



dapat diakses melalui <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo>



## Kajian Variasi Sekuens Interspesies dan Filogeni Kelelawar *Pteropus sp.* Menggunakan Gen COI

Era Monalisa<sup>a\*</sup>, Feky Recky Mantiria<sup>a\*</sup>, Hanry Jefri Lengkong<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Jurusan Biologi, FMIPA, Unsrat, Manado

### KATA KUNCI

Kelelawar *Pteropus sp.*  
Variasi Sekuens Interspesies  
Gen COI  
Analisis filogeni.

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis variasi interspesies kelelawar *Pteropus sp.* dan menjelaskan hubungan filogeni *Pteropus sp.* dengan spesies *Pteropus* lain yang terdata di GenBank berdasarkan Gen COI. Analisis sekuens menggunakan Geneious v5.6.4 dan menunjukkan adanya variasi interspesies sekuens gen COI pada ketiga sampel *Pteropus sp.* yang ditunjukkan oleh adanya perbedaan 5 pasang basa nukleotida pada urutan sekuens sampel nomor 157, 160, 421, 427 dan 652 dengan jarak genetik 0,006. Filogeni Ke-3 sampel kelelawar *Pteropus sp.* dengan spesies *Pteropus* lain dilakukan menggunakan MEGAX. Hasil filogeni menunjukkan bahwa sampel yang diteliti merupakan kelelawar dari genus *Pteropus* tetapi belum dapat dipastikan spesiesnya, karena ketika pohon filogeni dikonstruksikan membentuk satu klaster sendiri. Penjelasan dari proses tersebut adalah penyortiran garis keturunan yang tidak lengkap dan terjadinya hibridisasi, serta diduga bahwa primer yang digunakan kurang mampu dalam membedakan variasi intrespesies terhadap kelelawar genus *Pteropus*.

### KEYWORDS

*Pteropus sp.* bats  
Interspecies Sequens  
Variation  
COI Gene  
Phylogenetic analysis

### ABSTRACT

This study aimed to analyze the interspecific variations of bats from *Pteropus sp.* and describe the phylogenetic relationship of *Pteropus sp.* with other *Pteropus* species recorded in GenBank based on the COI gene. Sequence analysis by Geneious v5.6.4 showed interspecific variations of COI gene sequences in all three samples of *Pteropus sp.* which was indicated by variations in 5 nucleotide base pairs in the sequences number 157, 160, 421, 427 and 652 with 0.006 of genetic distance value. Phylogenetic of the 3 bat samples of *Pteropus sp.* with other *Pteropus* species was carried out by MEGAX. Phylogenetic analyses showed that the samples studied are bats of the genus *Pteropus*, but the exact species cannot be determined because the samples were grouped in the same cluster during phylogenetic tree construction. The most probable explanation for this observation is hybridization between two different *Pteropus* species and also it is assumed that the primers used are not capable to distinguish interspecific variations of the bats from the *Pteropus* genus.

### TERSEDIA ONLINE

01 Agustus 2019

### 1. Pendahuluan

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi karena letak Indonesia yang berada di daerah tropis sehingga memiliki beberapa tipe habitat. Salah satu dari banyaknya keanekaragaman hayati yang mencakup fauna adalah kelelawar dari kelas mamalia. Kelelawar merupakan mamalia dari ordo Chiroptera dengan

dua sub ordo yang dibedakan berdasarkan jenis makanannya. Ordo Chiroptera terbagi dalam dua sub ordo yaitu Megachiroptera (pemakan buah) dan Microchiroptera (pemakan serangga) (Corbet and Hill, 1992). Terdapat 205 jenis kelelawar di Indonesia atau sekitar 21% dari semua jenis kelelawar yang ada di seluruh dunia (Suyanto, 2001). Ada sekitar 62 spesies kelelawar di Sulawesi, baik jenis dalam ukuran yang relatif besar

\*Corresponding author: Jurusan Biologi FMIPA UNSRAT, Jl. Kampus Unsrat, Manado, Indonesia 95115; Email address: eramonalisa.14@gmail.com

sampai pada jenis yang terkecil di dunia (Lengkong, 2017). Salah satu spesies kelelawar yang memiliki ukuran tubuh lebih besar, yang hidup tersebar di beberapa habitat hutan hujan tropis di Sulawesi adalah *Pteropus* sp.

Populasi kelelawar di Sulawesi Utara semakin menurun yang disebabkan banyak faktor, seperti habitat yang tidak mendukung, perdagangan dan perburuan liar oleh masyarakat untuk dikonsumsi. Tingkat konsumsi daging kelelawar di Sulawesi tergolong tinggi (Lengkong, 2017), sehingga dahulu sering dijumpai *Pteropus* sp diperjual belikan di beberapa pasar tradisional yang ada di Sulawesi Utara. Konsumsi yang berlebihan tanpa dilakukan pengembangbiakan, mengakibatkan keberadaan *Pteropus* sp semakin hari semakin menurun (Ransaleleh, 2013). Meskipun demikian, pada kenyataannya masyarakat masih kurang sadar terhadap hal itu dan sulitnya menghilangkan kebiasaan untuk tidak mengkonsumsinya, maka *Pteropus* sp lebih rentan pada sejumlah efek genetik yang merugikan. Hal itu akan berdampak pada penurunan kemampuan dalam berevolusi dan beradaptasi pada lingkungan yang berubah.

Salah satu cara untuk mempertahankan keberadaan suatu populasi di alam yaitu dengan cara konservasi keragaman genetik. Keragaman genetik merupakan suatu variasi di dalam populasi yang terjadi akibat adanya keragaman di antara individu yang menjadi anggota populasi (Hartl dan Clark, 1989). Genetik dapat dijadikan kunci konservasi karena berperan penting dalam mempertahankan populasi dan pemulihan dari kerusakan. Keragaman genetik menjadi salah satu faktor yang dapat menentukan keberhasilan dalam konservasi populasi, sehingga konservasi keragaman genetik dapat dilakukan untuk pencegahan kepunahan *Pteropus* sp yang lebih cepat. Adanya keragaman genetik, maka dapat dilihat hubungan antara *Pteropus* sp terhadap kerabat terdekatnya dengan mengkonstruksi pohon filogeni.

Filogeni adalah studi tentang hubungan antara organisme berdasarkan kekerabatan satu sama lain dan penelusuran hubungan evolusi (Li et al., 2000). Analisis filogeni dilakukan untuk mengestimasi/menduga adanya hubungan evolusioner yang digambarkan dalam diagram yang menyerupai pohon bercabang (pohon filogeni). Pohon filogeni mampu menggambarkan hubungan antara spesies dengan moyang terakhir yang paling dekat dengan spesies yang dibandingkan sehingga dapat diketahui kekerabatan antara spesies yang satu dengan spesies yang lainnya. DNA mitokondria adalah penanda genetik yang penting untuk digunakan dalam mempelajari evolusi, kekerabatan, dan variasi genetik pada berbagai taxa hewan (Ingman et al., 2000).

Salah satu gen mitokondria untuk membantu konstruksi dari pohon filogeni adalah COI (*Cytochrome c Oxidase I*) yang dapat bertindak sebagai gen marker. Analisis DNA mitokondria telah

digunakan secara luas dalam mempelajari evolusi, struktur populasi, aliran gen, hibridisasi, biogeografi, dan filogeni suatu spesies hewan (Ingman et al., 2000). COI adalah gen kandidat sebagai DNA *barcoding* yang digunakan untuk mengetahui keanekaragaman pada hampir semua jenis hewan (Hebert et al., 2003).

---

## 2. Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari sampai April 2019. Sampel sayap *Pteropus* sp. diperoleh dari kandang penelitian di Kecamatan Wanea, Kota Manado, Provinsi Sulawesi Utara. Penelitian di Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi. Pengambilan sayap dilakukan pada 3 sampel sayap kelelawar *Pteropus* sp. yang diberi nama EMH1, EMH2, dan EMH3.

Proses ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan Genomic DNA MiniKit (Geneaid) sesuai dengan instruksi yang terlampir pada kit. Primer Gen COI yang digunakan adalah FF2D-FR1D (Ivanova et al., 2007). Gen parsial dari COI diperbanyak menggunakan teknik (PCR). Amplifikasi gen COI dilakukan di dalam 40 µl reaksi PCR menggunakan 2x KapaTaq PCR *MasterMix*. Komponen yang dicampur yaitu 20 µl 2x KapaTaq, 1,5 µl *primer forward*, 1,5 µl *primer reverse*, 2 µl *template* DNA, dan 15 µl ddH<sub>2</sub>O (air terdeionisasi) untuk satu kali reaksi (Kolondam, 2012). Pengaturan suhu untuk mesin PCR Personal (Bimetra) dimulai dengan denaturasi awal (*initial denaturation*) pada 95°C selama 2 menit. Kemudian dilanjutkan dengan 35 siklus yang terdiri dari tahap denaturasi 95°C selama 50 detik, penempelan primer pada cetakan 50°C selama 30 detik, dan ekstraksi DNA 72°C selama 50 detik. (Tindi et al., 2017).

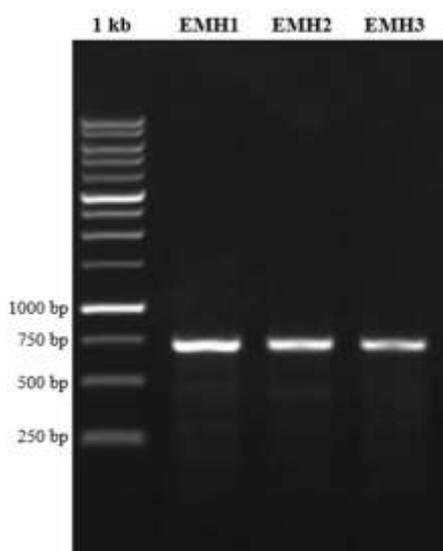
Hasil sekuensing diperoleh dari perusahaan penyedia jasa sekuensing *First BASE* (Malaysia) berupa kromatogram, dirakit dan diedit menggunakan *software computer* *Genious v5.6.4*. Utas *reverse* dilakukan proses *reverse* dan *complement*, kemudian dipadukan dengan utas *forward* menggunakan *MUSCLE (Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation)* yang terintegrasi dalam *Genious v5.6.4*. Sekuens kemudian diubah dalam bentuk FASTA (*fast alignment*) untuk melihat variasi genetik pada sampel yang diteliti menggunakan *Genious v5.6.4*. FASTA yang diperoleh dibandingkan dengan sekuens-sekuens kerabat terdekat yang diambil dari *GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov)*. Penjajaran sekuens DNA dan semua gap dilakukan menggunakan *software* *Bio Edit*. Untuk memperoleh pohon filogeni dikonstruksi dengan metode *Neighbor-joining* pada *MEGA X*.

---

## 3. Hasil dan Pembahasan

Pasangan primer FF2d dengan FR1d berhasil mengamplifikasi ketiga sampel sayap kelelawar. Sampel DNA yang telah diamplifikasi kemudian di elektroforesis *agarose* sehingga memperlihatkan

pita DNA yang terlihat jelas setelah divisualisasikan ke *UV Transiluminator*. DNA hasil amplifikasi gen COI disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Visualisasi hasil amplifikasi fragmen gen COI dari ketiga sampel *Pteropus* sp.

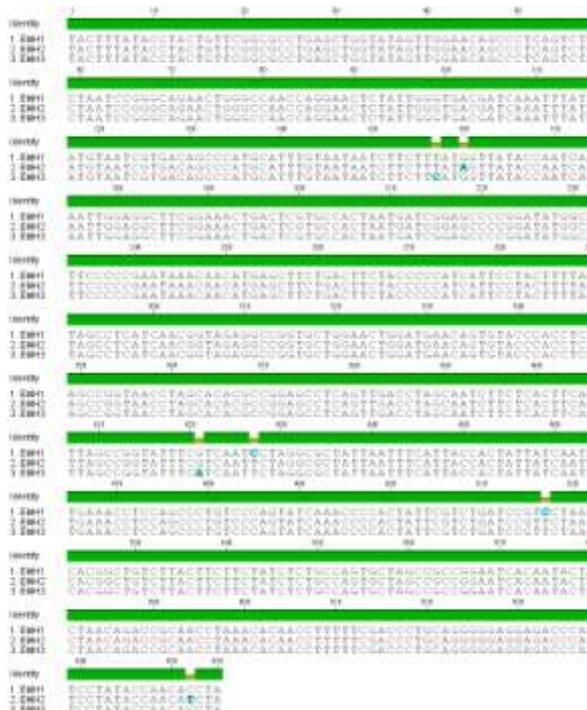
DNA *leader* 1kb dibuat sebagai pembanding sehingga dapat diketahui panjang fragmen DNA sampel yang teramplifikasi. Panjang gen COI dari ketiga sampel yang berhasil diamplifikasi berada pada ukuran mendekati pita 750 bp. Hal ini sesuai dengan perkiraan panjang pita DNA yang teramplifikasi melalui PCR yaitu sepanjang 709 bp.

Data urutan sekuens ketiga sampel disunting menggunakan Geneious v5.6.4. Proses penyuntingan sekuens fragmen DNA ini dimulai dengan penghapusan urutan DNA pada kedua bagian ujung. Dilakukan penghapusan dengan tujuan untuk mendapatkan bagian inti (*core region*), keakuratan yang sesuai dalam pengolahan data, memudahkan penjajaran dan mengurangi resiko salah pembacaan ketika pembuatan pohon filogeni (Fitri, 2017). Hal itu juga dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa banyak perbedaan DNA, sehingga dapat diketahui apakah ketiga sampel yang diteliti merupakan interspesies. Panjang rata-rata pita yang teramplifikasi pada ketiga sampel adalah 670 bp. Setelah dilakukan penghapusan, maka diperoleh daerah inti sekuens DNA sampel sepanjang 655 bp.

Pemotongan utas DNA awal dan akhir dilakukan sesuai dengan jenis primer yang digunakan (Ivanova *et al.*, 2007). Utas hasil sekuensing yang menggunakan primer *forward* dan *reverse* dapat dirakit dan diedit. Utas *reverse* dilakukan proses *reverse* dan *complement*, kemudian dipadukan dengan utas *forward* menggunakan MUSCLE (*Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation*) yang terintegrasi dalam Geneious v5.6.4.

Sekuens fragmen DNA yang telah diperoleh dari hasil penyuntingan diubah dalam bentuk FASTA (*fast alignment*). FASTA inilah yang akan digunakan untuk membandingkan ketiga sampel dengan sekuens kerabat terdekat yang ada di GenBank

([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) menggunakan metode BLAST. Untuk mengetahui perbandingannya maka FASTA yang diperoleh dari penyuntingan utas hasil sekuensing ketiga sampel dibandingkan menggunakan Geneious v5.6.4.

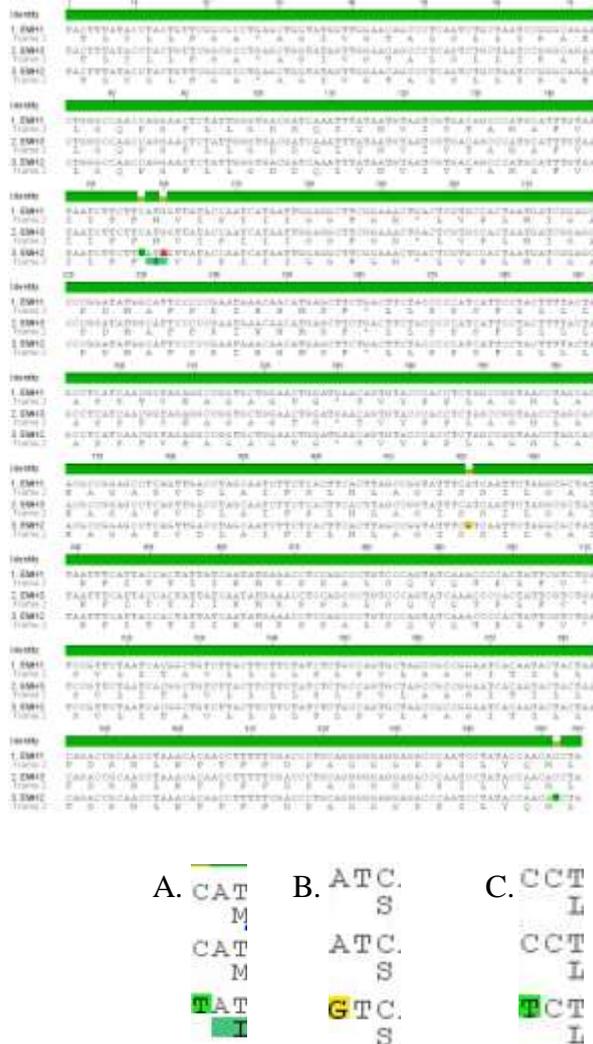


Gambar 2. Hasil penjajaran sekuens menggunakan Geneious v5.6.4

Berdasarkan Gambar 2, menunjukkan bahwa basa nukleotida cukup baik, hal itu juga di dukung oleh hasil kromatogram. Variasi basa nukleotida terdapat pada 5 titik pada gen COI berada pada urutan basa nukleotida nomor 157, 160, 421, 427 dan 652. Variasi pada basa nukleotida yang terjadi disebabkan karena adanya substitusi basa nukleotida. Perubahan yang terjadi pada basa nukleotida berupa substitusi transisi dan transversi. Transisi adalah perubahan antar purin yaitu basa A (Adenin) dan G (Guanin) atau antar pirimidin yaitu basa C (Sitosin) dan T (Timin). Sedangkan transversi adalah perubahan antara suatu basa purin dengan suatu basa pirimidin (Elyvra *et al.*, 2009). Berdasarkan *alignment* yang diperoleh bahwa semua substitusi nukleotida yang terjadi termasuk dalam substitusi transisi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kocher *et al.* (1989) yang menyatakan bahwa substitusi nukleotida pada tingkat spesies sebagian besar adalah transisi. Cracraft dan Helm-Bychowski (1991), juga menyatakan bahwa kecepatan transisi pada mtDNA vertebrata lebih tinggi daripada transversi.

Hasil penjajaran sampel dengan kerabat terdekatnya memperlihatkan banyak variasi pada basa nukleotida. Pembacaan urutan nukleotida dengan menggunakan *frame 2* menunjukkan adanya variasi asam amino yang dikode (Gambar 3). Variasi yang terjadi pada basa nukleotida disebabkan karena adanya mutasi titik atau mutasi nonsinonim. Mutasi titik atau mutasi nonsinonim

adalah mutasi yang menyebabkan terjadinya perubahan asam amino. Mutasi menjadi penyebab utama perbedaan variasi basa nukleotida pada gen COI. Variasi yang kecil dapat mempengaruhi keidentikan suatu spesies dan bahkan dapat mempengaruhi asam amino yang mengkodekan protein. (Almeida, 2014).



Gambar 3. Penjajaran asam amino ketiga sampel pada *frame 2* dengan menggunakan Geneious v5.6.4 memperlihatkan perbedaan basa nukleotida yang bervariasi yang mengakibatkan adanya variasi tingkat asam amino. (A) Mutasi Nonsinonim atau Mutasi Titik. (B) dan (C) Mutasi Sinonim.

Jarak genetik dihitung menggunakan metode *Kimura-2-parameter* yang terintegrasi di dalam MEGAX. Analisis jarak genetik merupakan analisis berdasarkan penghitungan matriks dari "jarak" antar pasangan basa antara sekuens yang mendekati jarak evolusioner (Dowell, 2005). Jarak genetik antara sampel EMH1 dengan EMH2 adalah 0,006, EMH2 dengan EMH3 adalah 0,006 dan EMH1 dengan EMH3 0. Hal itu sesuai dengan hasil BLAST bahwa EMH1 dan EMH3 menunjukkan hasil persamaan yang lebih tinggi terhadap *P. allecto*. Sedangkan EMH2 menunjukkan hasil persamaan

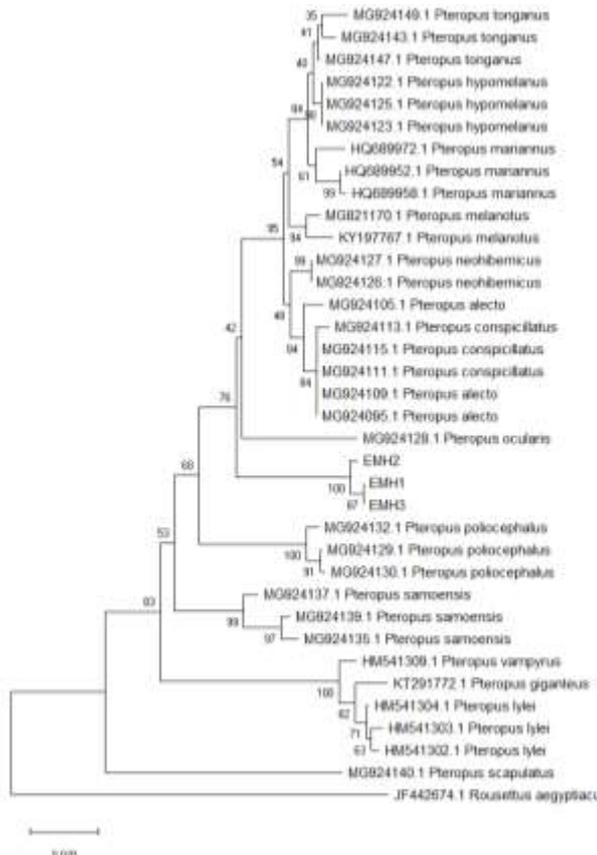
lebih tinggi terhadap *P. consipillatus*. Jarak genetik antara ketiga sampel tersebut adalah 0.006. Nilai jarak ini menunjukkan adanya variasi interspesies. Kisaran nilai jarak genetik untuk membedakan interspesies pada mamalia menurut Tobe *et al.* (2010) yaitu antara 0,015-0,025. Rata-rata jarak genetik interspesifik dari kelelawar pemakan buah di Indonesia adalah 20 persen atau sekitar 1,3-26,1% (Zein, 2015). Nilai jarak genetik EMH1, EMH2 dan EMH3 masih tergolong dalam kisaran variasi interspesies. Semakin besar nilai jarak genetik (*p-distance*) diantara suatu populasi atau individu, semakin terisolasi antara satu dengan lainnya. Jarak genetik menunjukkan kemungkinan adanya pengaruh isolasi geografis terhadap suatu populasi (Ingman, 2008). Analisis berdasarkan jarak genetik menunjukkan bahwa sampel EMH1, EMH2 dan EMH3 yang menjadi sampel dalam penelitian ini berasal dari satu genus yaitu *Pteropus* tetapi tidak bisa ditentukan spesiesnya. Perbedaan jarak genetik dengan nilai 0.006 artinya terdapat variasi interspesies pada sampel yang disebabkan karena adanya mutasi.

Variasi yang terjadi pada basa nukleotida disebabkan oleh adanya mutasi. Mutasi menjadi penyebab utama perbedaan variasi basa nukleotida pada gen COI. Variasi yang kecil dapat mempengaruhi keidentikan suatu spesies dan bahkan dapat mempengaruhi susunan asam amino yang mengkodekan protein (Cracraft, 1991).

Sekuens fragmen DNA yang telah disunting diubah ke dalam bentuk FASTA untuk dibandingkan dengan sekuens kerabat terdekatnya dari GenBank menggunakan metode BLAST. Ketiga sampel dengan tiga puluh tiga kerabat terdekatnya yang telah disejajarkan sekuensnya dibuat pohon filogeni. Pohon ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kekerabatan yang dihasilkan berdasarkan FASTA yang diperoleh. Pohon filogeni dikonstruksi menggunakan *Construct Neighbour Joining Tree* dan jarak genetik menggunakan metode *Kimura2-parameter* yang terintegrasi di dalam MEGAX. Pohon Filogeni sampel *Pteropus* EMH1, EMH2, dan EMH3 dengan spesies lain dapat dilihat pada Gambar 4.

Konstruksi pohon filogeni membentuk dua kluster besar. Kluster yang pertama terdiri dari genus *Pteropus* dan kluster yang kedua sebagai perbandingan terdiri dari genus yang berbeda yaitu *Rousettus*. EMH1, EMH2 dan EMH3 membentuk satu kluster yang termasuk dalam genus *Pteropus*. EMH1, EMH2, EMH3 merupakan *unknown specimen* karena ketiga sampel tersebut berada diantara spesies *Pteropus* lainnya tetapi masih belum dapat dipastikan spesiesnya. Beberapa kemungkinan yang menyebabkan hal itu, seperti ketidaksesuaian di antara gen atau organel yang dapat dijelaskan oleh dua proses utama, yaitu penyortiran garis keturunan yang tidak lengkap dan hibridisasi (Shaw, 2002). Diduga juga bahwa primer yang digunakan kurang mampu dalam membedakan tingkat interspesies pada kelelawar genus *Pteropus*. Hal itu ditunjukkan dari hasil sekuens sampel yang diperoleh, ketika di

masukkan ke ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) dengan metode BLAST, menampilkan *percent identity* antara spesies yang satu dengan spesies yang lain hampir sama atau bahkan ada yang sama. Oleh sebab itu jenis spesies yang digunakan dalam penelitian sulit ditentukan.



Gambar 4. Pohon Filogeni sampel Pteropus EMH1, EMH2, dan EMH3 dengan spesies lain yang dikonstruksi dengan MEGAX: Unknown specimen = Sampel EMH1, EMH2, EMH3.

Kelelawar genus *Pteropus* merupakan salah satu genus kelelawar yang terdiri dari banyak spesies. Keragaman spesies ini disebabkan karena habitat dari kelelawarnya yang terisolasi alopatri maupun parapatri. Kondisi seperti ini menyebabkan divergensi genetik dengan cepat terjadi sehingga menyebabkan penyimpangan genetik juga mudah terjadi. Pulau-pulau terisolasi juga mendukung divergensi morfologi yang cepat dipicu oleh efek adaptasi ekologi. Diferensiasi morfologis yang luar biasa terjadi diantara beberapa taksa (melibatkan banyak karakter khas yang digunakan seperti karakter kraniodental, dan pengukuran/morfometri) tidak disertai dengan perbedaan genetik yang dalam O'Brien *et al* (2009). Bukti terbaru juga menunjukkan bahwa jarak migrasi yang jauh juga menyebabkan divergensi morfologi (Almeida, 2014). Alasan inilah yang dapat menjadi salah satu penyebab *P. alecto* kemiripannya sangat dekat dengan *P. Conspicillatus*. Diduga bahwa *P. alecto* dan *P. conspicillatus* adalah spesies yang sama, tetapi

karena habitat yang berbeda menyebabkan morfologi keduanya berbeda, sehingga peneliti terdahulu mengklasifikasikan keduanya merupakan spesies yang berbeda.

Salah satu bukti bahwa adanya kelelawar yang sebenarnya satu spesies dianggap berbeda spesies karena morfologinya berbeda adalah *P. yapensis* dan *P. pelewensis*. Ketika dianalisis menggunakan CytB, hasilnya hanya terdapat 2 basa nukleotida yang berbeda atau hanya terjadi 2 substitusi (Almeida, 2014). *P. mariannus* dengan *P. pelewensis* juga dianggap sebagai spesies yang berbeda karena perbedaan morfologinya, baik dari warna bulu maupun perbedaan rata-rata bobot badan. Tetapi ketika dianalisis berdasarkan gen mitokondria tidak menemukan perbedaan genetik yang menunjukkan bahwa dua kelelawar tersebut merupakan dua spesies yang berbeda (Almeida, 2014).

Kasus yang pernah ditemukan yaitu *P. conspicillatus* yang diambil di Papua Nugini dengan *P. alecto* yang berasal dari Australia. Kedua spesies ini morfologinya sangat mudah dibedakan, yaitu dengan warna bulu dan anatomi kraniodental. Telah diamati pada beberapa spesimen dari dua spesies tersebut dan menghasilkan pola filogenetik yang sangat mirip. Peneliti terdahulu mengartikan bahwa tidak lengkapnya penyortiran garis keturunan alel antara spesies saudara, atau sebagai bukti terjadinya hibridisasi. Meskipun proses sebelumnya tidak dapat dipastikan, tetapi peneliti menyarankan bahwa hibridisasi adalah penjelasan yang paling mungkin *P. alecto* dan *P. conspicillatus* tumpang tindih secara luas di Australia timur (dan kemungkinan di selatan Papua) dan dapat bertempur bersama di area yang sama (Parsons *et al.*, 2010). Sejarah hibridisasi juga bisa menjelaskan kesamaan tinggi dalam urutan mitokondria antara spesies yang terdiferensiasi dengan baik secara morfologis, seperti kasus *P. conspicillatus* dan *P. alecto*, dan *P. seychellensis* dan *P. niger*. Banyak spesies *Pteropus* diketahui memiliki penyebaran jarak jauh yang kuat potensial (Almeida, 2014).

Alasan diatas didukung oleh kondisi sampel kelelawar pada saat diambil. Sampel yang diperoleh berasal dari kelelawar yang habitatnya ada di satu penangkaran yang relatif kecil selama beberapa tahun. Sampel yang didapat berasal dari kandang penelitian yang berada di Kecamatan Wanea, Kota Manado, Sulawesi Utara. Kelelawar tersebut diambil dari beberapa pasar tradisional yang ada di Kota Manado pada tahun 2012. Segala jenis kelelawar yang berasal dari beberapa daerah di Sulawesi dibiarkan hidup bersama-sama dan menghasilkan keturunan. Menurut survei kepada pemilik kelelawar bahwa sampel yang dijadikan sebagai bahan penelitian adalah *P. alecto* atau Kalong Hitam. Hal itu sesuai dari hasil identifikasi berdasarkan morfologi dan morfometrinya menggambarkan bahwa sampel yang diambil adalah *P. alecto*. Tetapi setelah dicocokkan di Genbank, tidak dapat

menunjukkan bahwa ke-3 sampel merupakan *P. alecto*.

*Pteropus alecto* dan *Pteropus consipillatus* memiliki morfologi yang berbeda. Perbedaan jelas sekali terlihat pada warna bulu kelelawar. Kelelawar *P. alecto* berwarna hitam pada seluruh bagian tubuh, sedangkan *P. consipillatus* berwarna hitam bercampur coklat pada bagian badan dan juga kepala. Terdapat perbedaan yang identik pada *P. consipillatus* yaitu terdapat warna coklat muda mengelilingi mata membentuk kaca mata sehingga *P. consipillatus* disebut sebagai kalong berkaca mata.

Kelelawar genus *Pteropus* dibagi dalam beberapa grup, yaitu *personatus*, *pelagicus*, *scapulatus*, *lombocensis*, *livingstonii*, *vampyrus*, *capistratus*, *vetulus*, *samoensis*, *poliocephalus*, *ornatus*, *griseus* dan *incertae*. *P. alecto* dan *P. consipillatus* termasuk dalam satu grup, yaitu *griseus group* yang mendukung bahwa kemungkinan terjadinya perkawinan silang diantara spesies-spesies yang berada pada satu grup. Sejarah hibridisasi juga bisa menjelaskan kesamaan tinggi dalam urutan mitokondria antara spesies yang terdiferensiasi dengan baik secara morfologis.

#### 4. Kesimpulan

Sekuens gen COI sampel *Pteropus* sp. EMH1, EMH2, dan EMH3 menunjukkan adanya variasi intraspecies yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan 5 pasang basa nukleotida pada urutan sekuens sampel dengan jarak genetik 0.006. Sampel yang diteliti merupakan kelelawar dari genus *Pteropus* sp. tetapi belum dapat dipastikan spesiesnya, karena ketika pohon filogeni dikonstruksikan membentuk satu klaster sendiri.

#### Daftar Pustaka

- Almeida, F. C., Giannini, N. P., Simmons, N. B., Helgen, K. M., 2014. Each Flying Fox on Its Own Branch: A Phylogenetic Tree for *Pteropus* and Related Genera (Chiroptera: Pteropodidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution Journal*. **77**: 83-95.
- Cobert, G. B., and Hill, J. E. 1992. The Mammals of The Indomalayan Region: A systematic Review. *Journal of Mammalogy*. Oxford University Press. **75(3)**:700-803.
- Cracraft, J. and K. Helm-Bychowski. 1991. Parsimony and Phylogenetic Inference Using DNA Sequences: Some Methodological Strategies. In *Phylogenetic Analysis of DNA Sequences*. M. Miyamoto and J. Cracraft (Eds.). Oxford Univ. Press, New York.
- Elyvra, R., Solihin, D. D., Affandi, R., Junior, Z., Yus, Y 2009. Keanekaragaman Genetika dan Hubungan Kekerabatan *Kryptopterus Limpok* dan *Kryptopterus Apogon* dari Sungai Kampar dan Sungai Indragiri Riau Berdasarkan Gen Sitokrom B1. *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan Indonesia*. **16(1)**:55-61.
- Hasibuan, F. E., Feky R. M., Rooije, R. R. 2017. Kajian Variasi Sekuens Intraspecies dan Filogenetik Monyet Hitam Sulawesi (*Macaca nigra*) dengan Menggunakan Gen COI. *Jurnal Ilmiah Sains*, **17(1)**.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.I. and de Waard, J.R. 2003. Barcoding Animal Life: Cytochrome C Oxidase Sub Unit 1 Divergences Among Series B. *Biological Sciences*, **270 (1)**:96-99.
- Ingman, M., Kaessmann, H., Paabo, S., Gyllensten U. 2000. Mitochondrial Genome Variation and The Origin of Modern Humans. *Department of Genetics and Pathology. University of Uppsala. Sweden*. 408:708-13.
- Ivanova, N. V., Zemlak, T. S., Hanner, R. H., Hebert, P. D. N. 2007 Barcoding Universal Primer Cocktails for Fish DNA Barcoding. *Journal compilation © 2007 Blackwell Publishing Ltd*. **7**:544-548.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K. Meyer, A., Edwards, S. V., Paabo, S., Villablanca, F. X. and Wilson, A. C. 1989. Dynamics of Mitochondrial DNA Evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceeding Natural Academic Science*. **86**: 6196-6200.
- Kolondam, B.J. 2012. Barcode DNA rbcL dan matK *Aglaonema* (*Aglaonema* sp.). *Anthurium Gelombang Cinta (Anthurium plowmanii)* dan *Anggrek Payus Limondok (Phaius tancarvillae)* [Tesis]. Program Pascasarjana UNSRAT Manado.
- Lengkong, H. J. 2017. Diversitas dan Strategi Konservasi Kelelawar di Beberapa Zona Cagar Alam Gunung Duasudara Sulawesi Utara. [Disertasi] Universitas Brawijaya.
- Li, S., Pearl, D. K and Doss, H. 2000. Phylogenetic Tree Construction using Markov Chain Monte Carlo. Fred Hutchinson Cancer Research Center Washington. *Journal of the American Statistical Assosiation*. **95**:450-493.
- O'Brien, J., Mariani, C., Olson, L., Russell, A.L., Say, L., Yoder, A.D., Hayden, T.J., 2009. Multiple Colonisations of The Western Indian Ocean by *Pteropus* Fruit Bats (Megachiroptera: Pteropodidae): The Furthest Islands were Colonised First. *Mol. Phylogenet*. Vol. **51**:294-303.
- Parsons, J.G., Van Der Wal, J., Robson, S.K.A., Shilton, L.A., 2010. The Implications of Sympatry in The Spectacled and Grey Headed Flying-fox, *Pteropus conspicillatus* and *P. poliocephalus* (Chiroptera: Pteropodidae). *Acta Chiropt*. Vol. **12**:301-309.
- Ransaleleh, A. T. 2013. Identifikasi Morfometri Karakteristik dan Ekstraksi Komponen Bioaktif Daging Kelelawar di Sulawesi sebagai Bahan Pangan. [Disertasi]. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Shaw, K.L., 2002. Conflict Between Nuclear and Mitochondrial DNA Phylogenies of a Recent Species Radiation: What mtDNA Reveals and Conceals About Modes of Speciation in Hawaiian Crickets. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99(25)**:16122-16127.

- 
- Suyanto A. 2001. *Kelelawar di Indonesia*. Seri Panduan Lapangan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI. Bogor.
- Tindi, M. Mamangkey, N. G. F., Wullur, S. 2017. DNA Barcode dan Analisis Filogenetik Molekuler Beberapa Jenis Bivalvia Asal Perairan Sulawesi Utara Berdasarkan Gen COI. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. UNSRAT. **1(2)**
- Tobe, S.S., A.C, Kitchener dan A.M.T, Linacre. 2010. Reconstruction Mammalian Phylogenies: A Detailed Comparison of the Cythochrome *b* and Cythochrome Oxidase Subunit I Mitochondrial Genes. *PLOS One Journals*.
- Zein, M. S. A. dan Fitriana, Y. S. 2015. Barcoding DNA pada Komunitas Kelelawar Pemakan Buah di Indonesia. 2015. *Jurnal Biologi Indonesia* **11(1)**: 51-62.