

Rayap bawah tanah Formosa (FST), untuk *Coptotermes formosanus* Shiraki. (Isoptera: Rhinotermitidae), adalah salah satu hama yang dianggap sebagai salah satu perusak di dunia. Hal ini diyakini bahwa hama itu tanpa disengaja diperkenalkan ke Amerika Serikat dari China selatan melalui paket kayu yang mengandung selulosa atau komoditas komersial (Kistner DH, 1985). Selama tahun 1980-an, *C. formosanus*

**Fredy Leiwakabessy, Ali Awan, Muhammad Tarmizi Kubangun, Eifan Boyke Pattiasina.**

**Alignment dan Analisis...3**

dilaporkan di daerah Alabama, Mississippi dan Florida (Woodson WD et al, 2001), sehingga spesies invasif ini kini menjadi tersebar di sebelas negara bagian Amerika Serikat. Selain itu antara genera rayap dalam Rhinotermitidae, Coptotermes mungkin dianggap sebagai genus yang memiliki nilai ekonomis penting di seluruh dunia (Lo et al. 2006). Beberapa spesies Coptotermes, termasuk rayap bawah tanah Formosan, Coptotermes formosanus Shiraki telah dikenal karena sifat destruktif mereka untuk bangunan dan mengkonstruksi ulang struktur di daerah subtropis dan tropis. Su (2002) melaporkan bahwa C. formosanus telah dihitung untuk proporsi yang cukup besar dari total kerusakan rayap di seluruh dunia. Empat populasi Coptotermes formosanus Shiraki dari Asia Tenggara (Malaysia, Singapura, Thailand, dan Indonesia) digunakan sebagai ingroup dalam analisis filogenetik. Memahami variasi genetik antara populasi FST penting karena berdampak pada kemampuan spesies untuk menanggapi suatu seleksi (Jenkins TM et al, 2002). Seleksi alam adalah berbanding terbalik dengan variasi genetik (Fisher RA, 1958) dan struktur genetik antara populasi dapat membatasi respon seleksi alam dalam populasi 0,8 dalam upaya untuk memahami dan berkorelasi latar belakang genetik dari hama dengan pengenalan rute, sampel FST dikumpulkan terutama dari China, Jepang, Hawaii dan benua Amerika Serikat, dan menjadi sasaran analisis keragaman molekuler dalam rangka membangun hubungan filogenetik antara populasi dalam asal potensial dan daerah terinfestasi berikutnya melalui pengenalan. Sitokrom oksidase subunit II (COII) gen adalah salah satu gen mitokondria paling terkenal. Karena mengandung kedua daerah yang sangat dilestarikan dan variabel, mitokondria urutan gen COII telah banyak digunakan untuk memperkirakan hubungan filogenetik pada tingkat taksonomi yang berbeda antara rayap tanah (Pruess KP et al, 2000). Investigasi genetik dan molekuler dari keragaman C. formosanus di Mississippi telah diabaikan oleh para peneliti ilmiah. Meskipun terjadinya FST pertama kali

dilaporkan pada 1984 (Haskins J, 2001) pembentukan koloni hama di Mississippi mungkin telah terjadi jauh lebih awal. Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan bagaimana penyejajaran sekuen dan konstruksi pohon filogenetik dari sekuen DNA yang terdaftar di NCBI pada spesies rayap bawah tanah Coptotermes formosanus Shiraki yang hidup pada habitat berbeda, yaitu di Mississippi, Asia Tenggara, dan Cina dengan menggunakan software Bioedit dan MEGA.

## **MATERI DAN METODE**

Alignment (Penyejajaran Sekuen) (H. Sinay, 2017)

1. Buka situs NCBI ambil sekuen gen dari gene bank
2. Copy satu per satu sekuen-sekuen tersebut
3. Paste di Microsoft Word atau di Note Pad
4. Cara Paste-nya:
  - > FJ870577.1  
.....
  - > KU257993.1  
.....
  - > EF379943.1  
.....
  - Dst.
5. Dirapikan
6. Dari Note Pad, ada 2 pilihan:
  - a. Klik save as
    - o Beri nama file
    - o Ekstensinya masih .txt (disimpan saja di Folder tertentu)
    - o Kembali ke foldernya
    - o Buka filenya
    - o Save as lagi, ganti ekstensi .txt dengan .FASTA
    - o Pilih all files, klik save
7. Atau dapat langsung di save as dengan ekstensi .FASTA (langsung pada 2 langkah terakhir). Dalam bentuk ini, maka file akan langsung tersimpan dalam bentuk BIOEDIT
8. Sampai pada tahap ini, proses Alignment dapat langsung dilakukan dengan 2 pilihan:
  - o Menggunakan software BIOEDIT
  - o Atau menggunakan software MEGA

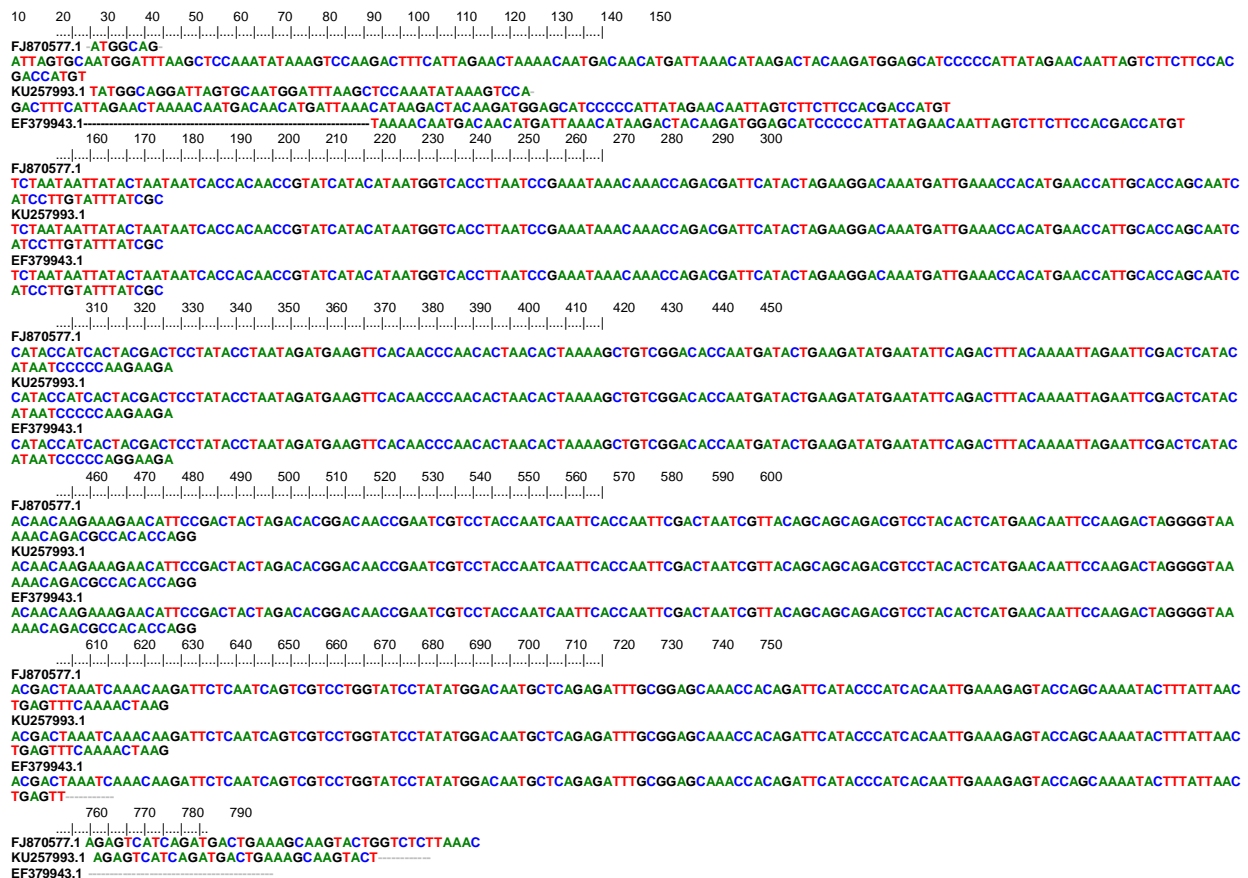
9. Untuk report, lebih baik dengan software BIOEDIT  
Konstruksi Pohon Filogenetik (H. Sinay, 2017)
1. Buka MEGA
2. Dari menu utama MEGA, klik Data à Open file session
3. Ambil file yang disimpan dalam format FASTA BIOEDIT à Open
4. Setelah di klik Open, akan muncul suatu tampilan
5. Pilih Align, akan muncul hasil/tampilan
6. Dari tampilan ini, pilih Data à Phylogenetic Analysis
7. Akan muncul suatu dialog
8. Klik Yes
9. Dari tampilan ini, klik Data Phylogenetic Analysis, pilih Protein Coding Nucleotide

- Sequence Data (untuk memilih urutan nukleotida yang mengkode protein)
10. Kembali ke Menu utama MEGA, pilih Phylogeny
11. Pilih Phylogeny, akan muncul suatu tampilan, klik Compute
12. Tunggu prosesnya selesai
13. Setelah itu akan ditampilkan hasil Konstruksi pohon Filogenetik (Tree Explorer)
14. Dari data Tree Explorer, pilih Data Image kemudian Copy To Clipboard
15. Paste ke Microsoft Word

### HASIL DAN PEMBAHASAN

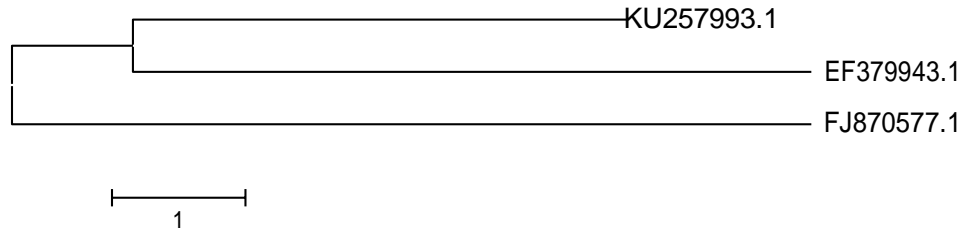
#### Hasil

Hasil penyejajaran sekuen dan konstruksi pohon filogenetik dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil penyejajaran sekuen dengan software Bioedit spesies *C. formosanus* Shiraki yang hidup di daerah Mississippi, Asia Tenggara dan Cina

Hasil penyejajaran sekuen menunjukkan bahwa rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari MS12 gen COII (FJ870577.1) pada daerah Mississippi memiliki pasangan basa sebanyak 790 bp, rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari Dinghu Mountain gen COII (KU257993.1) pada daerah Cina memiliki pasangan basa sebanyak 779 bp, dan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari CF003JP gen COII (EF379943.1) pada daerah Asia Tenggara memiliki pasangan basa sebanyak 676 bp.



**Gambar 2. Hasil konstruksi pohon filogenetik dengan software MEGA spesies *C. formosanus* Shiraki yang hidup di daerah Mississippi, Asia Tenggara dan Cina**

Hasil konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari Dinghu Mountain gen COII (KU257993.1) pada daerah Cina memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari CF003JP gen COII (EF379943.1) pada daerah Asia Tenggara, sedangkan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari MS12 gen COII (FJ870577.1) pada daerah Mississippi memiliki hubungan kekerabatan jauh dengan *C. formosanus* (KU257993.1) dari daerah Cina dan *C. formosanus* (EF379943.1) dari daerah Asia Tenggara.

### **Pembahasan**

Pada hasil alignment atau penjejeran sekuen, terdapat untaian pasangan basa yang variatif diantara tiga spesies *C. formosanus* yang diisolasi dari tempat yang berbeda, yaitu rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari MS12 gen COII (FJ870577.1) pada daerah Mississippi memiliki pasangan basa sebanyak 790 bp, rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari Dinghu Mountain gen COII (KU257993.1) pada daerah Cina memiliki pasangan basa sebanyak 779 bp, dan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari CF003JP gen COII (EF379943.1) pada daerah Asia Tenggara memiliki pasangan basa sebanyak 676 bp.

Studi sekuen biologi selalu tidak dapat dihindarkan dari penjejeran sekuen/alignment. Tujuan dari proses penjejeran adalah mencocokkan karakterkarakter yang homolog, yaitu karakter yang mempunyai nenek moyang yang sama (Kemena dan Notredame, 2009). Ketika menghomologikan sekuen, kolom dari penjejeran dapat digunakan untuk berbagai macam aplikasi seperti mengidentifikasi residu dengan struktur yang analog atau yang mempunyai fungsi yang serupa atau untuk mengkonstruksi pohon filogenetika. Akurasi dari program penjejeran sekuen yang lebih dari dua set/multiple sequence alignment telah dihasilkan oleh berbagai macam studi komperatif (Blackshields et al., 2006; Edgar dan Batzoglou 2006; Notredame, 2007).

Metode paling umum dalam melakukan multiple sequence alignment adalah pertama melakukan penjejeran kelompok sekuen yang mempunyai hubungan dekat dan kemudian secara sekuensial ditambahkan sekuen yang berhubungan namun lebih berbeda. Penjejeran yang diperoleh diakibatkan karena sebagian besar sekuen yang mirip dalam kelompok sehingga tidak merepresentasikan sejarah yang sesungguhnya dari perubahan evolusi yang telah terjadi. Sebagian besar metode analisis

filogenetika mengasumsikan bahwa masing-masing posisi sekuen protein atau asam nukleat yang berubah secara independen satu sama yang lain (kecuali evolusi sekuen RNA).

Seperti yang telah ditunjukkan sebelumnya, analisis sekuen yang sangat mirip dan mempunyai panjang yang sama adalah sangat jelas. Seringkali hasil penjejeran sekuen memperlihatkan adanya gap dalam penjejeran tersebut. Gap menunjukkan adanya insersi atau delesi dari satu atau lebih dari karakter sekuen selama evolusi. Protein yang dijejerkan semestinya mempunyai struktur tiga dimensi yang sama. Umumnya, sekuen dalam struktur core seperti protein tidak mengalami insersi atau delesi dikarenakan substitusi asam amino harus cocok dengan lingkungan paket hidrofobik dari core. Gap sangat jarang ditemukan pada multiple sequence alignment yang menunjukkan sekuen core. Sebaliknya, beberapa variasi termasuk insersi, delesi sangat mungkin ditemukan di daerah loop pada bagian luar struktur tiga dimensi, sebab pada bagian ini tidak berpengaruh banyak terhadap struktur core. Daerah loop berinteraksi dengan molekul kecil, membran dan protein lain di lingkungan (Mount, 2001).

Gap dalam penjejeran merepresentasikan perubahan mutasi dalam sekuen termasuk insersi, delesi atau penyusunan ulang materi genetik. Ekspektasi bahwa panjang gap dapat terjadi sebagai akibat adanya introduksi tunggal yang memutuskan berapa banyak perubahan individu telah terjadi dan apa perintangnya. Gap diberi perlakuan (treated) dalam beberapa program filogenetik, tetapi tidak ada clear-cut model seperti bagaimana seharusnya mereka di perlakukan. Beberapa metode mengabaikan gap yang terjadi atau hanya memfokuskan dalam penjejeran yang tidak mempunyai gap. Meskipun gap dapat berguna sebagai petanda filogenetik di beberapa situasi. Pendekatan lainnya untuk menangani gap adalah mencegah analisis situs individu dalam penjejeran sekuen, dan menggantikan dengan menggunakan

skoring kemiripan/similarity score sebagai dasar dari analisis filogenetika.

Selain itu pada hasil analisis filogenetik terdapat hubungan kekerabatan dekat antara rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari Dinghu Mountain gen COII (KU257993.1) pada daerah Cina dan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari CF003JP gen COII (EF379943.1) pada daerah Asia Tenggara ini kemungkinan perpindahan jalur kapal dan aktivitas manusia lainnya dari Cina dan Asia Tenggara (Malaysia) dekat, sehingga mengakibatkan ada hubungan kekerabatan antara *C. formosanus* dari Cina dan *C. formosanus* dari Asia Tenggara (Malaysia), dapat diindikasikan bahwa rayap *C. formosanus* berasal dari petua yang sama yang berasal dari Cina dan tersebar di Asia Tenggara (Malaysia). Sedangkan *C. formosanus* dari Mississippi memiliki hubungan kekerabatan jauh dari *C. formosanus* dari Cina dan *C. formosanus* dari Asia Tenggara (Malaysia) ini kemungkinan karena rayap dari Mississippi berasal dari Hawaii.

Konstruksi pohon filogenetika adalah hal yang terpenting dan menarik dalam studi evolusi. Terdapat beberapa metode untuk mengkonstruksi pohon filogenetika dari data molekuler (nukleotida atau asam amino) (Saitou dan Imanishi, 1989). Analisis filogenetika dari keluarga sekuen nukleotida atau asam amino adalah analisis untuk menentukan bagaimana keluarga tersebut diturunkan selama proses evolusi. Hubungan evolusi diantara sekuen digambarkan dengan menempatkan sekuen sebagai cabang luar dari sebuah pohon. Hubungan cabang pada bagian dalam pohon merefleksikan tingkat dimana sekuen yang berbeda saling berhubungan. Dua sekuen yang sangat mirip akan terletak sebagai neighboring outside dari cabang-cabang dan berhubungan dalam cabang umum (Common branch) (Mount, 2001).

Filogenetika digambarkan sebagai klasifikasi secara taksonomi dari organisme berdasarkan pada sejarah evolusi mereka, yaitu filogeni mereka dan merupakan bagian integral dari ilmu pengetahuan yang sistematis dan mempunyai tujuan untuk

menentukan filogeni dari organisme berdasarkan pada karakteristik mereka. Lebih lanjut filogenetika adalah pusat dari evolusi biologi seperti penyingkatan keseluruhan paradigma dari bagaimana organisme hidup dan berkembang di alam (Mount, 2001).

Analisis filogenetika sekuen asam amino dan protein biasanya akan menjadi wilayah yang penting dalam analisis sekuen. Selain itu, dalam filogenetika dapat menganalisis perubahan yang terjadi dalam evolusi organisme yang berbeda. Berdasarkan analisis, sekuen yang mempunyai kedekatan dapat diidentifikasi dengan menempati cabang yang bertetangga pada pohon. Ketika keluarga gen ditemukan dalam organisme atau kelompok organisme, hubungan filogenetika diantara gen dapat memprediksikan kemungkinan yang satu mempunyai fungsi yang ekuivalen. Prediksi fungsi ini dapat diuji dengan eksperimen genetik. Analisis filogenetika juga digunakan untuk mengikuti perubahan yang terjadi secara cepat yang mampu mengubah suatu spesies, seperti virus (Mcdonald dan Kreitman, 1991; Nielsen dan Yang, 1998).

Rayap memiliki kebiasaan mencari makan dan berkembang biak (Campora dan Grace 2001, Ross 2001). Sifat bawah tanah dari rhinotermitids obfuscatas studi tentang struktur sosial yang kompleks termasuk plastisitas variabel antara kasta dan kemungkinan pasangan satelit reproduksi (Varga et al. 2003), lebih rumit analisis taksonomi. Meskipun sejauh mana kerusakan yang disebabkan oleh rayap terkenal, filogeni dari genus *Coptotermes* di global yang mencakup beberapa rayap paling merusak dan mengakibatkan penurunan ekonomi. Genus ini terdapat sekitar 71 spesies, sedangkan genus *Rhinotermitidae* mencakup 15 genera (Kambhampati dan Eggleton 2000). Lebih dari sepertiga (33) dari spesies *Coptotermes* yang dijelaskan telah dilaporkan dari Cina (Gao et al. 1990, Wang dan Grace 1999).

Penelitian terbaru telah difokuskan pada filogeni berbasis morfologi untuk kebutuhan pengetahuan (Donovan et al

2000.), mikrosatelit atau analisis berbasis DNA mitokondria dari struktur kolonial populasi (Varga et al 2003.), Analisis biogeografi (Thompson et al 2000, Jenkins et al 2001, Ohkuma et al 2004), dan membedakan spesies yang berbeda berdasarkan hidrokarbon kutikula (Page et al 2002, Copren et al 2005, Haverty et al 2005). Dengan kecuali bagi sejumlah besar bekerja pada *Reticulitermes rhinotermitid* genus (Thompson et al 2000;.. Jenkins et al 2001. et al 2002. Ye et al 2004;.. Copren et al 2005.), Dan *Coptotermes Australia* (Lo et al. 2006), penelitian molekuler sedikit yang bertujuan untuk menentukan hubungan evolusi diantara rayap dari genus atau tingkat spesies. Donovan et al. (2000) menekankan kebutuhan untuk data tambahan, termasuk yang dari perilaku, nukleotida, dan sumber-sumber biologis, untuk membangun sebuah hasil filogenetik yang lebih akurat serangga yang kompleks.

Hasil yang paling diterima secara luas untuk asal *C. formosanus* disampaikan oleh Kistner (1985), dengan deskripsi dari kumbang staphylinid termitophilous, *Sinophilus xiai*. Ini adalah kumbang termitophilous pertama kali dijelaskan dari benua Cina dan merupakan termitophile pertama yang ditemukan di sarang *C. formosanus* sebagai hasilnya, *C. formosanus* diduga berasal di benua Cina.

## **SIMPULAN**

Hasil penyejajaran sekuen menunjukkan bahwa rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari MS12 gen COII (FJ870577.1) pada daerah Mississippi memiliki pasangan basa sebanyak 790 bp, rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari Dinghu Mountain gen COII (KU257993.1) pada daerah Cina memiliki pasangan basa sebanyak 779 bp, dan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari CF003JP gen COII (EF379943.1) pada daerah Asia Tenggara memiliki pasangan basa sebanyak 676 bp.

Hasil konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari Dinghu Mountain gen COII (KU257993.1) pada daerah Cina memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan rayap

**Fredy Leiwakabessy, Ali Awan, Muhammad Tarmizi Kubangun, Eifan Boyke Pattiasina.**

**Alignment dan Analisis...8**



*C. formosanus* hasil isolasi dari CF003JP gen COII (EF379943.1) pada daerah Asia Tenggara, sedangkan rayap *C. formosanus* hasil isolasi dari MS12 gen COII (FJ870577.1) pada daerah Mississippi memiliki hubungan kekerabatan jauh dengan *C. formosanus* (KU257993.1) dari daerah Cina dan *C. formosanus* (EF379943.1) dari daerah Asia Tenggara.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Blackshields, G., I.M. Wallace, M. Larkin and D.G. Higgins. 2006. Analysis and comparison of benchmarks for multiple sequence alignment. *Silico Biol.* 6: 321 – 339.
- Campora, C.E., and J.K. Grace. 2001. Tunnel orientation and search pattern sequence of the Formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology.* 94: 1193–1199.
- Copren, K.A., L.J. Nelson, E.L. Vargo, and M.I. Haverty. 2005. Phylogenetic analyses of mtDNA sequences corroborate taxonomic designations based on cuticular hydrocarbons in subterranean termites. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 35: 689–700.
- Dale JW & Park SF. 2004. *Molecular Genetics of Bacteria.* 4th.Ed. John Wiley and Sons Inc.pp: 346.
- Donovan, S.E., D.T. Jones, W.A. Sands, and P. Eggleton. 2000. Morphological phylogenetics of termites (Isoptera). *Biological Journal of the Linnaean Society.* 70: 467–513.
- Edgar, R.C. and S. Batzoglou. 2006. Multiple sequence alignment. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 6: 368 - 373.
- Fisher RA, *The Genetical Theory of Natural Selection.* Dover Publications. New York, NY (1958).
- Gao, D.-R., P.K.S. Lam, and P.T. Owen. 1990. The taxonomy, ecology and management of economically important termites in China. *Pest Control Into the 90s: Problems and Challenges* (Conference Proceedings). Ed. by P.K.S. Lam and D.K.O'Toole. pp. 23–61.
- Haskins J, Quarantine considered to halt spread of Formosan termites. *Mississippi Department of Agriculture and Commerce* 1(2): 1 and 6 (2001).
- Haverty, M.I., R.J. Woodrow, L.J. Nelson, and J.K. Grace. 2005. Identification of termite species by the hydrocarbons in their feces. *Journal of Chemical Ecology.* 31 (9): 2119–2151.
- Husseneder C and Grace JK, Evaluation of DNA fingerprinting, aggression tests and morphometry as tools for colony delineation of the Formosan subterranean termite. *J Ins Behavior* 14:173–186 (2001).
- H. Sinay. PPT Perkuliahan Ke-VII (DNA Sequencing). 2017.
- Jenkins, T.M., R.E. Dean, R. Verkerk, and B.T. Forschler. 2001. Phylogenetic analyses of two mitochondrial genes and one nuclear intron region illuminate European subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae) gene flow, taxonomy, and introduction dynamics. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 20 (2): 286–293.
- Kambhampati, S., and P. Eggleton. 2000. Taxonomy and phylogeny of termites. *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology.* Ed. By T. Abe, D. E. Bignell, and M. Higashi. pp. 1–23.
- Kemena, C. and C. Notredame. 2009. Upcoming challenges for multiple sequence alignment methods in the highthroughput era. *Bioinformatics.* 25: 2455 – 2465.
- Kistner, D.H. 1985. A new genus and species of termitophilous Aleocharinae from mainland China associated with *Coptotermes formosanus* and its zoogeographic significance (Coleoptera: Staphilinidae). *Sociobiology.* 10 (1): 93–104.
- Mcdonald, J.H and M. Kreitman. 1991. Adaptive protein evolution at the Adh

- locus in *Drosophila*. *Nature*. 351: 652 - 654.
- Mount, D.W. 2001. Phylogenetic prediction. In: *Bioinformatic, Sequence and Genome Analysis*. Cold Spring Harbor laboratory. New York Press pp. 237 - 280.
- Nielsen, R. and Z. Yang. 1998. Likelihood models for detecting positively selected amino acid sites and application to the HIV-1 envelope gene. *Genetics*. 148: 929 - 936.
- Notredame, C. 2007. Recent evolutions of multiple sequence alignment algorithms. *PLOS Comput. Biol.* 3: E123.
- Ohkuma, M., H. Yuzawa, W. Amornsak, Y. Sornnuwat, Y. Takematsu, A. Yamada, C. Vongkaluang, O. Sarnthoy, N. Kirtibutr, N. Noparatnaraporn, T. Kudo, and T. Inoue. 2004. Molecular phylogeny of Asian termites (Isoptera) of the families Termitidae and Rhinotermitidae based on mitochondrial COII sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 31: 701–710.
- Page, M., L.G. Melson, B.T. Forschler, and M.I. Haverty. 2002. Cuticular hydrocarbons suggest three lineages in *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) from North America. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 131: 205–324.
- Pruess KP, Adams BJ, Parsons TJ, Zhu X and Powers TO, Utility of the mitochondrial cytochrome oxidase II gene for resolving relationships among black flies (Diptera: Simuliidae). *Mol Phylogen Evolut* 16:286–295 (2000).
- Ross, K.G. 2001. Molecular ecology of social behaviour: analyses of breeding systems and genetic structure. *Molecular Ecology*. 10: 265–284.
- Saitou, N. and T. Imanishi. 1989. Relative efficiencies of the Fitch-Margoliash, Maximum-Parsimony, Maximum-Likelihood, Minimum Evolution and Neighbor-joining Methods of phylogenetic tree construction in obtaining the correct tree. *Mol. Biol. Evol.* 6(5): 514 - 525.
- Schmidt H. 2003. *Phylogenetic Trees From Large Datasets*. Inaugural-Dissertation, Dusseldorf University. <http://www.bi.uni-duesseldorf.de/~Hschmidt/Publ/Schmidt203.phdthesis.pdf>. (23 Januari 2011).
- Su, N.-Y. 2002. Novel technologies for subterranean termite control. *Sociobiology* 40: 95–101.
- Thompson, G.J., L.R. Miller, M. Lenz, and R.H. Crozier. 2000. Phylogenetic analysis and trait evolution in Australian lineages of drywood termites (Isoptera, Kalotermitidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 17 (3): 419–429.
- Vargo, E.L., C. Husseneder, and J.K. Grace. 2003. Colony and population genetic structure of the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus*, in Japan. *Molecular Ecology*. 12: 2599–2608.
- Woodson WD, Wiltz BA and Lax AR, Current distribution of the Formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae) in the United States. *Sociobiology* 37:661–671 (2001).
- Wang, JS, and J.K. Grace. 1999. Current status of *Coptotermes Wasmann* (Isoptera: Rhinotermitidae) in China, Japan, Australia and the American Pacific. *Sociobiology* 33: 295–305.
- Ye, W., C.-Y. Lee, R. H. Scheffrahn, J.M. Aleong, N.-Y. Su, G.W. Bennett, and M.E. Scharf. 2004. Phylogenetic relationships of nearartic *Reticulitermes* species (Isoptera: Rhinotermitidae) with particular reference to *Reticulitermes arenicola* Goellner. 2004. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30: 815–822.