

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Elang

1. Famili Accipitridae

Accipitridae merupakan salah satu famili kelas aves, terdiri atas 14 subfamili, 65 genera dan 231 spesies. Spesies dari famili Accipitridae, beberapa yang paling terbesar dan paling terancam oleh faktor antropogenik pada empat subfamili elang (Circaetinae, Haliaeetinae, Aquilinae, dan Harpiinae) dan dua burung pemakan bangkai subfamili *Old World* (Gypaetinae dan Aegypiinae) (Dickinson, 2003). Semua spesies Accipitridae dilindungi di bawah Konvensi Internasional Perdagangan Spesies Langka (CITES) dan empat elang terdaftar sebagai spesies prioritas utama (CITES I, 2003).

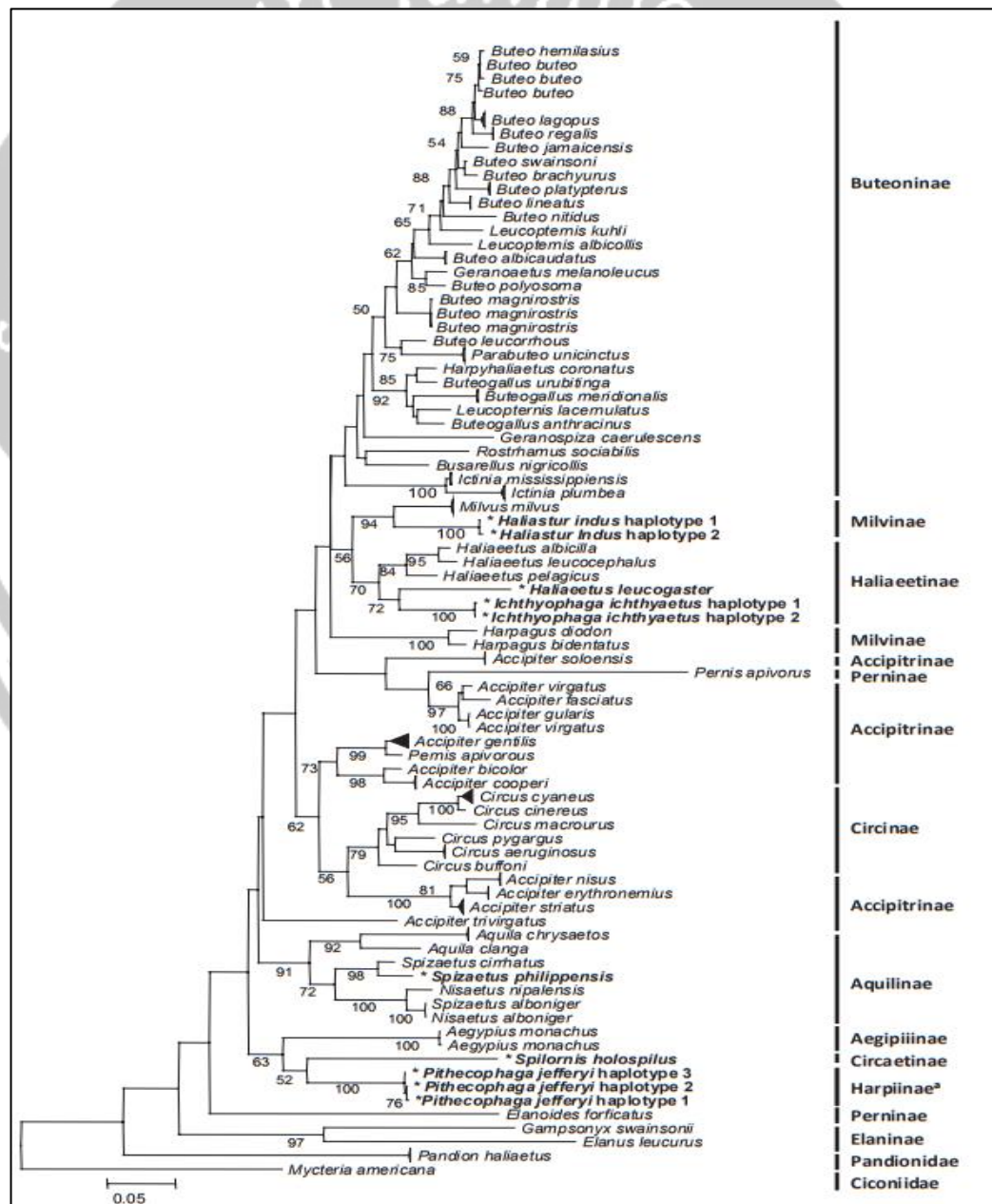
Famili ini merupakan famili predator yang sensitif terhadap sistem ekologi, burung mangsa adalah indikator yang berharga dari kualitas habitat. Accipitridae ditemukan di berbagai habitat dari primer hutan hujan di seluruh dunia. Beberapa taksa dibatasi dalam distribusi seperti elang ular (Circaetinae) yang hanya ditemukan di daerah *Old World*, sementara yang lain, seperti elang laut (Haliaeetinae), bersifat global dalam distribusi. Analisis filogenetik yang menyeluruh diperlukan untuk menggambarkan genetik dan keanekaragaman hayati keseluruhan keluarga ini, dan untuk menginformasikan program konservasi yang bertujuan untuk melestarikan genetik keanekaragaman unit taksonomi (Lerner dan Mindell, 2005).

Filogenetik merupakan keseluruhan kedekatan taksonomik atas dasar kemiripan dan perbedaan yang dapat terukur. Pohon filogenetik bisa memiliki dua fitur struktur yang signifikan, salah satu fiturnya adalah lokasi titik percabangan di sepanjang pohon itu, yang menyimbolkan waktu relatif asal mula taksa yang berbeda. Sedangkan yang kedua, adalah derajat permisahan antara cabang-cabang, yang menggambarkan sudah seberapa jauh perbedaan dua taksa terjadi sejak percabangan dari nenek moyang yang sama (Reece dkk., 2011).

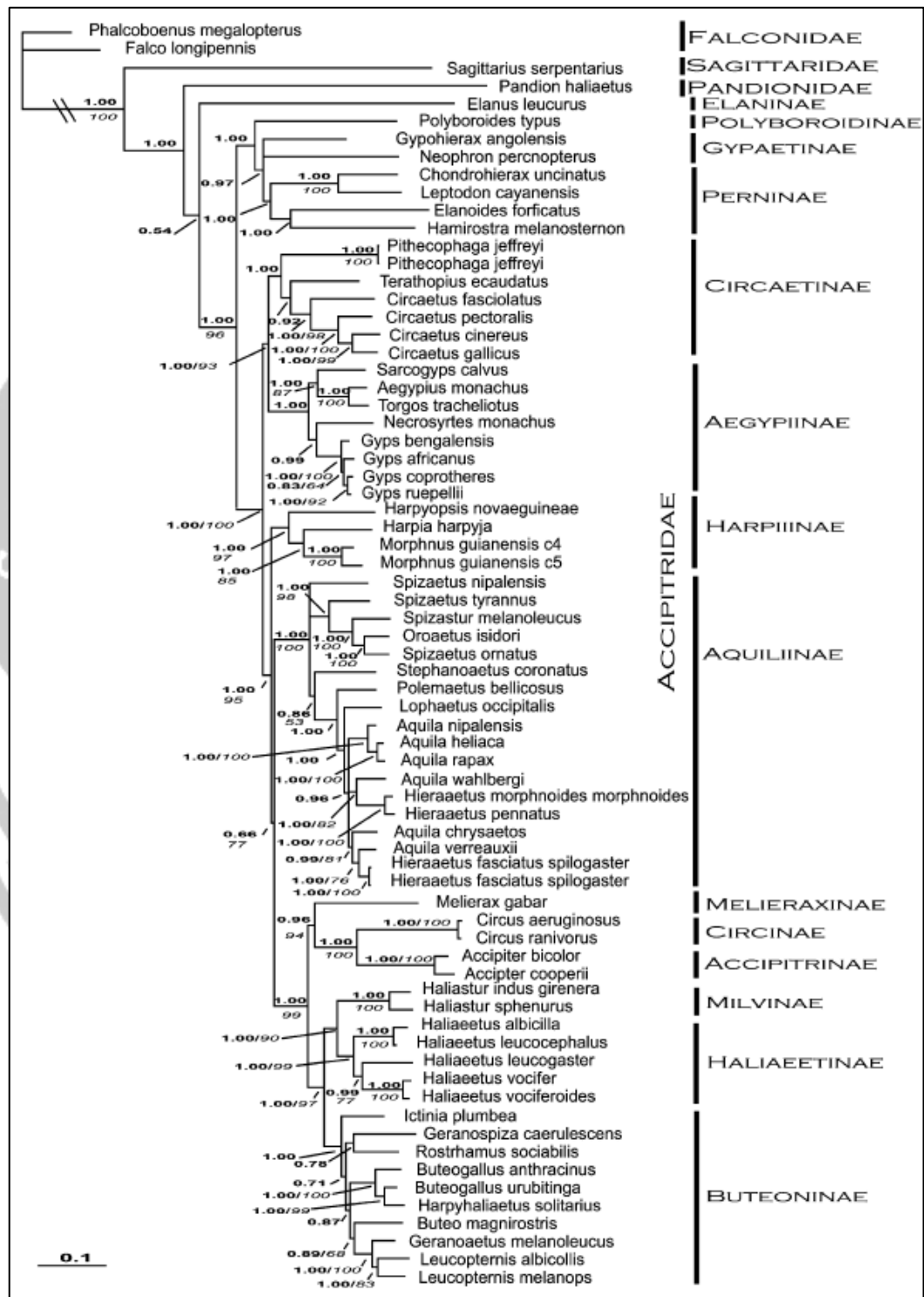
Dalam analisis filogenetika kelompok outgroup sangat dibutuhkan dan menyebabkan polarisasi karakter atau ciri, yaitu karakter apomorfik dan plesiomorfik. Karakter apomorfik adalah karakter yang berubah dan diturunkan dan terdapat pada *ingroup*, sedangkan karakter plesiomorfik merupakan karakter primitif yang terdapat pada *outgroup*. Karakter sinapomorfik adalah karakter yang diturunkan dan terdapat pada kelompok monofiletik. (Hidayat dan Pancoro, 2006)

Salah satu tujuan penyusunan filogenetika adalah untuk merekonstruksi dengan tepat hubungan antara organisme dan memperkirakan perbedaan yang terjadi dari satu nenek moyang (*ancestor*) kepada turunannya (Li, dkk., 1999). Nenek moyang yang sama atau berkerabat mempengaruhi dalam kepunahan suatu spesies. Spesies yang berkerabat dekat dengan spesies yang telah punah atau terancam punah harus menjadi pertimbangan para ilmuwan. Seringkali kelompok-kelompok spesies yang rentan terhadap kepunahan memiliki kemiripan-kemiripan ekologi (Indrawan dkk., 2007).

Adapun penelitian yang memiliki kesamaan dengan topik ini. Penelitian tersebut adalah studi filogenetik pada Accipitridae dengan marker yang sama yakni CO1 (Ong dkk. 2011) dan marker lainnya seperti sitokrom-B dan ND2 (Lerner dan Mindell, 2005). Filogenetik tersebut dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Kemungkinan filogeni *maximum-likelihood* yang disimpulkan dari urutan gen COI 629-bp



Gambar 2. Filogenetik Accipitridae berdasarkan sekuen cytb dan ND2 dan inti b-fibrinogen intron 7.

2. Elang Brontok

Elang Brontok bersifat tersebar luas mulai dari di Pangkalan Himalaya, Timur Laut India, Andaman, Bangladesh serta Indonesia (BirdLife International, 2016; Grimmett dkk., 2011). Sedikit berbeda dengan Elang Gunung, Elang Brontok memiliki ekor yang proporsional lebih panjang, sayapnya datar saat terbang. Elang ini memiliki jambul yang tidak terlalu menonjol dapat dilihat pada Gambar 3 yang diacu dari Grimmett dkk. (2011).



Gambar 3. Elang Brontok

Elang Brontok (*Crested* atau *Changeable Hawk Eagle*) memiliki tubuh berukuran besar sekitar 70 cm. Tubuhnya ramping, bersayap lebar, jambulnya yang sangat pendek serta ekor yang panjang dan berbentuk bulat. Ketika terbang, Elang Brontok terlihat jelas memiliki garis-garis hitam melintang pada bagian sayap dan ekornya.

Umumnya elang ini memiliki warna bulu coklat pada bagian dorsal tubuhnya. Bagian dada dan perut berwarna coklat sedangkan pada leher terdapat bintik-bintik. Pada ras-ras tertentu memiliki jambul sekitar 4-6 helai bulu dan pada beberapa ras lain sedikit berjambul atau tidak berjambul sama sekali. Elang Brontok muda memiliki warna bulu yang pucat dan kurang jelas atau samar (Grimmett dkk., 2011). Elang Brontok muda betina memiliki bagian atas coklat tua dengan sisi dan dasar punggung berwarna pucat hingga ke bulu. Sedangkan bagian punggung bawah, hingga ekor berwarna agak pucat. Betina yang lebih tua dan lebih besar memiliki warna yang lebih coklat dari betina muda (Sharpe, 1874).

Morfologi gelap dari Elang Brontok sulit dibedakan jika dibandingkan dengan Elang Hitam. Namun dapat dijabarkan morfologinya yaitu secara struktural yang berbeda. Ekornya berwarna sedikit keabu-abuan dengan bagian ujungnya gelap dan melebar di sekitar ujung. Saat remaja, memiliki sisi pinggir ekor yang pucat sampai bagian atas, pantat pucat dan pita ekor yang lebih sempit dan lebih lebat daripada orang dewasa. Elang Brontok bersuara sangat bising pada saat musim kawin serta tinggal di hutan cemara hijau dan lembab (Grimmett dkk., 2011).

3. Elang Jawa

Elang Jawa atau dalam bahasa Inggris adalah *Javan Hawk Eagle*, pada awal 1990an dianggap sebagai elang yang tidak dikenal dan paling langka di dunia. Elang Jawa terancam punah di tempat asalnya yaitu Pulau Jawa (Tingay dan Katzner, 2013). Saat ini Elang Jawa menjadi spesies yang

terkenal karena menjadi burung yang paling langka didunia. Populasinya terbagi, ada di Ujung Kulon, dan Alas Purwo terutama di hutan pegunungan. Setiap individu Elang Jawa membutuhkan sekitar 20-30km² hutan dan tepi hutan untuk mendukung kelangsungan hidupnya (Whitten dan Soeriaatmadja, 2013). Morfologi Elang Jawa dapat dilihat pada Gambar 4 yang diacu dari Wijayanto (2017).



Gambar 4. Elang Jawa (*Nisaetus bartelsi*)

Elang Jawa dapat berkembang biak kapan saja sepanjang tahun umumnya diantara bulan Januari dan Juli. Burung ini matang secara seksual pada umur sekitar tiga sampai empat tahun dan hanya menghasilkan 1 telur setiap satu kali perkawinan. Inkubasi telur tersebut hanya berlangsung selama 47-48 hari dan mampu terbang pada umur 70 hari. Kedua induknya

tinggal menjaga sarang. Beberapa Elang Jawa remaja tinggal di sekitar wilayah induknya hingga musim kawin berikutnya (Prawiradilaga, 2006).

Burung ini bisa ditemukan bertengger di pohon yang tinggi dan berdaun jarang atau bahkan di pohon yang mati. Bila cuaca sedang mendung, berkabut atau hujan, mereka hanya bertengger dan bersembunyi di kanopi. Matanya yang sangat tajam berperan penting untuk aktivitas berburu. Elang Jawa jarang berburu saat terbang, namun dia berburu saat *soaring* dan mencengkram mangsanya dengan kaki yang kuat (Prawiradilaga, 2006).

4. Status Populasi Elang Indonesia

Indonesia merupakan tempat tinggal dari banyak burung. Burung di Indonesia terdapat 1552 spesies yang mana 73 spesies atau setara dengan 4,6% dari total merupakan burung pemangsa atau predator paling tinggi. Sebanyak 21,9% burung pemangsa (16 spesies dari 73 spesies) merupakan burung yang tinggal dan berkembang biak di daerah-daerah Indonesia atau bahkan endemik di salah satu daerah Indonesia (Prawiradilaga, 2006)

Semua burung pemangsa di Indonesia dilindungi dibawah hukum Indonesia (PP No. 7/1999). Di saat yang sama, sebanyak 67 spesies burung pemangsa ini juga dilindungi oleh CITES (*Convention on International Trade of Endangered Flora and Fauna*) serta dilindungi oleh CMS (*Convention on Migratory Species*) sebanyak 18 spesies. Diantara Elang-elang tersebut, dua diantaranya adalah Elang Jawa dan Elang Brontok. (Prawiradilaga, 2006)

B. Konservasi Keanekaragaman Genetik

Keanekaragaman genetik merupakan ukuran kemungkinan pilihan informasi yang diberikan oleh sebuah gen. Keanekaragaman genetik dapat diwariskan dalam suatu populasi sebagai hasil dari perbedaan alel yang ada dalam gen (Frankham, 2003). Konservasi keanekaragaman genetik adalah aspek penting dari manajemen spesies langka dan terancam punah. Konservasi genetik dapat dilakukan melalui pengembangbiakan, penelitian molekuler, dan pelestarian gamet. Perlakuan konservasi keanekaragaman genetik pada satu satwa dapat memperoleh keuntungan yaitu dapat memberikan informasi penataan genetik populasi, mengetahui penyebab dari kehilangan keanekaragaman genetik, hubungan filogenetik dan membimbing proses pengambilan keputusan penting pada organisme yang dituju (Frankham, 2003; Armstrong dan Ball, 2005).

Menurut Rahayu dan Nugroho (2015), *DNA Barcode* memiliki peran penting dalam penilaian keanekaragaman hayati, baik untuk masa sekarang maupun masa lalu. Karakter nukleotida yang “unik” atau automorfi akan mendiferensiasi spesies menjadi bagian kelompoknya secara alami. Beberapa alasan digunakan *DNA Barcode* dalam taksonomi antara lain:

1. *DNA Barcode* membantu menyelesaikan masalah tumpang tindih karakter variasi intra dan interspesies (*cryptic species*/mirip)
2. *DNA Barcode* membantu memecahkan identifikasi di berbagai tingkat kehidupan organisme (telur, larva, dan dewasa)

3. *DNA Barcode* dapat membantu menemukan, membedakan dan mendeskripsi specimen yang sulit diidentifikasi dengan karakter morfologi.
4. *DNA Barcode* mengurangi kekeliruan identifikasi spesies.

C. DNA Barcode COI

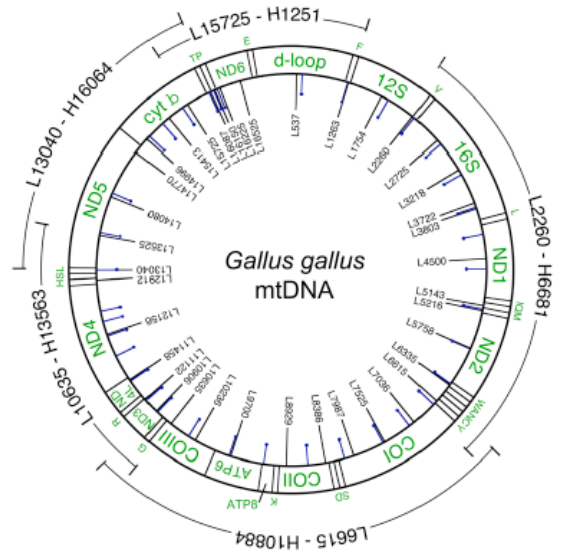
COI (*Cytochrome Oxidase-1*) memiliki sifat gen pengkode protein mitokondria yang cocok untuk identifikasi spesies. Gen ini mengkodekan subunit kompleks enzim yang terlibat dalam transpor elektron melintasi membran mitokondria. Kompleks enzim ini sangat berperan penting dalam respirasi seluler pada setiap eukariota. Karena protein ini berfungsi penting dalam metabolisme sementara dalam kontak dekat dengan subunit lain dari kompleks yang sama, urutan asam amino mereka sangat dibatasi. Hal ini terutama berlaku pada gen subunit 1 sitokrom oksidase (COI) yang mengkodekan protein yang membentuk inti utama kompleks enzim sitokrom oksidase (Ballard dan Whitlock, 2004).

Pada saat yang sama, tingkat substitusi umumnya lebih tinggi di mitokondria daripada di nukleus. Pada primata, perbedaan khas antara mtDNA dan nDNA diperkirakan sekitar sepuluh kali lipat (Brown dkk., 1979) dan lalat buah antara dua dan sembilan kali lipat lebih tinggi di mitokondria daripada nukleus (Moriyama dan Powell, 1997). Selain itu, karena mitokondria bersifat haploid dan diwariskan secara maternal, ukuran populasi genom mitokondria yang efektif

mungkin sekitar seperempat dari genom nukleus autosomal, yang berarti koalesensi dapat berlangsung relatif lebih cepat.

MtDNA juga terdiri dari beberapa lokus yang pernah digunakan sebagai penanda dalam indentifikasi dan filogenetik. Analisis molekuler menggunakan marker cyt-B (sitokrom B) telah menunjukkan bahwa ada perbedaan genetik yang cukup besar antara Goral (Kambing Kijang) Korea dan China, namun hampir tidak ada antara perbedaan antar spesies ini yang berasal Korea dan Rusia (Min dkk., 2004). Goral Korea memiliki dua haplotipe dengan hanya satu perbedaan nukleotida di antara keduanya, sementara Goral Jepang menunjukkan keanekaragaman urutan yang sedikit lebih tinggi dengan lima haplotipe. Data ini membuktikan pentingnya konservasi populasi Goral di wilayah ini, dan kebutuhan untuk mempertimbangkan kembali status taksonomi Goral Korea dan Rusia (Min dkk., 2004).

Gen pengkode protein mitokondria penting lainnya, subunit NADH dehidrogenase (318 bp), telah digunakan untuk analisis filogenetik beberapa individu dari spesies yang berbeda dari keluarga Felidae dan berhasil membedakan delapan klade yang mencerminkan radiasi evolusioner monofiletik (Johnson dan O'Brien, 1997). Dari beberapa pembuktian di atas, maka diketahui pentingnya *DNA Barcode* dalam identifikasi spesies terutama dalam status filogenetik dan taksonomi. Berikut pada Gambar 5 merupakan peta gen mitokondria pada Aves contohnya *Gallus galus* (Sorenson, 2003).



Gambar 5. Pemetaan genome pada DNA mitokondria Ayam (*Gallus gallus*) sama dengan Aves lainnya

D. PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengamplifikasi sejumlah kopi regio spesifik dari DNA menggunakan suatu enzim yang dinamakan DNA polymerase yang akan mengamplifikasi fraksi genom dalam rangka menghasilkan replikasi DNA yang merupakan salinan seluruh genom secara tepat dan cukup adekuat untuk diperiksa (Sudiono, 2008). Rahayu dan Nugroho (2015) menjelaskan bahwa teknik ini pertama kali dikembangkan oleh Karry Mulls pada tahun 1985. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi ‘segmen DNA target’ dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Komponen-komponen yang diperlukan pada proses PCR adalah DNA *template* hasil isolasi dengan konsentrasi antara 0,1 ug/ul – 1 ng/ul; sepasang primer (primer *forward* dan *reverse*) dengan konsentrasi 10 pmol/ul, PCR mix yang terdiri atas: dNTP (*Deoxynucleotide triphosphates*); buffer PCR; magnesium klorida; enzim polimerasi DNA dan akuades steril (sdw). Proses PCR melibatkan beberapa tahap

yaitu pradenaturasi DNA, denaturasi, penempelan primer (*annealing*), pemanjangan (*extension*) dan pemantapan (*post-extension*).

1. *Direct PCR*

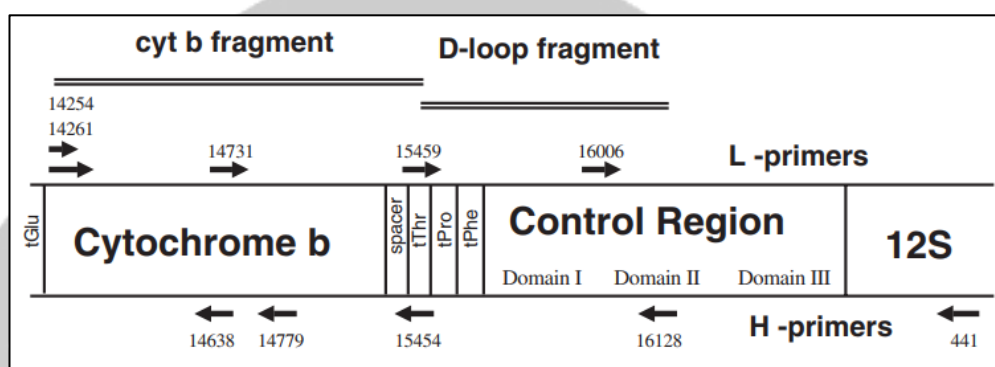
Amplifikasi dari sampel mentah tanpa menggunakan cara purifikasi apapun merupakan cara yang lebih sederhana dan efisien. Metode ini disebut juga sebagai *Direct PCR*. Metode ini tidak hanya dapat digunakan pada sampel darah segar namun juga dapat digunakan pada sampel darah beku yang disimpan dalam beberapa bulan pada suhu -20°C (Mercier, dkk., 1990). Menurutny, metode ini dapat mengamplifikasi fragmen hingga 900 pasang basa dari sampel darah beku mentah. Meskipun begitu, metode ini tidak begitu sensitif untuk beberapa studi PCR.

2. Primer CO1 dan Cyt-b

Primer merupakan untai tunggal potongan DNA nukleotida pendek yang berfungsi untuk memulai amplifikasi. DNA tersebut komplemen dengan DNA cetakan atau DNA target yang ingin dilakukam amplifikasi. Primer menempel dan mulai mengamplifikasi dari sebelah DNA target. Penempelannya pun harus berada pada arah yang berlawanan dari DNA agar amplifikasi secara eksponensial dapat terjadi (Maftuchah, 2015). Adapun amplifikasi menggunakan beberapa primer untuk mengamplifikasi CO1 dan Cyt-b (Farias dkk., 2001). Primer tersebut diantaranya adalah:

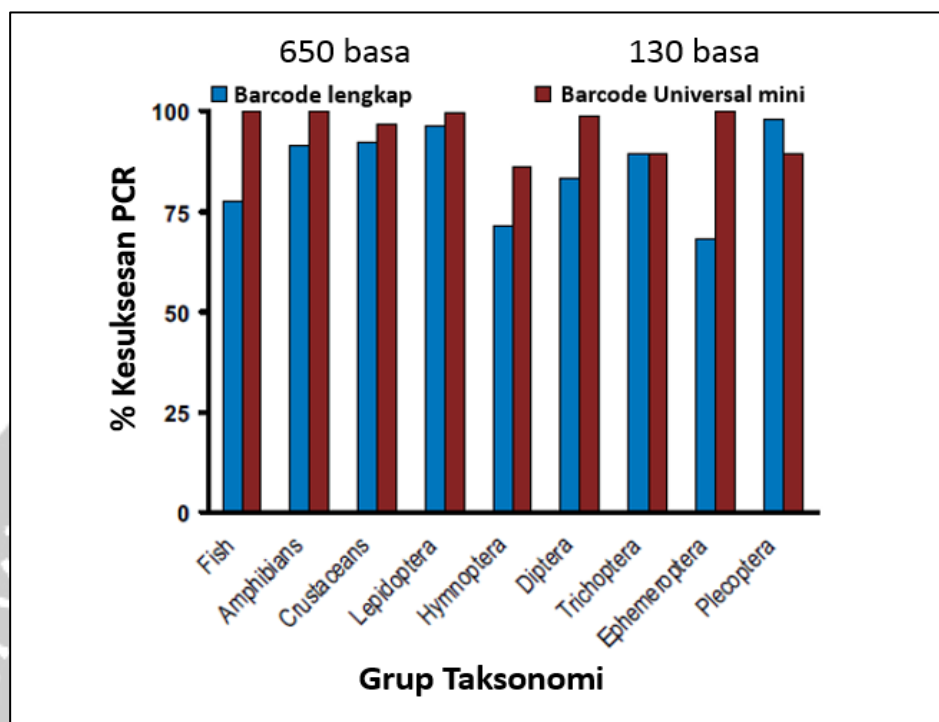
- a) Primer Forward L14731 dan reverse H15454 dari penelitian Glenn, dkk. (2002) DNA Target Cyt-B. Dalam penelitian oleh Glenn, dkk., (2002) tersebut diketahui hanya dua haplotipe cyt-b yang terdeteksi di spesies ujinya

yaitu antara 25 aligator Amerika (693-1199 bp yang disurvei). Berikut merupakan pemetaan penempelan primer pada gen sitokrom B oleh Glenn, dkk. (2002).



Gambar 6. Primer L14731 yang digunakan untuk menentukan mtDNA cyt b.

- b) Primer Universal Forward dgLCO-1490 dan Reverse dgHCO-2198 (Meyer, 2003). Meyer (2003) menggunakan primer ini untuk mengidentifikasi Gastropoda dengan panjang base pair dari hasil amplifikasi sepanjang 614bp dari sebagian sitokrom oksidase subunit I (COI).
- c) Primer dari Uni-MinibarR1 dan Uni-MinibarF1 Muisner, dkk. (2008). Uniminibar adalah primer universal yang dapat digunakan pada kebanyakan grup eukariot seperti hewan, jamur, tanaman dan Protista. Analisis menunjukkan bahwa CO1 utuh berhasil dan efektif sebesar 97%. Kesuksesan identifikasi sebesar 90% dapat diperoleh dengan hanya 100 bp barcode dan 95% sukses dengan 250 bp barcode. Dengan kata lain, pada 90% spesies tersebut menguji kode batang DNA hanya 100 bp yang mengandung substitusi nukleotida khusus untuk anggota spesies tertentu. Berikut merupakan diagram keefektifan barcode pendek berdasarkan penelitian Muisner, dkk., 2008.



Gambar 7. Keefektifan amplicon 130bp dibandingkan dengan 650bp CO1

d) Primer Bird F1 dan Reverse Bird R1 (Johnsen dkk., 2009). Set primer ini umum digunakan untuk identifikasi sekuen CO1 pada burung.

E. Uji Kuantitatif dan Kualitatif

Pengukuran molekul DNA dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Uji kuantitatif adalah analisis untuk menentukan kandungan atau jumlah DNA yang terdapat dalam suatu zat atau komponen (Larasati, 2011 dalam Hapsari, 2012). Uji kuantitatif DNA dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan prinsip penyerapan cahaya ultraviolet oleh DNA, karena adanya basa purin dan pirimidin. Pita ganda DNA/RNA dapat menyerap cahaya UV pada 260 nm, sedangkan kontaminan protein atau fenol akan menyerap cahaya pada 280 nm, sehingga kemurnian DNA/RNA dapat diukur dengan menghitung nilai absorbansi

260 nm dibagi nilai absorbansi 280, dan nilai kemurnian DNA dan RNA berkisar 1,8-2,0 (Padmadi, 2009).

Uji kualitatif DNA adalah metode standar yang digunakan untuk identifikasi, pemisahan dan purifikasi fragmen DNA dilakukan dengan menggunakan gel agarose. Migrasi elektroforesis DNA melalui gel agarose dipengaruhi oleh faktor ukuran dan konformasi molekul DNA, konsentrasi bubuk agarose, arus listrik dan suhu (Fatah, dkk., 2011).

Elektroforesis DNA merupakan teknik untuk memisahkan sampel DNA berdasarkan ukuran (berat molekul) dan struktur fisik molekulnya. Elektroforesis gel agarose dapat dilakukan untuk memisahkan sampel DNA dengan rentang ukuran pasang basa yang bervariasi. Molekul DNA bermuatan negatif sehingga di dalam medan listrik akan bermigrasi melalui matriks gel menuju kutub positif (anode). Makin besar ukuran molekulnya, makin rendah laju migrasinya (Rahayu dan Nugroho, 2015).

F. Sekuensing

Informasi makhluk hidup terletak pada DNA. Untuk mengetahui informasi tersebut perlu dilakukan tahap sekuensing atau penentuan urutan basa. Terdapat dua metode sekuensing yang dapat digunakan yaitu Maxam-Gilbert dan Sanger. Metode Maxam Gilbert merupakan metode dengan pendekatan kimiawi, sedangkan Sanger adalah metode dengan pendekatan enzimatik. Metodologi sekuensing asam nukleat generasi pertama Maxam-Gilbert ini menghasilkan *output* rendah bila dibandingkan dengan pendekatan terbaru. Melalui metode ini setiap percobaan hanya menghasilkan beberapa pembacaan sampai sekitar 1000 basa nukleotida per

gel jalur atau kapiler, tergantung pada teknologi spesifik yang digunakan. Dengan kata lain, biasanya digunakan untuk mengurutkan pembesaran asam nukleat yang sangat pendek. Namun demikian, pendekatan ini dapat dioptimalkan dan ditingkatkan, diperbaiki dari waktu ke waktu dengan mesin semi otomatis yang mampu melakukan sekuensing genom besar sekalipun (Dorado, dkk., 2017).

Metode sekuensing DNA yang dikembangkan oleh Fred Sanger membentuk dasar reaksi sekuens "siklus" otomatis saat ini. Sekuensing Sanger, yang juga dikenal sebagai metode penghentian rantai, adalah teknik untuk sekuensing DNA berdasarkan penggabungan selektif *deoxynucleotides* yang diakhiri dengan rantai DNA polimerase selama replikasi DNA *in vitro*. Ini dikembangkan oleh Frederick Sanger dan rekan pada tahun 1977. Metode ini adalah metode sekuensing yang paling banyak digunakan selama kira-kira 25 tahun sebelum digantikan oleh metode pengurutan generasi berikutnya (NGS) (Li dan Zhou, 2015).

Sekuensing Sanger yang lama memerlukan kerangka DNA beruntai tunggal, DNA polimerase, primer DNA, *deoxynucleosidetriphosphat* normal (dNTPs), dan nukleotida termodifikasi (ddNTPs) yang mengakhiri pemanjangan untai DNA. Teknisnya, DdNTPs ini kekurangan bagian ujung 3'-OH yang diperlukan untuk pembentukan ikatan fosfodiester antara dua nukleotida, yang menyebabkan perpanjangan untai DNA berhenti saat ddNTP ditambahkan. Sampel DNA dibagi menjadi empat reaksi sekuensing terpisah, yang berisi keempat standar dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dan dTTP), DNA polimerase, dan hanya satu dari empat ddNTPs (ddATP, ddGTP, ddCTP, atau ddTTP) untuk setiap reaksi. Setelah satu putaran pemanjangan templat DNA, fragmen DNA yang terbentuk

didenaturasi dan dipisahkan berdasarkan ukuran menggunakan elektroforesis gel dengan masing-masing dari empat reaksi di salah satu dari empat jalur yang terpisah. Band DNA kemudian dapat divisualisasikan dengan sinar UV atau autoradiografi, dan urutan DNA dapat langsung membacakan gambar gel atau film sinar-X (Li dan Zhou, 2015).

Prinsip dasar DNA sekuensing, yaitu menggunakan metode PCR sebagai pijakannya. DNA yang akan ditentukan urutan basa AGCT-nya akan dijadikan sebagai cetakan untuk kemudian diamplifikasi menggunakan enzim dan bahan-bahan yang mirip dengan reaksi PCR. Seperti yang dijelaskan oleh Rahayu dan Nugroho (2015) perbedaan *cycle sequencing* dengan PCR biasa adalah:

1. Primer yang digunakan hanya satu untuk satu arah pembacaan
2. ddNTPs (*dideoxy-Nucleotide Triphosphate*) adalah modifikasi dari dNTPs dengan menghilangkan gugus 3'-OH pada ribose
3. Hasilnya akan terkumpul secara linier tidak seperti hasil PCR.

G. Bioinformatika

Penelitian ini adalah gabungan antara bioteknologi dan informasi. Bioteknologi berakar dari bidan biologi sedangkan perkembangan teknologi informasi tak dapat dilepaskan dari matematika. Perpaduan antara kedua teknologi informasi dan bioteknologi menghasilkan Bioinformatika, yang dilatarbelakangi oleh ledakan data (*data exploision*) observasi biologi sebagai hasil yang dicapai dari kemajuan bioteknologi. Contohnya adalah pertumbuhan pesat *database* DNA pada *GenBank*. *Genbank* adalah *database* utama dalam biologi molekuler, yang dikelola

oleh NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) di AS (Rahayu dan Nugroho, 2015).

Setelah dilakukan sekuensing, langkah selanjutnya adalah analisis DNA. Terdapat beberapa program pendukung untuk melakukan rekonstruksi filogeni. Program tersebut diantaranya Finch TV, DNA Baser, data online NCBI, Online di SDSC workbench, Online BOLD SYSTEM, Clustal X, Mega 6, DNAsp 5, dan Haplotype network. Empat program dan layanan online pertama digunakan untuk konfirmasi dan verifikasi kepastian DNA, sedangkan lima program dan layanan online dari akhir digunakan untuk rekonstruksi filogeni dan analisis haplotipe (Rahayu dan Nugroho, 2015).

H. Hipotesis

Berdasarkan beberapa penelitian, peneliti menyimpulkan hipotesis sebagai diantaranya:

1. Semua Primer uji yang digunakan pada penelitian mampu mengamplifikasi DNA Elang.
2. Elang Brontok dengan *morph* yang berbeda akan memiliki variasi gen yang beragam.
3. Karakteristik sekuen Elang Brontok berbeda-beda berdasarkan *morph* sedangkan pada Elang Jawa tidak beragam atau terkonservasi.
4. Elang Jawa dan Elang Brontok bukan merupakan sister spesies karena Elang Jawa yang bersifat endemik, sedangkan Elang Brontok bersifat sebaran.
5. Pada pohon filogenetik, Elang akan berkumpul dengan jenis lain sesama subfamili dari Famili Accipitridae.

