



## Analisis Hubungan Kekerbatan Genus *Cyrtodactylus* berdasarkan gen ND2 secara *in silico* di Jawa Timur

Sandra Rafika Devi<sup>1</sup>, Alamsyah Elang Nusa Herlambang<sup>2</sup>, Berry Fakhry Hanifa<sup>1</sup>,  
Bayyinatul Muchtaromah<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Indonesia

<sup>2</sup> Museum Zoologicum Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, LIPI Cibinong

\*e-mail korespondensi: [sandrarafika23@gmail.com](mailto:sandrarafika23@gmail.com)

**Abstract.** *Cyrtodactylus* is a fauna group from the Reptile Class, Family Gekkonidae, which plays an important role in maintaining the balance of the ecosystem, food chain, and environmental bioindicators. The development of the genus *Cyrtodactylus* has been relatively fast in the last two decades with the discovery of more than 130 species. East Java is a province included in the Sunda Shelf. The history of the development of biogeography records that East Java in the Paleozoic and Middle Miocene Periods was a separate part of West Java and Central Java. Geographical isolation caused by natural or man-made factors can limit the distribution of a species and lead to the formation of morphological characters in each population. This study aims to explain the analysis of the kinship of the genus *Cyrtodactylus* in East Java based on the ND2 gene. This type of research is descriptive statistics. The subjects in the form of taxon sequence data both ingroup and outgroup derived from the mitochondrial genome (mtDNA), namely NADH Dehydrogenase Subunit 2 (ND2) and its outgroup. The methods used in the *in silico* research are Maximum Likelihood, Neighbor Joining and Bayesian Inference. Data analysis *in silico* by identifying the bootstrap value of each method and identifying tree species resulting from phylogenetic analysis. The phylogenetic tree formed shows that the entire genus *Cyrtodactylus* from East Java is monophyletic, indicated by a tree topology located in the same common ancestor and lineages. Differences in ND2 gene sequences are influenced by several internal and external factors. It is hoped that in the future this research can be used as the basis for systematic research, morphological variations and biogeography.

**Keywords:** *Cyrtodactylus*, ND2, East Java

**Abstrak.** *Cyrtodactylus* salah satu kelompok fauna dari Kelas Reptil, Famili Gekkonidae yang berperan penting dalam menjaga keseimbangan ekosistem, rantai makanan, dan bioindikator lingkungan. Perkembangan genus *Cyrtodactylus* relatif cepat dalam dua dekade terakhir dengan ditemukannya lebih dari 130 spesies. Jawa Timur merupakan provinsi yang termasuk dalam wilayah Paparan Sunda. Sejarah perkembangan biogeografi mencatat bahwa Jawa Timur pada Masa Paleozoik dan Middle Miocene merupakan suatu bagian yang terpisah dengan Jawa Barat dan Jawa Tengah. Isolasi geografis yang terjadi



karena faktor alam maupun buatan manusia dapat menjadi batas distribusi suatu spesies dan mengarah pada pembentukan karakter morfologis di setiap populasi. Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan analisis hubungan kekerabatan genus *Cyrtodactylus* di Jawa Timur berdasarkan gen ND2. Jenis penelitian berupa deskriptif statistik. dengan objek berupa data sekuens taksa baik ingroup maupun outgroup yang berasal dari genom mitokondria (mtDNA) yakni NADH Dehidrogenase Subunit 2 (ND2) beserta outgroup-nya. Metode yang digunakan dalam penelitian *in silico* adalah *Maximum Likelihood*, *Neighbour Joining* dan *Bayesian Inference*. Analisis data *in silico* dengan mengidentifikasi nilai *bootstrap* masing-masing metode dan identifikasi jenis pohon yang dihasilkan dari analisis filogenetik. Pohon filogenetik yang terbentuk menunjukkan bahwa keseluruhan Genus *Cyrtodactylus* dari Jawa Timur monofiletik ditunjukkan dengan topologi pohon yang terletak pada *common ancestor* dan *lineages* yang sam. Perbedaan sekuen gen ND2 dipengaruhi oleh beberapa faktor internal dan eksternal. Harapannya penelitian ini kedepannya dapat dijadikan dasar penelitian sistematika, variasi morfologi dan biogeografi.

**Kata Kunci** : *Cyrtodactylus*, ND2, Jawa Timur

## PENDAHULUAN

Reptil merupakan salah satu bagian dari keanekaragaman satwa yang dimiliki oleh Indonesia. Tercatat lebih dari 723 spesies reptil (8% jumlah spesies di dunia) baik umum maupun endemik yang terdistribusi di Indonesia [1]. Reptil memiliki habitat yang banyak dijumpai di hutan hujan tropis maupun berdekatan dengan wilayah antropogenik. Peran reptil salah satunya adalah sebagai predator dalam rantai makanan pada suatu ekosistem [2], [3]. Salah satu kelompok reptil yang berdiversifikasi dan menarik untuk dipelajari adalah genus *Cyrtodactylus*.

*Cyrtodactylus* merupakan salah satu kelompok fauna dari Kelas Reptil, Famili Gekkonidae [4]. *Cyrtodactylus* merupakan genus yang memiliki banyak spesies. Perkembangan yang relatif cepat pada genus *Cyrtodactylus* dapat dilihat melalui ditemukannya lebih dari 130 spesies. Beberapa spesies dibedakan berdasarkan karakter kunci berupa variasi morfologi di setiap populasi di suatu wilayah [5], [6].

Provinsi Jawa Timur termasuk dalam wilayah Paparan Sunda. Sejarah perkembangan biogeografi mencatat bahwa Jawa Timur pada masa paleozen dan pertengahan meiozen merupakan suatu bagian yang terpisah dengan Jawa Barat [7], [8]. Pembentukan karakter morfologis pada suatu populasi dipengaruhi oleh isolasi geografis yang terjadi karena faktor alam maupun buatan manusia sehingga menjadi batas distribusi spesies [4]. Ukuran populasi dapat mempengaruhi variasi morfologis, karena tingginya keragaman karakter pada populasi yang lebih besar [9].

Sekuens protein atau DNA menjadi komponen penting dalam analisis filogenetik. Melalui analisis filogenetik dapat diketahui evolusi dan perubahan yang terjadi pada beberapa organisme yang berbeda. Identifikasi pada sekuens yang berkerabat dekat divisualisasikan dengan cabang pohon yang berdekatan. Hubungan kekerabatan antar gen juga dapat dipergunakan dalam mengetahui probabilitas fungsi yang ekuivalen. Pengujian fungsi dilakukan dengan eksperimen pada tingkat genetik [10]. Perubahan basa nuklotida yang diakibatkan oleh proses evolusi dapat dianalisis dengan menggunakan teknik analisis DNA *barcoding*. Sekuen DNA pada sejumlah taksa menjadi dasar rekonstruksi filogenetik. Daerah genom yang konservatif menginterpretasikan sejarah evolusi makhluk hidup [11].

Gen NADH Dehidrogenase Subunit 2 (ND2) digunakan dalam analisis ini karena kemampuannya dalam menghasilkan kelompok enzim mitokondria. NADH dehidrogenase subunit 2 (ND2) merupakan salah satu gen penyandi protein yang terdiri atas kodon-kodon dan menghasilkan asam amino baik sinonim (3 kodon berbeda tapi asam amino sama) maupun non-sinonim (3 kodon berbeda dan asam amino berbeda) [12]. ND2 biasa digunakan sebagai salah satu penanda molekuler identifikasi spesies dan hubungan kekerabatannya. Gen ini dipilih berdasarkan pada kemampuan sekuens yang efektif dalam memperkirakan filogeni suatu organisme [13]. ND2 pada beberapa penelitian sebelumnya juga digunakan dalam menentukan tingkat keragaman genetik pada suatu individu, populasi dan spesies hewan [14]. Pemisalan geologis menyebabkan perubahan habitat dan terjadilah perubahan urutan basa nukleotida pada sekuens ND2. Rekonstruksi suatu taksa menggunakan gen ND2 dapat menginterpretasikan variasi, divergensi dan filogenetik organisme yang berkaitan dengan jejak historis geologi [15]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kekerabatan genus *Cyrtodactylus* berdasarkan gen ND2 di Jawa Timur

## METODE

Penelitian ini termasuk kategori penelitian deskriptif statistik untuk hubungan kekerabatan dengan objek berupa data sekuens taksa baik *ingroup* maupun *outgroup* yang berasal dari genom mitokondria (mtDNA) yakni NADH Dehidrogenase Subunit 2 (ND2) beserta *outgroup*-nya. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Maret 2021 bertempat di Laboratorium Ekologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yakni, Laptop ASUS X441U dengan RAM 4 GB, dan aplikasi yang terdiri dari MEGA X (*Molecular Evolutionary Genetic Analyses*), Kakusan4-4.0.2011.05.28, Mr. Bayes 3.2.7 win-64, FigTree 1.4.3. . Bahan yang digunakan dalam analisis filogenetik terdiri dari sekuens *ingroup* dan *outgroup*.

Seleksi data urutan beberapa sekuens *Cyrtodactylus* spp. dari database GenBank NCBI (*National Center Biotechnology Information*) bertujuan untuk memperoleh dataset spesifik. Untuk mengkonfirmasi topologi pohon filogenetik *Cyrtodactylus* spp. dilakukan pencarian sekuens *outgroup* yang masih berkerabat dekat. *Outgroup* adalah salah satu prosedur yang digunakan untuk memvalidasi urutan aslinya [16]. Urutan *outgroup* yang dipilih harus cukup dekat dengan urutan *ingroup* yang dianalisis dan masih memiliki perbedaan yang signifikan. Pencarian urutan DNA yang digunakan adalah gen ND2 Mitokondria (mtDNA). Sampel yang diperoleh disimpan dengan format FASTA.

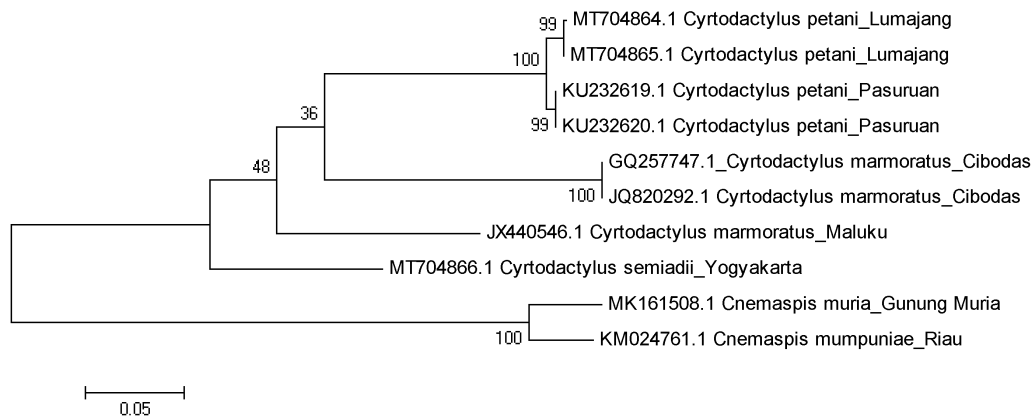
Analisis data menggunakan metode Neighbor Joining, Maximum Likelihood dan Bayesian Inference. Metode *maximum likelihood* merekonstruksi pohon filogeni berdasarkan estimasi parameter model substitusi, panjang cabang dan topologi pohon [17]. Pohon filogenetik dibentuk berdasarkan probabilitas topologi pohon dan mempertimbangkan sekuens asam amino atau nukleotida pada suatu kesejajaran serta memanfaatkan variasi mutase dan model substitusi nukleotida sehingga mencerminkan proses evolusi yang sebenarnya [18]. Sedangkan metode *neighbor joining* merupakan metode filogenetik berbasis jarak (*distance method*) yang umumnya menghitung jarak nodus internal pohon dari *dissimilarity map* yang memiliki kecepatan evolusi yang berbeda-beda [19].

## HASIL DAN PEMBAHASAN

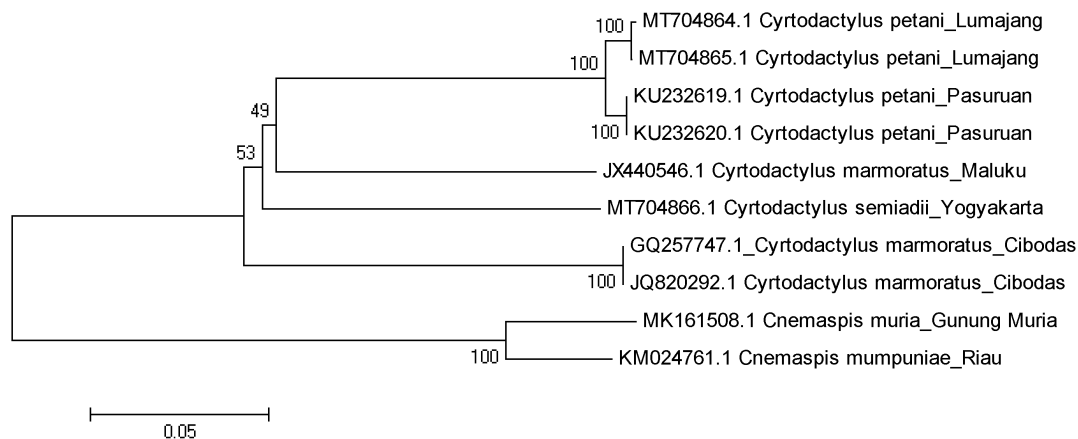
Pencarian sekuens DNA yang digunakan adalah gen Mitokondria (mtDNA) ND2 dengan panjang 972 bp. Berikut sekuens yang didapatkan dari Genbank (Tabel.1). Nilai di setiap *branch point*/ nodus merupakan hasil dari nilai dukungan *bootstrap* dalam mendukung kredibilitas topologi. Nilai dukungan *bootstrap* dari analisis filogenetik *Maximum Likelihood* dinotasikan dengan MLBP (*Maximum Likelihood Bootstrap Point*), Neighbor Joining dinotasikan dengan NJBP (*Maximum Parsimony Bootstrap Point*), dan *Bayesian Inference* dinotasikan dengan BPP (*Bayesian Posterior Probability*).

**Tabel 1. Sampel Sekuens Gen ND2 beberapa *Cyrtodactylus* spp. dari NCBI**

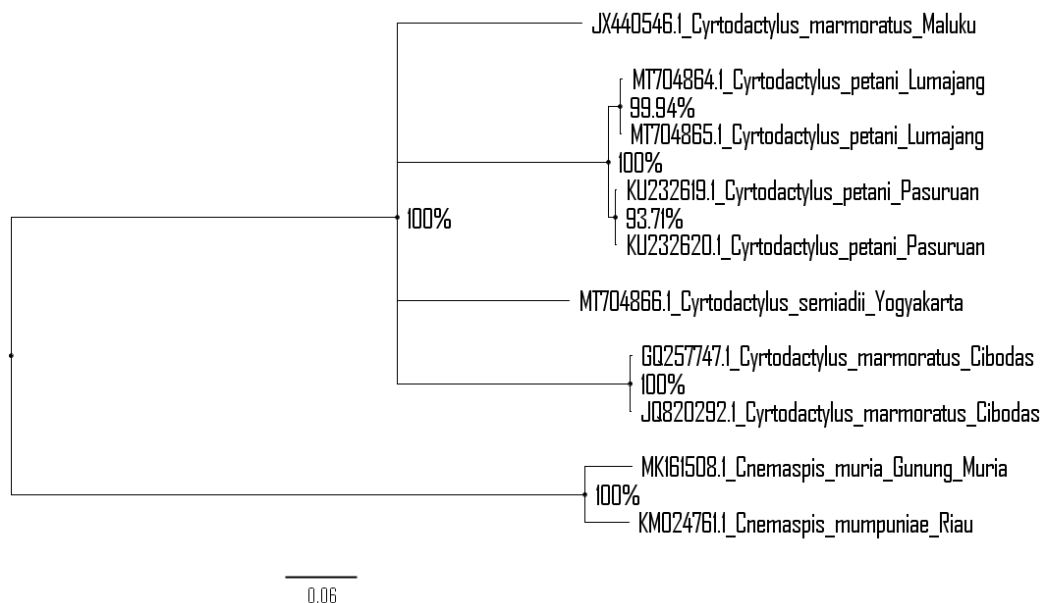
No	Nama Spesies	Kode NCBI	Lokasi
1	<i>Cyrtodactylus marmoratus</i>	GQ257747.1	Cibodas
2	<i>Cyrtodactylus marmoratus</i>	JQ820292.1	Cibodas
3	<i>Cyrtodactylus marmoratus</i>	JX440546.1	Maluku
4	<i>Cyrtodactylus petani</i>	MT704864.1	Lumajang
5	<i>Cyrtodactylus petani</i>	MT704865.1	Lumajang
6	<i>Cyrtodactylus petani</i>	KU232619.1	Pasuruan
7	<i>Cyrtodactylus petani</i>	KU232620.1	Pasuruan
8	<i>Cyrtodactylus semiadii</i>	MT704866.1	Yogyakarta
9	<i>Cnemaspis muria</i>	MK161508.1	Gunung Muria
10	<i>Cnemaspis mumpuniaie</i>	KM024761.1	Riau



**Gambar 1. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan analisis ML**



**Gambar 2.** Hasil rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan analisis NJ



**Gambar 3.** Hasil rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan analisis BI

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. GQ257747.1_Cyrtodactylus marmoratus_Cibodas										
2. JQ820292.1_Cyrtodactylus marmoratus_Cibodas	0.00									
3. JX440546.1_Cyrtodactylus marmoratus_Maluku	0.20	0.20								
4. MT704864.1_Cyrtodactylus petani_Lumajang	0.21	0.21	0.19							
5. MT704865.1_Cyrtodactylus petani_Lumajang	0.21	0.21	0.19	0.00						
6. KU232619.1_Cyrtodactylus petani_Pasuruan	0.21	0.21	0.19	0.01	0.01					
7. KU232620.1_Cyrtodactylus petani_Pasuruan	0.21	0.21	0.19	0.01	0.01	0.00				
8. MT704866.1_Cyrtodactylus semiadii_Yogyakarta	0.21	0.21	0.19	0.20	0.20	0.20	0.20			
9. MK161508.1_Cnemaspis muria_Gunung Muria	0.35	0.35	0.34	0.35	0.35	0.35	0.35	0.34		
10. KM024761.1_Cnemaspis mumpuniae_Riau	0.34	0.34	0.33	0.34	0.34	0.34	0.34	0.33	0.07	

**Gambar 4.** Jarak Genetik antar gen ND2 dari Genus *Cyrtodactylus* spp.

Hasil dari ketiga metode rekonstruksi filogram Genus *Cyrtodactylus* menunjukkan bahwa spesies *Cyrtodactylus* dari Jawa Timur monofiletik. Namun



sekuen *Cyrtodactylus marmoratus* yang berasal dari Maluku memisah dengan *Cyrtodactylus marmoratus* yang berasal dari Cibodas. Pemisahan klad ini dibuktikan dengan adanya jarak genetik diantara keduanya yang cukup besar yakni 0.02.

Perbedaan basa nukleotida gen ND2 yang mempengaruhi hubungan kekerabatan *Cyrtodactylus* spp. dapat terjadi karena beberapa faktor baik faktor internal maupun faktor eksternal. Seperti adanya seleksi alam yang mempengaruhi adanya adaptasi terhadap lingkungan, faktor geografis, migrasi, perkawinan tak acak, hanyutan genetik, mutasi gen, serta rekombinasi dan seleksi [20]. Faktor-faktor tersebut yang mempengaruhi terjadinya evolusi molekular pada spesies tertentu yang dapat diketahui tanpa harus terekspresi secara langsung pada morfologinya, karena memerlukan waktu yang cukup lama untuk mengetahui ekspresi gen dari hasil mutasi yang dapat diamati pada morfologi individu tertentu [21]. Hal tersebut merupakan salah satu keunggulan dari penelitian *in silico*. Kegagalan proses bifurkasi dari dataset sekuen yang dianalisis bisa diakibatkan karena kurangnya variasi genetik atau *character state* yang mampu merepresentasikan divergensi taksa pada Genus *Cyrtodactylus* yang diteliti. Namun tetap masih diperlukan penelitian lebih lanjut dalam bidang sistematika, biogeografi dan ekologi [22].

### **Hubungan Kekerabatan *Cyrtodactylus* spp. pada analisis *Maximum Likelihood***

Hasil analisis filogenetik *Maximum Likelihood* (ML) (Gambar 1) menunjukkan bahwa sekelompok taksa dari Genus *Cyrtodactylus* merupakan kelompok monofiletik, dibuktikan dengan nilai dukungan *bootstrap* yang valid (MLBP : 100), memisahkan seluruh kelompok taksa dari Genus *Cyrtodactylus* dengan outgrup (*Cnemaspis muria*, *Cnemaspis mumpuniae*). Hasil filogram dari analisis ML mampu menghasilkan percabangan yang memisahkan percabangan yang memisahkan taksa *Cyrtodactylus petani* (Pasuruan), dan *Cyrtodactylus marmoratus* (Cibodas, Maluku) dan *Cyrtodactylus semiadii* (Yogyakarta). Hal ini membuktikan dataset sekuen yang digunakan tergolong mampu menggambarkan divergensi taksa dalam pemisahan pada tingkat genus.

Spesies *Cyrtodactylus petani* merupakan kelompok monofiletik, dimana keseluruhan spesies *Cyrtodactylus petani* tergolong ke dalam satu klad yang alami (*natural group*). *Cyrtodactylus marmoratus* dari Riau merupakan *sister species* dari *Cyrtodactylus marmoratus* Cibodas dengan nilai dukungan *bootstrap* (MLBP: 48). Walaupun tergolong dalam keturunan yang sama, pengelompokan *Cyrtodactylus marmoratus* menunjukkan percabangan yang polytomy. Adanya polytomy akibat ketidakmampuan dalam membedakan kelompok yang alami (*natural group*) bisa dikarenakan oleh kurangnya *character state* pada alignment [23], sehingga diperlukan referensi dataset sekuen DNA yang lebih komprehensif lagi untuk dianalisis.

*Maximum likelihood* merupakan metode analisis yang mengasumsikan bahwa setaip percabangan memiliki basa nukleotida yang berevolusi dengan laju yang sebanding/sama. Estimasi waktu yang dibutuhkan untuk mengevaluasi filogram dengan metode *maximum likelihood* memerlukan waktu yang relatif lama [24], [25]. Kelebihan program ini adalah bisa menggunakan model substitusi yang kompleks mendekati realitas biologi serta kuat dalam mengestimasi parameter dan menguji hipotesa. Kekurangannya adalah proses komputasi berat, topologi

pohon bukan merupakan parameter sehingga melakukan estimasi, proporsi dari bootstrap value sulit untuk diinterpretasikan sulit [10]

### **Hubungan Kekerbatan *Cyrtodactylus* spp. pada analisis Neighbor Joining**

Hasil analisis filogenetik Neighbor Joining (NJ) (Gambar 3) menunjukkan bahwa semua Genus *Cyrtodactylus* merupakan kelompok monofiletik dibuktikan dengan nilai bootstrap yang valid sebesar (NJBP : 100) memisahkan seluruh kelompok taksa dari Genus *Cyrtodactylus* dengan outgrup (*Cnemaspis mumpuniae*, *Cnemaspis muria*).

Spesies *Cyrtodactylus* merupakan kelompok monofiletik, yaitu jika *common ancestor*/nenek moyang tunggal, menghasilkan semua taksa yang diturunkan/*descendant* dalam satu kelompok taksa sama, tidak pada kelompok taksa maupun garis keturunan yang lain. *Cyrtodactylus marmoratus* dari Maluku merupakan *sister species* dari *Cyrtodactylus petani* Pasuruan dan Lumajang dengan nilai dukungan (NJBP:49). *Cyrtodactylus petani* tergolong kelompok monofiletik, dimana sekelompok taksa ini memiliki *common ancestor* dan *lineages* yang sama.

*Neighbor joining* adalah salah satu metode analisis filogenetik yang mengasumsikan bahwa terdapat perbedaan laju evolusi di setiap percabangan. Analisis *neighbor joining* menggunakan dasar dari *operational taxonomy unit* (OTU) dan jarak evolusioner (*p-distance*) [26]. Kelebihan program ini adalah waktu komputasi yang cepat, dapat diplikasikan terhadap berbagai macam data. Ketika jarak genetic diketahui, model untuk kalkulasi dapat dipilih menyesuaikan dengan data. Kekurangan dari program ini adalah kalkulasi jarak dapat menjadi masalah apabila sekuen divergen dan memiliki banyak gap pada alignment yang sulit [10].

### **Hubungan Kekerbatan *Cyrtodactylus* spp. pada analisis Bayesian Inference**

Hasil analisis filogenetik Bayesian (Gambar 4) menunjukkan bahwa sekelompok taksa dari Genus *Cyrtodactylus* merupakan kelompok monofiletik, dibuktikan dengan nilai dukungan *bootstrap* yang valid (BPP : 100), memisahkan seluruh kelompok taksa dari Genus *Cyrtodactylus* dengan outgrup (*Cnemaspis mumpuniae*, *Cnemaspis muria*). Hasil filogram dari analisis BI mampu menghasilkan percabangan yang memisahkan taksa *Cyrtodactylus petani* (Pasuruan, Lumajang), dan *Cyrtodactylus marmoratus* (Jawa Cibodas). Hal ini membuktikan dataset sekuen yang digunakan tergolong mampu menggambarkan divergensi taksa dalam pemisahan pada tingkat spesies (*Cyrtodactylus petani*, *Cyrtodactylus marmoratus*, *Cyrtodactylus semiadii*).

Spesies *Cyrtodactylus marmoratus* merupakan kelompok monofiletik, dimana tidak keseluruhan spesies *Cyrtodactylus marmoratus* tergolong ke dalam satu klad yang alami (*natural group*). *Cyrtodactylus marmoratus* dari Maluku memisah dengan *Cyrtodactylus marmoratus* dari Cibodas. *Cyrtodactylus petani* tergolong kelompok monofiletik, dimana sekelompok taksa ini memiliki *common ancestor* dan *lineages* yang sama.

*Bayesian Inference* merupakan metode analisis filogenetik terbaru yang dalam menentukan kesimpulan statistiknya menggunakan beberapa parameter probabilitas prior dan probabilitas posterior. Metode analisis ini menggunakan kombinasi algoritma numerical *Monte Carlo Markov Chain* (MCMC). Kelebihan program ini adalah bisa menggunakan model substitusi yang realistic.



Kekurangannya adalah komputasi berat, seleksi model meliputi komputasi yang agak sulit [10].

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan Genus *Cyrtodactylus* menggunakan gen ND2 secara *in silico* dapat ditunjukkan pada jarak genetic dan pohon filogeni yang dihasilkan melalui *metode Maximum Likelihood, Neighbor Joining* dan *Bayesian Inference*. Genus *Cyrtodactylus* yakni *Cyrtodactylus petani* dari Pasuruan monofiletik terhadap *Cyrtodactylus petani* dari Lumajang. Sampel *Cyrtodactylus marmoratus* dari Maluku membentuk klad yang terpisah dari *Cyrtodactylus marmoratus* dari Cibodas. Oleh karena itu diperlukan kejelian lebih mendalam mengenai sistematika, variasi morfologi dan biogeografinya.

## Daftar Rujukan

- [1] Bappenas. "Indonesian Biodiversity Strategy and Action Plan 2015 – 2020". 2016. (Online).[https://www.bappenas.go.id/files/publikasi\\_utama/Dokumen\\_IBSAP\\_2015-2020.pdf](https://www.bappenas.go.id/files/publikasi_utama/Dokumen_IBSAP_2015-2020.pdf). Diakses tanggal 15 Januari 2021.
- [2] Ardiantoro, A. "Filogeografi Genus Cicak Pohon (Squamata; Gekkonidae; Hemidactylus) Di Jawa Dan Sumatra Berdasarkan Analisis Morfologi Dan Molekuler Gen Natrium Dehydrogenase 4 (ND4)". *Skripsi*. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang. 2017
- [3] Hidayah, A. "Keanekaragaman Herepetofauna di kawasan Wisata Alam Coban Putri Desa Tlekung Kecamatan Junrejo Batu Jawa Timur" (*Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim*). 2018.
- [4] Grismer, L. L., Wood Jr, P. L., Thura, M. K., Quah, E. S., Murdoch, M. L., Grismer, M. S., & Kyaw, H. "Three more new species of *Cyrtodactylus* (Squamata: Gekkonidae) from the Salween Basin of eastern Myanmar underscore the urgent need for the conservation of karst habitats". *Journal of Natural History*, 52(19-20), 1243-1294. 2018.
- [5] Iskandar, D.T., A. Rachmansah dan Umilaela. "A new bent-toed gecko of the genus *Cyrtodactylus* Gray, 1827 (Reptilia, Gekkonidae) 54 from Mount Tompotika, eastern peninsula of Sulawesi, Indonesia". *Zootaxa*. 2838:65-78. 2011
- [6] Devi, S. R., Hasyim, M. A., & Mulyono, R. M. "Inventarisasi Avifauna Diurnal di Coban Kodok Desa Sukomulyo Kecamatan Pujon Kabupaten Malang". *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 8(3), 163-170. 2020
- [7] Van Bemmelen, R. W. "General Geology of Indonesia and adjacent archipelagoes". *The geology of Indonesia*, 1949.
- [8] Devi, S. R. "Analisis variasi morfologi Cicak Jari Lengkung (Genus *cyrtodactylus*) di Jawa Timur" (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim). 2021
- [9] M. R., Seddon, N., & Safran, R. J. "Evolutionary divergence in acoustic signals: Causes and consequences". *Trends in Ecology and Evolution*, 28: 156–166. 2013.
- [10] Yang, Z., & Rannala, B.. "Molecular phylogenetics: principles and practice". *Nature reviews genetics*, 13(5): 303. 2012.
- [11] Arumingtyas, E. L. "*Mutasi: Prinsip Dasar dan Konsekuensi*". Universitas Brawijaya Press. 2019.





- [12] Li Wen-Hsiung & D. Graur. "Fundamental of Molecular Evolution". Sinaur Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. 284 p. 1991.
- [13] Hayaska, K., T. Gojobori, & S. Horai. "Molecular phylogeny and evolution of primate mitochondrial DNA". *Molecular Biology. Evolution* 5(6): 626-644. 1988.
- [14] Fauzi, M. A. *Filogeografi Cicak Jari Lengkung (Squamata: Gekkonidae: Cyrtodactylus) Di Jawa Dan Sumatra Berdasarkan Analisis Morfologi Dan Molekuler Gen Natrium Dehydrogenase Subunit 4 (Nd4)*. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Malang. 2017.
- [15] Zhang, X., J Cui, T. Wei, L.Y. Li, J. Jiang. P. Liu, dan Z.Q. Wang. "Survey and genetic variation of *Spirometra erinaceieuropaei* Sprgranum in frogs and snakes of Guangxi of Southern China". *Tropical Biomedicine* 31(4): 860-870. 2014.
- [16] Mount, D.W. "Phylogenetic prediction : Bioinformatic, sequence and genome Analysis". Spring Harbour. New York. 2001.
- [17] Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., Von Haeseler, A., & Minh, B. Q. "IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies". *Molecular biology and evolution*, 32(1), 268-274. 2015.
- [18] Nei, M. & S. Kumar. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press. New York. 2000.
- [19] Martin Del Campo, A., & Davidson, R. "Combinatorial and computational investigations of Neighbor-Joining bias". *Frontiers in Genetics*, 11, 1221. 2020.
- [20] Nur. A., Syahrudin. K. *Gandum: Peluang Pengembangan di Indonesia* Aplikasi Teknologi Mutasi dalam Pembentukan Varietas Gandum Tropis. Jakarta: Indonesian Agency for Agricultural Research and Development. 2016.
- [21] Triesita, N. I. P., Masruroh, I. H., Sulistiono, S., & Santoso, A. M. "Hubungan Kekerbatan Rana Berdasarkan Gen cyt b Berbasis In Silico sebagai Bukti Adanya Evolusi Molekuler". In *Prosiding Seminar Nasional Hayati* (Vol. 6, pp. 224-229). 2018.
- [22] Erfanda, M. P., Septiadi, L., Devi, S. R., & Hanifa, B. F. "Distribution record of *Leptophryne borbonica* (Tschudi, 1838)(Anura: Bufonidae) from Malang, East Java: description, microhabitat, and possible threats". *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 4(02), 82-89. 2019.
- [23] Hidayat, T., & Pancoro, A. "Ulasan Kajian filogenetika molekuler dan peranannya dalam menyediakan informasi dasar untuk meningkatkan kualitas sumber genetik anggrek". *Jurnal AgroBiogen*. 4(1): 35-40. 2016.
- [24] Felsenstein, J. "Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach". *Journal of molecular evolution*. 17(6): 368-376. 1981.
- [25] Septiadi, L. *Analisis filogenetik dan estimasi waktu divergensi Amolops Cope, 1865 sensu lato paparan sunda secara insilico* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim). 2019.
- [26] Hills, D. M., C. Moritz, dan Mable, B. K. "Molecular systematic". Massachusetts: Sinaur Associates. 1996.