

Analisis Hubungan Kekerbatan Famili Felidae (Ordo Karnivora; Kelas Mamalia) Berdasarkan Sekuens Gen Cytochrome-B (CytB) Mitokondria

Fatahillah Ardhani¹, Ida Ayu Dewi Lola Valastri¹, Khusnul Khotimah¹, Faturrahman^{1*}

¹ Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Indonesia.

Article Info :	Abstract :
Received : Maret 14, 2026 Revised : April 05, 2026 Accepted : April 19, 2026 Published : Mei 24, 2026	Species identification within the family Felidae is often challenged by overlapping morphological characteristics resulting from hybridization, necessitating the use of genetic approaches. This study aimed to analyze the phylogenetic relationships and evolutionary history of 40 Felidae species based on mitochondrial Cytochrome b (CytB) gene sequences. This in silico study utilized secondary data obtained from GenBank, which were analyzed using MEGA 12 for sequence alignment, nucleotide composition analysis, and phylogenetic tree reconstruction using the Maximum Likelihood method with 1,000 bootstrap replicates, followed by validation using DrPhylo. The results showed a predominance of transition mutations, with a high R ratio (9), as well as significant codon usage bias. Phylogenetic reconstruction divided the family Felidae into eight major clades supported by high bootstrap values, namely Panthera, Neofelis, Pardofelis, Prionailurus, Lynx, Leopardus, Felis, and a combined Puma group. The genus Otocolobus was identified as the oldest lineage, diverging earliest from the other lineages. The M-Grid test confirmed the validity of the major clade groupings, with confidence levels approaching 1.00. It can be concluded that the CytB gene is an effective and reliable genetic marker for phylogenetic studies of the family Felidae.
Corresponding Author: Faturrahman fatur@unram.ac.id	
DOI: https://doi.org/10.29303/v6twrz55	
Keyword: Felidae; Phylogenetics; Cytochrome B; Evolution; Maximum Likelihood.	
How to Cite : Ardhani, F., Valastri, I. A. D. L., Khotimah, K., & Faturrahman. (2026). Analisis Hubungan Kekerabatan Famili Felidae (Ordo Karnivora; Kelas Mamalia) Berdasarkan Sekuens Gen Cytochrome-B (CytB) Mitokondria. <i>Journal of Microbiology, Biotechnology and Conservation</i> , 2(2), 101-112. https://doi.org/10.29303/v6twrz55	

PENDAHULUAN

Karnivora adalah salah satu ordo hewan kelas mamalia yang paling beragam dan telah berhasil menghuni semua benua serta berbagai macam habitat (Fernández-Sepúlveda & Martin, 2022). Keluarga Felidae (kucing-kucingan) yang biasa dikenal sebagai Felid adalah salah satu contoh hewan kelas mamalia dari ordo karnivora (Yu et al., 2025). Pada awalnya, aspek morfologis (garis belang, alur, dan bintik total pada pola bulu) kucing sangat mudah dikenali dan menjadi ciri menentukan spesies kucing baik kucing liar maupun ras kucing

domestik (Lyons et al., 2021). Domestikasi kucing dimulai sekitar 10.000 tahun yang lalu di Timur Tengah, sejak saat itu para pembiak telah mengembangkan berbagai ras kucing (Matsumoto et al., 2025). Li et al. (2016) mengungkapkan bahwa perkawinan silang mengakibatkan tumpang tindih morfologis (bentuk fisik) sehingga sulit mengidentifikasi kekerabatan dan menentukan arah evolusioner. Hal tersebut menyebabkan identifikasi berdasarkan aspek morfologis memungkinkan terjadinya kekeliruan karena terbatas hanya pada bentuk fisik (Ruiz-García et al., 2023). Identifikasi kekerabatan menggunakan materi genetik menjadi

terobosan untuk meningkatkan pembedaan spesies dan memberikan wawasan tentang adaptasi evolusioner kucing (Wang et al., 2025).

Analisis filogenetik merupakan teknik analisis menggunakan materi genetik untuk merekonstruksi hubungan kekerabatan dan evolusioner (Subari et al., 2021). Analisis ini juga bisa menunjukkan bagaimana sebuah spesies berubah secara evolusi seiring waktu (Puspitasari et al., 2025). Metode yang efektif dalam analisis filogenetik adalah DNA barcoding. DNA barcoding berfungsi untuk mengenali dan membedakan spesies serta varietas berdasarkan penanda genetik khusus (Burhanuddin et al., 2025). Penanda genetik yang banyak digunakan adalah gen mitokondria. Pola keragaman gen mitokondria sejalan dengan dugaan adanya hambatan demografis yang baru terjadi atau sebuah peristiwa oleh satu atau beberapa garis keturunan yang menjadi asal mula keragaman saat ini (Hassan-Beigi et al., 2022). Salah satu sekuens gen mitokondria yang sering digunakan untuk penanda genetik adalah Chytochrome-B (CytB). Permadi et al. (2023) menambahkan bahwa sekuens gen CytB dipilih karena sifat pewarisan yang utuh dari induk (maternal) serta peran penting dalam siklus bioenergetika di tingkat sel.

Studi mengenai filogenetik kucing penting untuk memahami kekerabatan dan sejarah evolusi, serta dapat berguna sebagai upaya konservasi untuk jenis kucing yang langka dan rentan punah (Gómez-Lépiz et al., 2024). Berdasarkan penelitian Kitchener et al. (2017) terdapat 41 spesies kucing yang telah teridentifikasi. Meskipun sudah terdapat penelitian sebelumnya, namun belum ada penelitian yang fokus menggunakan sekuens gen CytB untuk melakukan studi filogenetik evolusi dari seluruh spesies kucing. Oleh karena itu, penelitian ini penting dilakukan untuk menambah informasi terkait analisis filogenetik spesies kucing menggunakan sekuens gen CytB.

BAHAN DAN METODE

Pelaksanaan Penelitian

Tabel 1. Data Sekuens dari GenBank

No.	Genus	Spesies	Nama Inggris	Kode Akses	Panjang BP
1	Otocolobus	<i>Otocolobus manul</i>	Palla's Cat	MH978908.1	1140
2	Puma	<i>Puma concolor</i>	Cougar/Mountain Lion	NC016470.1	1140

Penelitian ini adalah penelitian in silico yang menggunakan data sekunder. Menurut Hidayat et al. (2018) dalam Subari et al. (2021) data sekunder adalah data yang dibuat oleh seseorang yang tidak ikut dalam penelitian tersebut. Pada penelitian ini data sekunder diakses dari GenBank pada tanggal 30 Oktober 2025 melalui situs <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> yang merupakan situs resmi National Center of Biotechnology Information (NCBI).

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah laptop untuk mengakses data dan bahan yang digunakan adalah data sekuens gen CytB 40 spesies kucing dan 1 spesies serigala sebagai outgroup.

Penentuan Sekuens Gen

Genome lengkap mitokondria yang terdapat di GenBank NCBI diakses, lalu ditentukan bagian sekuens gen CytB. Sekuens gen yang sudah ditentukan diunduh dan diberikan kode akses serta nama spesies untuk memudahkan penandaan.

Analisis Data dan Filogenetik

Data yang sudah didapatkan disejajarkan menggunakan ClustalW pada software MEGA 12 (Rafsanjani et al., 2024). Dihitung juga komposisi nukleotida, frekuensi kemiripan nukleotida, dan komposisi kodon yang digunakan. Rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode Maximum Likelihood (ML), dengan 1000 replikasi bootstrap

standar (Rabbani et al., 2025). Model pohon filogenetik yang digunakan adalah model Tamura-Nei. Analisis lebih lanjut untuk memperkaya data filogenetik yang diperlukan dalam studi ini dilakukan menggunakan perangkat lunak khusus, yaitu DrPhylo. Semua sekuens genetik yang menjadi dasar dari seluruh proses analisis dan perhitungan filogenetik telah dikumpulkan dan divalidasi. Daftar lengkap dari semua sekuens yang digunakan, termasuk nomor aksesinya (accession numbers) dan nama spesies terkait, dapat diperiksa secara terperinci pada Tabel 1.

3	Herpailurus	<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	Jaguarundi	KP202279.1	1140
4	Leptailurus	<i>Leptailurus serval</i>	Serval	NC028316.1	1140
5	Pardofelis	<i>Pardofelis marmorata</i>	Marbled Cat	NC028303.1	1140
6	Caracal	<i>Caracal caracal</i>	Caracal	PP566121.1	1140
7		<i>Profelis aurata</i>	African Golden Cat	NC028299.1	1140
8	Panthera	<i>Panthera uncia</i>	Snow Leopard	MT423723.1	1140
9		<i>Panthera tigris</i>	Tiger	NC010642.1	1140
10		<i>Panthera onca</i>	Jaguar	NC022842.1	1140
11		<i>Panthera pardus</i>	Leopard	MK043027.1	1140
12		<i>Panthera leo</i>	Lion	KP001506.1	1140
13	Neofelis	<i>Neofelis diardi</i>	Sunda Clouded Leopard	OP580519.1	1140
14		<i>Neofelis nebulosa</i>	Clouded Leopard	DQ257669.1	1140
15	Felis	<i>Felis catus</i>	Domestic Cat	NC001700.1	1140
16		<i>Felis margarita</i>	Sand Cat	NC028308.1	1140
17		<i>Felis nigripes</i>	Black-Footed Cat	KP202277.1	1140
18		<i>Felis silvestris</i>	European Wildcat	KP202278.1	1140
19		<i>Felis silvestris lybica</i>	African Wildcat	KP202275.1	1140
20		<i>Felis silvestris bieti</i>	Chinese Mountain Cat	KP202273.1	1140
21		<i>Felis chaus</i>	Jungle Cat	KP202274.1	1140
22	Prionailurus	<i>Prionailurus bengalensis</i>	Leopard Cat	MN121632.1	1140
23		<i>Prionailurus viverrinus</i>	Fishing Cat	KP202270.1	1140
24		<i>Prionailurus rubiginosus</i>	Rusty-Spotted Cat	KP202266.1	1140
25		<i>Prionailurus planiceps</i>	Flat-Headed Cat	KY682729.1	1140
26	Lynx	<i>Lynx rufus</i>	Bobcat	PV369935.1	1140
27		<i>Lynx pardinus</i>	Iberian Lynx	NC028319.1	1140
28		<i>Lynx lynx</i>	Eurasian Lynx	MZ672026.1	1140
29		<i>Lynx canadensis</i>	Canada Lynx	NC028313.1	1140
30	Catopuma	<i>Catopuma temminckii</i>	Asian Golden Cat	NC027115.1	1140
31		<i>Catopuma badia</i>	Bay Cat	NC028300.1	1140
32	Leopardus	<i>Leopardus jacobita</i>	Andean Cat	OR822033.1	1140
33		<i>Leopardus pardalis</i>	Ocelot	NC028315.1	1140
34		<i>Leopardus wiedii</i>	Margay	NC028318.1	1140
35		<i>Leopardus tigrinus pardinoides</i>	Clouded Tiger Cat	OR257582.1	1140
36		<i>Leopardus guttulus</i>	Southern Tiger Cat	OR822035.1	1140
37		<i>Leopardus tigrinus</i>	Northern Tiger Cat	OR822034.1	1140
38		<i>Leopardus guigna</i>	Kodkod/Guigna	NC028321.1	1140
39		<i>Leopardus geoffroyi</i>	Geoffroy's Cat	NC028320.1	1140
40		<i>Leopardus colocolo</i>	Pampas Cat	NC028314.1	1140
41	Canis	<i>Canis lupus lupus</i>	Wolves	NC009686.1	1140

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Nukelotida

Analisis mengenai komposisi nukleotida yang terdapat pada 40 spesies kucing (tanpa outgroup) menunjukkan komposisi nukleotida pada lokus genetik spesifik. Kolom awal (T(U), C, A, G, Total) menggambarkan frekuensi dari empat jenis basa nukleotida (Timin/Urasil, Sitosin, Adenin, dan

Guanin) serta panjang keseluruhan sekuens gen yang dianalisis. Kolom-kolom berlabel seperti T-1, C-2, A-3, dan seterusnya, bersama dengan indikator

Pos # (P) menggambarkan preferensi kodon yang spesifik dan dikelompokkan berdasarkan basa pada posisi kerangka baca (reading frame) atau berdasarkan jenis asam amino yang disandikan. Hasil lengkap komposisi nukleotida dalam persen dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Nukelotida 40 Spesies Kucing (%)

No.	T(U)	C	A	G	Total	T1	C1	A1	G1	P#1	T2	C2	A2	G2	P#2	T3	C3	A3	G3	P#3
1	28	30	29	13	1140	24	26	28	22	380	41	25	20	14	380	18	40	39	3	380
2	27	30	30	13	1140	24	25	29	22	380	41	26	20	14	380	17	38	40	4	380
3	28	29	30	13	1140	24	26	28	22	380	41	25	20	14	380	19	37	41	3	380
4	29	29	29	13	1140	24	26	29	21	380	41	25	20	14	380	21	36	39	4	380
5	27	31	29	14	1140	24	26	28	23	380	41	26	20	14	380	16	41	39	4	380
6	28	30	29	14	1140	24	26	27	23	380	41	25	20	14	380	18	38	39	4	380
7	28	29	29	13	1140	25	25	28	22	380	42	24	20	14	380	18	38	41	3	380
8	27	31	28	14	1140	24	26	28	22	380	41	25	20	14	380	15	43	35	7	380

9	27	30	28	14	1140	25	25	27	23	380	41	25	20	14	380	16	41	37	6	380
10	28	30	28	14	1140	24	26	28	22	380	41	25	20	14	380	18	40	37	6	380
11	28	30	27	15	1140	25	25	27	23	380	41	25	20	14	380	18	40	36	7	380
12	28	30	28	14	1140	25	26	27	23	380	41	25	20	14	380	19	38	37	5	380
13	27	31	28	14	1140	24	26	27	23	380	41	25	20	14	380	17	41	38	5	380
14	28	30	28	14	1140	24	25	27	23	380	41	26	20	14	380	19	39	37	5	380
15	27	30	29	14	1140	24	26	28	22	380	41	25	20	14	380	16	39	40	4	380
16	27	31	29	13	1140	24	26	28	22	380	41	25	20	14	380	16	40	40	4	380
17	27	30	29	14	1140	23	27	28	22	380	42	24	20	14	380	17	38	38	6	380
18	27	30	29	13	1140	23	27	28	22	380	41	25	20	14	380	17	39	41	4	380
19	27	31	29	13	1140	24	26	28	22	380	41	25	20	14	380	15	41	41	4	380
20	27	31	29	14	1140	24	26	27	22	380	41	25	20	14	380	15	41	40	4	380
21	28	30	29	13	1140	23	27	28	22	380	41	25	20	14	380	18	38	40	4	380
22	27	31	29	13	1140	24	26	28	22	380	41	26	20	14	380	16	41	39	3	380
23	27	31	29	13	1140	24	26	28	22	380	41	25	20	14	380	16	42	39	3	380
24	26	32	29	14	1140	23	26	28	22	380	42	24	20	14	380	13	44	38	5	380
25	26	31	29	14	1140	24	26	28	23	380	42	24	20	14	380	14	44	38	4	380
26	26	32	28	14	1140	23	27	28	22	380	41	25	20	14	380	13	44	37	6	380
27	26	32	29	13	1140	23	27	28	22	380	41	26	20	14	380	15	42	39	3	380
28	26	32	28	14	1140	23	27	28	22	380	41	25	20	14	380	13	45	37	6	380
29	26	32	29	14	1140	23	27	28	22	380	40	26	20	14	380	14	43	38	5	380
30	27	30	29	13	1140	24	26	28	22	380	41	25	20	14	380	16	40	39	4	380
31	27	30	30	13	1140	24	26	28	21	380	41	26	20	14	380	17	40	41	2	380
32	27	31	30	12	1140	25	25	29	21	380	41	25	20	14	380	16	41	41	2	380
33	27	31	30	13	1140	24	26	29	21	380	41	25	20	14	380	17	40	41	3	380
34	26	31	29	13	1140	23	27	28	22	380	41	26	20	14	380	16	41	40	3	380
35	27	31	29	13	1140	23	27	29	21	380	41	25	20	14	380	16	41	38	4	380
36	27	31	29	13	1140	25	25	28	22	380	41	25	20	14	380	16	42	39	3	380
37	27	30	30	12	1140	24	26	29	21	380	41	25	20	14	380	17	39	42	2	380
38	26	31	29	14	1140	23	27	28	22	380	41	26	20	14	380	15	42	39	4	380
39	25	32	29	13	1140	23	27	28	22	380	41	26	20	14	380	13	44	39	4	380
40	27	30	30	12	1140	24	26	29	21	380	41	25	20	14	380	17	40	41	2	380
Avg	27	31	29	13	1140	24	26	28	22	380	41	25	20	14	380	16	41	39	4	380

Kolom-kolom seperti T-1, C-1, A-2, dan G-3 dalam tabel menunjukkan komposisi persentase nukleotida yang dihitung secara spesifik berdasarkan letaknya dalam struktur kodon. Angka di belakang tanda hubung (-1, -2, -3) memisahkan perhitungan frekuensi basa untuk posisi kodon pertama, kedua, dan ketiga pada urutan gen CytB yang dianalisis. Setiap posisi kodon mewakili sepertiga dari total sekuens gen, di mana total hitungan basa untuk setiap posisi adalah 380 situs, yang digunakan sebagai penyebut dalam perhitungan persentase. Pembagian frekuensi basa berdasarkan posisi kodon sangat penting karena adanya tekanan seleksi evolusioner yang berbeda-beda pada setiap posisi.

Basa pada posisi kodon #1 dan #2 cenderung lebih konservatif, sebab mutasi pada kedua posisi ini biasanya menghasilkan perubahan asam amino yang bisa berdampak cukup serius pada fungsi

protein. Sebaliknya, posisi kodon #3 seringkali disebut sebagai ‘posisi goyah’ (wobble), perubahan basa dapat terjadi tanpa mengubah asam amino yang dikodekan (mutasi sinonim). Analisis menunjukkan adanya bias penggunaan kodon yang kuat, seperti tingginya persentase A-3 dan C-3 pada kucing yang merupakan petunjuk penting mengenai pola mutasi dan mekanisme evolusioner gen-gen.

Frekuensi Kemiripan Nukelotida

Analisis frekuensi pasangan basa nukleotida membandingkan urutan gen CytB dari taksa yang berbeda. Data utama berfokus pada jumlah pasangan yang identik (ii), transisi (si), dan transversi (sv), yang menggambarkan pola mutasi yang terjadi.

Frekuensi-frekuensi ini digunakan untuk menghitung rasio kunci $R = si/sv$. Data analisis lengkap dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Frekuensi Kemiripan Nukleotida

	ii	si	sv	R	TT	TC	TA	TG	CT	CC	CA	CG	AT	AC	AA	AG	GT	GC	GA	GG	Total
Avg	1011	117	12	9	262	43	2	0	45	300	3	1	2	4	311	17	0	0	13	138	1140

1st	359	20	2	12	84	6	0	0	7	92	0	0	0	1	102	4	0	0	3	80	380
2nd	374	5	0	18	153	2	0	0	3	93	0	0	0	0	76	0	0	0	0	53	380
3rd	278	92	10	9	25	35	1	0	35	116	3	0	2	3	133	12	0	0	10	4	380

Berdasarkan data yang disajikan, pasangan basa diklasifikasikan menjadi tiga kategori utama, pasangan Identik (ii) yaitu TT, CC, AA, dan GG. Sementara itu, pasangan Transisi (si) yaitu TC, CT, AG, dan GA. Terakhir, pasangan Transversi (sv) yaitu TA, TG, CA, CG, AT, AC, GT, dan GC. Pola ini secara jelas menunjukkan bahwa pasangan identik menyumbang frekuensi tertinggi, diikuti oleh transisi, dengan transversi menjadi jenis perubahan yang paling jarang diamati dalam domain genetik ini. Frekuensi-frekuensi ini digunakan untuk menghitung rasio kunci $R = si/sv$, yang menunjukkan dominasi mutasi transisi (Purin ke Purin atau Pirimidin ke Pirimidin) atas transversi. Secara keseluruhan (Avg), ditemukan rasio R yang sangat tinggi (9), menandakan bahwa mutasi transisi jauh lebih umum daripada transversi dalam domain genetik yang dianalisis. Kolom tambahan merinci frekuensi spesifik dari 16 kemungkinan pasangan basa yang berkontribusi pada total frekuensi perubahan tersebut.

Pola mutasi ini selanjutnya dianalisis berdasarkan posisi nukleotida dalam kodon (1st, 2nd, dan 3rd). Posisi ke-2 paling konservatif dan

sensitif terhadap perubahan asam amino, sehingga menunjukkan frekuensi sv (transversi) yang nol dan frekuensi si (transisi) yang sangat rendah, menunjukkan seleksi negatif yang kuat. Hal tersebut menyebabkan posisi ke-2 menghasilkan rasio R tertinggi (18), karena hampir semua mutasi transversi yang merusak telah dieliminasi. Sebaliknya, posisi ke-3 dikenal sebagai posisi "wobble" yang sering menghasilkan mutasi sinonim (tanpa mengubah asam amino). Hal ini membuat Posisi ke-3 menjadi yang paling permisif terhadap mutasi, ditunjukkan oleh frekuensi si dan sv tertinggi, dan rasio R yang paling rendah (8).

Komposisi Kodon

Komposisi kodon yang juga dikenal sebagai frekuensi penggunaan kodon (codon usage frequency), adalah analisis tentang seberapa sering setiap dari 64 kodon (triplet nukleotida yang menyusun kode genetik) digunakan dalam gen suatu organisme atau dalam sekumpulan gen tertentu. Data terkait komposisi kodon dari gen CytB 40 spesies kucing dapat dilihat secara lengkap pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi Kodon

Codon	Count	RSCU	Codon	Count	RSCU	Codon	Count	RSCU	Codon	Count	RSCU
UUU(F)	7,80	0,61	UCU(S)	2,90	0,64	UAU(Y)	5,00	0,65	UGU(C)	0,80	0,39
UUC(F)	17,70	1,39	UCC(S)	8,30	1,84	UAC(Y)	10,30	1,35	UGC(C)	3,20	1,61
UUA(L)	7,30	0,77	UCA(S)	14,30	3,16	UAA(*)	0,00	0,00	UGA(*)	11,20	3,00
UUG(L)	0,80	0,08	UCG(S)	0,40	0,09	UAG(*)	0,00	0,00	UGG(W)	0,80	1,00
CUU(L)	5,10	0,53	CCU(P)	4,30	0,77	CAU(H)	3,50	0,54	CGU(R)	0,50	0,32
CUC(L)	12,30	1,29	CCC(P)	7,90	1,43	CAC(H)	9,40	1,46	CGC(R)	1,50	0,89
CUA(L)	28,40	2,98	CCA(P)	9,20	1,66	CAA(Q)	5,60	1,87	CGA(R)	6,60	3,99
CUG(L)	3,40	0,35	CCG(P)	0,80	0,14	CAG(Q)	0,40	0,13	CGG(R)	0,30	0,20
AUU(I)	14,70	0,85	ACU(T)	3,50	0,56	AAU(N)	3,80	0,48	AGU(S)	0,30	0,06
AUC(I)	26,10	1,51	ACC(T)	10,80	1,74	AAC(N)	11,90	1,52	AGC(S)	1,00	0,21
AUA(I)	11,20	0,65	ACA(T)	10,30	1,66	AAA(K)	7,90	1,76	AGA(R)	1,00	0,60
AUG(M)	3,00	1,00	ACG(T)	0,20	0,04	AAG(K)	1,10	0,24	AGG(R)	0,00	0,00
GUU(V)	3,00	0,66	GCU(A)	2,60	0,46	GAU(D)	2,80	0,50	GGU(G)	1,70	0,25
GUC(V)	5,40	1,20	GCC(A)	10,60	1,87	GAC(D)	8,20	1,50	GGC(G)	9,60	1,46
GUA(V)	8,90	1,99	GCA(A)	8,80	1,54	GAA(E)	5,50	1,80	GGA(G)	12,30	1,88
GUG(V)	0,70	0,16	GCG(A)	0,70	0,12	GAG(E)	0,60	0,20	GGG(G)	2,70	0,41

Tabel diatas menyajikan pola penggunaan kodon dari gen CytB pada 40 spesies kucing yang merinci frekuensi setiap dari 64 kodon. Setiap baris

mencantumkan kodon spesifik, asam amino yang dikodekan, jumlah kemunculan absolut (count), dan yang terpenting, nilai RSCU (Relative Synonymous

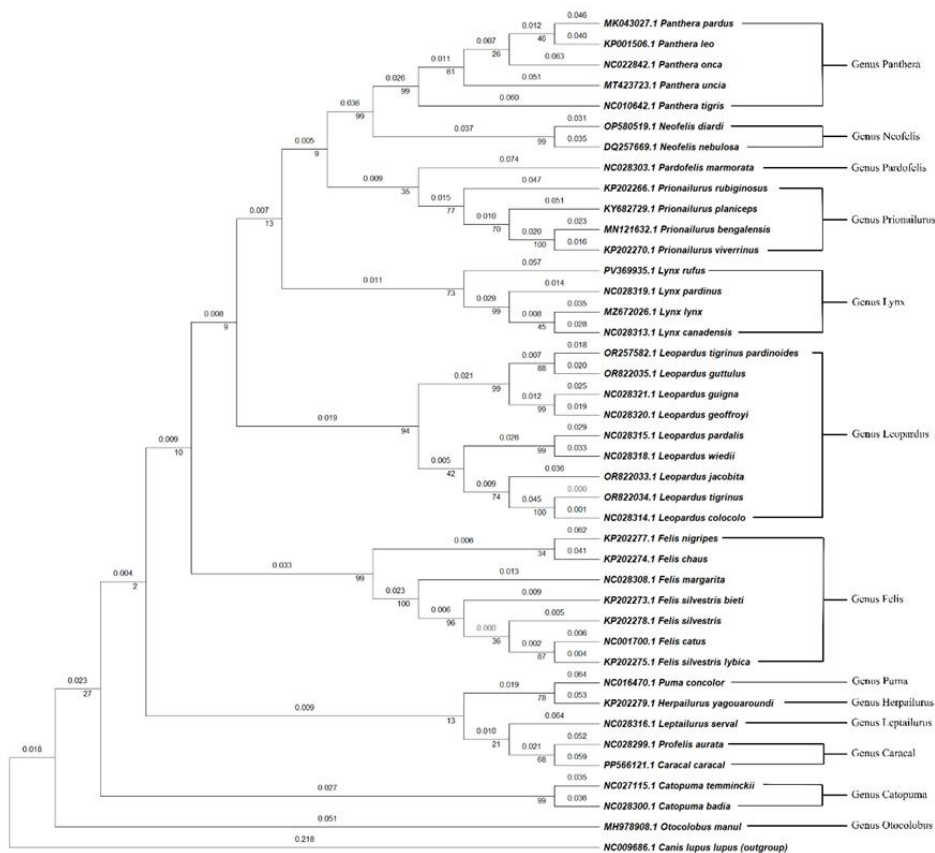
Codon Usage). Nilai count menunjukkan seberapa banyak kodon tersebut ditemukan dalam sekuens gen CytB yang dianalisis, memberikan data frekuensi mentah. Kolom-kolom tersebut membentuk gambaran tentang bagaimana materi genetik diterjemahkan.

Nilai RSCU adalah metrik utama untuk mengukur sejauh mana terjadi bias penggunaan kodon dalam organisme atau domain ini. Kodon dengan nilai RSCU di atas 1,000, seperti CUA(L) dengan 2,98, menunjukkan bahwa kodon tersebut lebih disukai dan lebih sering digunakan daripada kodon sinonimnya untuk asam amino Leusin. Sebaliknya, RSCU di bawah 1,00, seperti UUU(F) yang hanya 0,39, mengindikasikan kodon tersebut kurang disukai dibandingkan kodon lain yang mengkodekan Fenilalanin.

Bias ini sangat penting karena mempengaruhi kecepatan dan akurasi sintesis protein. Secara keseluruhan, data RSCU menegaskan bahwa data ini tidak menggunakan kodon sinonim secara acak, melainkan memilih kodon tertentu untuk efisiensi genetik.

Rekonstruksi Pohon Filogenetik

Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan metode Maximum Likelihood (ML), yang bekerja dengan memperkirakan model evolusi terbaik dan parameter yang paling mungkin menghasilkan data sekuens yang diamati. Metode ML secara statistik menguji hipotesis hubungan kekerabatan antar taksa dengan memaksimalkan fungsi kemungkinan (likelihood) untuk topologi pohon tertentu, menjadikannya salah satu pendekatan yang paling kuat dalam filogenetik molekuler. Untuk menilai keandalan dan kekuatan dukungan cabang-cabang (nodes) pada pohon yang direkonstruksi, dilakukan 1000 replikasi bootstrap. Nilai bootstrap yang dihasilkan dari replikasi ini menunjukkan persentase berapa kali kelompok taksa tertentu dikelompokkan bersama di antara semua pohon bootstrap yang dihasilkan. Nilai dukungan bootstrap yang tinggi (misalnya, >70%) memberikan indikasi kuat bahwa hubungan evolusioner pada cabang tersebut andal dan signifikan secara statistik. Pohon filogenetik dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pohon Filogenetik

Pohon filogenetik menunjukkan bahwa famili Felidae terbagi menjadi delapan klad utama atau garis keturunan pada tingkat genus, yang didukung oleh pengelompokan yang sangat kuat. Klad-klad ini, dilihat dari pengelompokan di sebelah kanan, terdiri dari *Panthera*, *Neofelis*, *Pardofelis*, *Prionailurus*, *Lynx*, *Leopardus*, *Felis*, dan klad gabungan yang mencakup *Puma*, *Herpailurus*, *Leptailurus*, *Caracal*, *Catopuma*, dan *Otocolobus*. Setiap cabang utama didukung oleh nilai bootstrap yang tinggi, seringkali mencapai 99 atau 100, menunjukkan keandalan dari hubungan kekerabatan yang direkonstruksi. Garis keturunan yang paling awal berpisah, atau nenek moyang yang paling tua, dari semua anggota Felidae yang ada adalah genus *Otocolobus* (kucing Pallas).

Hal tersebut ditunjukkan oleh percabangan (node) yang paling dekat dengan akar pohon (garis terpanjang bernilai 0,218), sebelum percabangan takson Felidae lainnya, dan memiliki pemisahan yang jelas dari kelompok outgroup *C. lupus* (serigala). Pemisahan awal menunjukkan bahwa *Otocolobus* menjadi garis keturunan yang telah berevolusi secara independen untuk jangka waktu yang paling lama di antara taksa kucing lainnya yang ditampilkan, menjadikannya perwakilan dari garis keturunan Felidae tertua. Klad atau hubungan yang menunjukkan evolusi paling baru ditandai oleh panjang cabang yang paling pendek dan percabangan terakhir pada tingkat spesies. Secara umum, genus *Panthera* dan *Neofelis* menunjukkan divergensi yang relatif baru dari nenek moyang bersama mereka dibandingkan pemisahan awal *Otocolobus*. Lebih spesifik lagi, cabang yang memiliki perbedaan genetik terkecil (ditunjukkan oleh nilai cabang yang sangat kecil) dan berada di ujung (terminal) pohon dapat dianggap yang paling baru berevolusi. Contohnya adalah hubungan antara *P. pardus* dan *P. onca*, atau antara *F. silvestris bieti* dan *F. silvestris*, yang menunjukkan jarak genetik yang sangat kecil (0,000) dan percabangan terbaru, mengindikasikan bahwa spesies-spesies tersebut baru-baru ini menyimpang satu sama lain.

Uji DrPhylo (M-Grid)

Analisis ini menggunakan metode Evolutionary Sparse Learning (ESL) untuk memastikan apakah sekelompok spesies (klad)

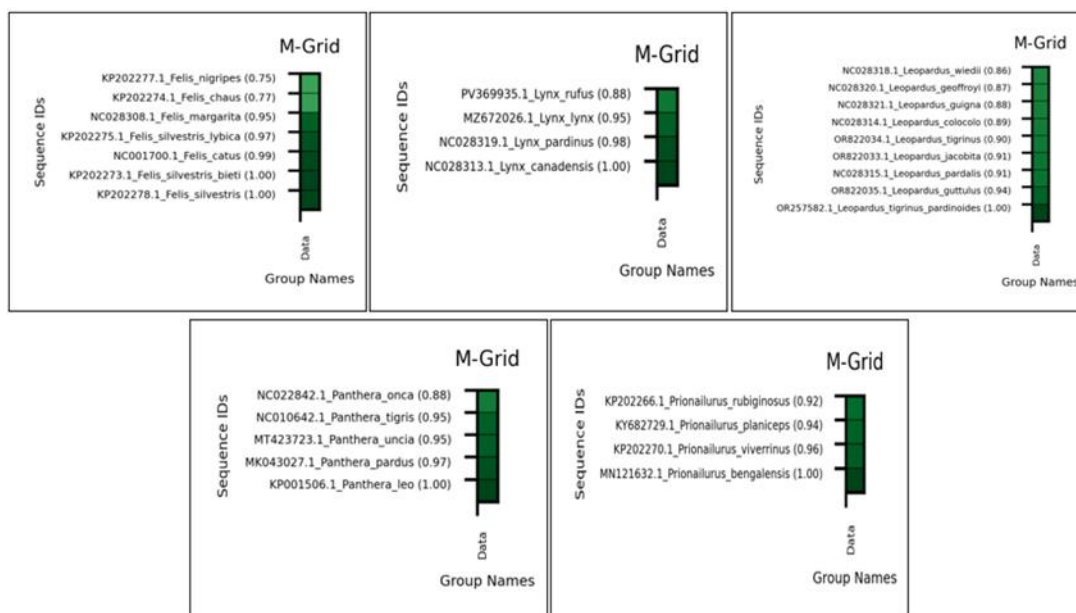
memang merupakan satu tim evolusi, meskipun matriks awalnya mencakup 40 spesies. Uji ini akan berfokus pada spesies dari masing-masing klad menggunakan Probabilitas Klasifikasi Spesies (SCP) sebagai skor kepercayaan bahwa mereka adalah anggota tim, nilai mendekati 1.0 menunjukkan keyakinan sangat tinggi bahwa sekelompok spesies merupakan satu klad. Skor SCP ini ditentukan oleh Konkordansi Gen-Spesies (GSC) yang berfungsi sebagai bukti kecocokan gen di mana warna hijau menandakan gen mendukung pengelompokan, sementara warna *magenta* menunjukkan gen menentangnya dan tanda silang (cross-mark) berarti data gen tersebut hilang. Penempatan spesies dengan SCP terendah di bagian kiri atas bertujuan untuk menyoroti kasus-kasus yang paling perlu dipertanyakan, menunjukkan bahwa analisis ini tidak hanya mengumpulkan data tetapi juga menjadi solusi ketidakpastian pengelompokan. Uji ini hanya dapat dilakukan terhadap klad yang memiliki setidaknya 3 spesies. Terdapat 5 klad yang memiliki setidaknya 3 spesies yang bisa dianalisis yaitu *Felis*, *Lynx*, *Leopardus*, *Panthera*, dan *Prionailurus* pada Gambar 2.

Analisis M-Grid sangat efektif dalam memvisualisasikan pengelompokan genetik dari berbagai spesies dalam famili Felidae menjadi lima kelompok utama. Masing-masing kelompok diwakili oleh sebuah plot, di mana Sequence IDs (urutan sampel) dibandingkan dengan kelompok referensi. Panjang dan kegelapan bilah hijau di kolom mencerminkan tingkat kepercayaan urutan tersebut termasuk dalam kelompok tersebut, dengan nilai 1.00 menunjukkan kecocokan genetik yang paling kuat. Kelompok pertama mengelompokkan spesies kucing liar kecil seperti *F. silvestris* dan *F. chaus*, yang menunjukkan hubungan yang sangat dekat dengan kepercayaan berkisar antara 0.75 hingga 1.00.

Kelompok kedua, yang berfokus pada genus *Lynx*, juga menunjukkan pengelompokan yang sangat ketat dengan nilai kepercayaan tinggi (0.88 hingga 1.00), mengonfirmasi hubungan kekerabatan yang kuat di antara spesies *Lynx*. Kelompok ketiga, yang melibatkan genus *Leopardus* dan kerabatnya seperti *margay* dan *ocelot*, memperlihatkan nilai kepercayaan yang bervariasi dari 0.88 hingga 0.94. Variasi ini

mungkin mengindikasikan bahwa meskipun dikelompokkan bersama, terdapat sedikit perbedaan genetik atau jarak evolusi yang lebih besar di antara spesies *Leopardus* dibandingkan dengan kelompok *Lynx* yang lebih homogen. Kelompok keempat berisi kucing-kucing besar dalam genus *Panthera*, termasuk harimau (*P. tigris*), singa (*P. leo*), dan macan tutulSalju (*P. uncia*). Urutan-urutan *Panthera* ini hampir semuanya mencapai nilai kepercayaan 0.95 hingga 1.00, yang menegaskan bahwa genus ini merupakan kelompok monofiletik yang kuat dan terdefinisi dengan baik. Kelompok kelima fokus pada genus *Prionailurus*, yang meliputi kucing bengal dan kucing tanduk, dan

menunjukkan kepercayaan tinggi antara 0.92 hingga 1.00. M-Grid tersebut memberikan validasi visual yang kuat mengenai struktur filogenetik utama dalam keluarga kucing berdasarkan urutan sampel yang diuji. Penggunaan skala kepercayaan membantu mengidentifikasi seberapa pasti setiap urutan sampel milik kelompok yang diwakilinya. Urutan dengan nilai 1.00, seperti *P. leo* atau *F. silvestris*, bertindak sebagai urutan referensi yang sangat pasti untuk kelompok mereka. Adanya pemisahan yang jelas menjadi lima plot yang berbeda menunjukkan bahwa analisis ini berhasil mengidentifikasi perbedaan genetik antar-genus secara signifikan.



Gambar 2. Uji DrPhylo (M-Grid) 5 Klad

Gen Cytochrome-b (CytB) mitokondria merupakan penanda genetik yang sangat sesuai dan kuat untuk analisis hubungan kekerabatan Felidae. Kesesuaian ini didukung oleh nilai Probabilitas Klasifikasi Spesies (SCP) yang tinggi (mendekati 1.00) pada sebagian besar klad, yang memvalidasi bahwa pengelompokan genus yang direkonstruksi sangat andal. Pola frekuensi kemiripan nukleotida menunjukkan bahwa pasangan identik (ii) menyumbang frekuensi tertinggi (1011 dari 1140 situs secara rata-rata), mengindikasikan bahwa sebagian besar situs gen ini konservatif dan stabil antar spesies. Selain itu, metode Maximum Likelihood (ML) yang digunakan adalah salah satu pendekatan filogenetik molekuler paling kuat yang

memaksimalkan fungsi kemungkinan untuk topologi pohon yang terbaik. Keandalan model ini diperkuat oleh nilai bootstrap yang tinggi pada cabang-cabang utama pohon, yang sering mencapai 99 atau 100.

Data gen CytB menunjukkan beberapa keterbatasan yang tercermin dalam pola mutasi dan penggunaan kodon. Keterbatasan utama adalah tingginya tingkat mutasi transisi (si) dibandingkan transvers (sv), yang ditunjukkan oleh rasio R yang sangat tinggi (9 secara keseluruhan). Dominasi transisi dapat menyebabkan fenomena saturasi pada analisis sekuens gen, di mana urutan genetik yang telah menyimpang jauh tidak lagi menunjukkan hubungan linear antara perubahan sekuens dan

waktu divergensinya. Adanya bias penggunaan kodon yang kuat, di mana beberapa kodon lebih disukai ($RSCU > 1.00$) daripada sinonimnya, seperti CUA(L) (2.98), menegaskan bahwa materi genetik tidak diterjemahkan secara acak. Fenomena RSCU ini merupakan petunjuk penting mengenai pola mutasi dan mekanisme evolusioner gen-gen, namun dapat mempengaruhi hasil perhitungan jarak genetik.

Pola evolusi spesies kucing dapat dijelaskan melalui analisis spesifik pada posisi kodon gen CytB yang dianalisis. Posisi kodon kedua (P#2) menunjukkan tingkat konservasi tertinggi dengan frekuensi transversi (sv) yang nol dan rasio R mencapai 18. Konservasi ini terjadi karena mutasi pada posisi kedua biasanya menghasilkan perubahan asam amino yang bisa berdampak serius pada fungsi protein, sehingga dieliminasi oleh seleksi negatif yang kuat. Sebaliknya, posisi kodon ketiga (P#3) bertindak sebagai 'posisi goyah' (wobble), menghasilkan frekuensi mutasi (si dan sv) tertinggi dan rasio R terendah (8). Perubahan basa pada posisi ketiga seringkali menghasilkan mutasi sinonim (tanpa mengubah asam amino), memungkinkan akumulasi mutasi ini karena seleksi alam yang lebih longgar, yang secara kumulatif mendorong divergensi genetik antar spesies.

Pohon filogenetik yang dihasilkan membagi Felidae menjadi delapan klad genus utama, didukung oleh nilai bootstrap yang menunjukkan keandalan yang luar biasa. Divergensi genetik yang ditunjukkan oleh panjang cabang pada pohon (misalnya, 0.218 untuk pemisahan Otolobus) mencerminkan waktu evolusioner yang relatif lama sejak nenek moyang bersama. Meskipun data CytB terutama menangkap mutasi genetik sebagai mekanisme perubahan, evolusi spesies di lapangan Analisis pohon filogenetik dan nilai M-Grid mengungkap beberapa spesies yang menunjukkan divergensi genetik terkecil, yang mengindikasikan mereka baru-baru ini berpisah atau bergabung dalam klad yang sama. Dalam Genus Felis, hubungan antara *F. silvestris bieti* dan *F. silvestris* menunjukkan jarak genetik yang sangat kecil (0.000) dan percabangan terbaru, menyiratkan divergensi yang sangat baru. Demikian pula, dalam Genus Panthera, hubungan antara *P. pardus* dan *P. onca* juga menunjukkan jarak genetik 0.000.

Profelis aurata dalam pohon filogenetik secara genetik dikelompokkan erat dengan *Caracal caracal*. Klad gabungan yang mencakup *Profelis aurata* dan *Caracal caracal* menunjukkan bahwa spesies-spesies ini memiliki kekerabatan yang sangat dekat dan kemungkinan besar merefleksikan revisi taksonomi, seperti pemindahan *P. aurata* ke dalam genus *Caracal* yang didukung oleh bukti molekuler ini.

KESIMPULAN

Analisis filogenetik famili Felidae menggunakan gen Cytochrome-b (CytB) mitokondria berhasil membagi spesies kucing menjadi delapan klad genus utama yang sangat terpercaya, didukung oleh nilai bootstrap yang tinggi. Gen CytB terbukti merupakan penanda yang kuat, dengan sebagian besar situs bersifat konservatif. Terdapat bukti kuat adanya bias penggunaan kodon dan dominasi mutasi transisi (rasio R tinggi). Pohon filogenetik menunjukkan Genus *Otolobus* sebagai garis keturunan Felidae tertua yang berpisah paling awal. Selain itu, Uji M-Grid mengonfirmasi pengelompokan lima klad utama (*Felis*, *Lynx*, *Leopardus*, *Panthera*, *Prionailurus*) dengan tingkat kepercayaan tinggi (SCP mendekati 1.00).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pengampu atas arahan, masukan, dan dukungan akademik yang diberikan selama proses pelaksanaan dan penyusunan penelitian ini. Penulis juga berterima kasih kepada pihak yang menyediakan akses terhadap sumber data dan perangkat lunak yang digunakan dalam analisis penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

Semua penulis berkolaborasi dalam melaksanakan setiap tahap penelitian dan penulisan naskah.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada intervensi kepentingan dalam kegiatan penelitian ini.

REFERENSI

Burhanuddin, M.I., Mustikaningtyas, D., Anggraito, Y.U. (2025). DNA Barcoding

- sebagai Pilar Bank Genetik: Analisis Sistematis Konservasi *Kappaphycus alvarezii* di Indonesia. *BioTeach: Biology Science and Biology Education Journal*. 2(2). 62-68.
<https://doi.org/10.62330/bioteach.v2i02.317>
- Fernández Sepúlveda, J., & Martin, C.A. (2022). Conservation status of the World's Carnivorous Mammals (order Carnivora). *Mammalian Biology*. 102(1). 1911-1925.
<https://doi.org/10.1007/s42991-022-00305-8>
- Gómez Lépiz, A., Sampaio, S., Hughes, J.J., Valdés, S.M.C., Alves, P.C., Paupério, J., & Searle, J.B. (2024). A First Species-wide Phylogenetic Analysis of Small Mammals from Costa Rica Using Mitochondrial Cytochrome b. *Mamal Research*. 69(1). 365-378. <https://doi.org/10.1007/s13364-024-00747-0>
- Hassan Beigi, Y., Rodrigues, M., Adibi, A.A., Madjdzadeh, A.M., Vercammen, P., Farhadinia, M.S., Rodríguez Fernandes, C., (2022). Mitochondrial DNA Variation of the Caracal (*Caracal caracal*) in Iran and Range wide Phylogeographic Comparisons. *Mammalian Biology*. 1(1). 1-25.
<https://doi.org/10.1007/s42991-022-00328-1>
- Kitchener A.C., Breitenmoser-Würsten C.H., Eizirik E., Gentry A., Werdelin L., Wilting A., Yamaguchi N., Abramov A. V., Christiansen P., Driscoll C., Duckworth J. W., Johnson W., Luo S.-J., Meijaard E., O'Donoghue P., Sanderson J., Seymour K., Bruford M., Groves C., Hoffmann M., Nowell K., Timmons Z. & Tobe S. (2017). A revised taxonomy of the Felidae. The final report of the Cat Classification Task Force of the IUCN/ SSC Cat Specialist Group. *Cat News Special Issue* 11, 80 pp.
- Li, G., Davis, B.W., Eizirik, E., & Murphy, W.J. (2016). Phylogenomic Evidence for Ancient Hybridization in the Genomes of Living Cats (Felidae). *Genome Research*. 26(1). 1-11.
<http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.186668.114>
- Lyons, L.A., Buckley, R.M., Harvey, R.J., Aberdein, D., Andersson, A.O., Bergstrom, T.F., Boyko, A.R., Casal, M.L., Davis, B.W., Distl, O., Ellinwood, N.M., Forman, O.P., Ginns, E.I., Hasegawa, D., Jagannathan, V., Hernandez, I., Kaukonen, M., Leclerc, E., Leeb, T., Lohi, H., Magnuson, M.A., Mane, S.P., Munday, J.S., Mayrs, A.n., Peterson-Jones, S.M., Rusbridge, C., Shapiro, B., Swanson, W.F., Todhunter, R.J., , E.A., & yu, Y. (2021). Mining the 99 Lives Cat Genome Sequencing Consortium database implicates genes and variants for the Ticked locus in domestic cats (*Felis catus*). *Animal Genetics*. 52(1). 321-332.
<https://doi.org/10.1111/age.13059>
- Matsumoto, Y., Chung, C.Y., Isobe, S., Sakamoto, M., Lin, X., Chan, T., Hirakawa, H., Ishihara, G., Lam, H., Nakayama, S., Sasamoto, S., Tanizawa, Y., Watanabe, A., Watanabe, K., Yagura, M., Niimura, Y., & Nakamura, Y. (2025). Chromosome-scale Assembly with Improved Annotation Provides Insight into Breed-wide Genomic Structure and Diversity in Domestic Cats. *Journal of Advanced Research*. 75(1). 863-876.
<https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.10.023>
- Permadi, J., Sukmarani, D., & Rahayu, Y. (2023). Analisis Bioinformatik Gen Cytb untuk Menduga Potensi Domestikasi Ikan Mahseer Genus *Tor* spp.. *AGRIKAN - Jurnal Agribisnis Perikanan*. 16(1). 146-108.
<https://doi.org/10.52046/agrikan.v16i1.146-151>
- Puspitasari, A., Budiarsa, I.M., Ashari, A., Trianto, M., Dhafir, F., & Windarsih, Y. (2025). Analisis Filogenetik Cryptic Species Apis Cerana Fabricius, 1793 Berdasarkan Gen 16S rRNA. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*. 13(1). 521-530.
<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i1.14967>
- Rabbani, C.N., Damayanti, A.E., Sulung, C.A.V.T., Rahayu, D.A., Nugroho, E.D., Rusdianto, R., & Mamat, N.B., (2025). Morphology and Molecular Identification of Cyprinidae

- from the Sumber Umbulan Ngenep, Malang Regency, East Java. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*. 7(2). 142-159.
<https://doi.org/10.26740/jrba.v7n2.p142-159>
- Rafsanjani, D., Nugraha, W.Aa., & Insafitri, (2024). DNA Barcoding dan Filogeni Molekuler Belangkas *Tachypleus* (Horseshoe crab) dari Pulau Madura, Jawa Timur, Indonesia. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*. 8(3). 259-268.
<https://doi.org/10.46252/jsai-fpik-unipa.2024.Vol.8.No.3.395>
- Ruiz-García, M., Pinedo-Castro. M., & Shostell, J.M., (2023). Morphological and Genetics Support for a Hitherto Undescribed Spotted Cat Species (Genus *Leopardus*; Felidae, Carnivora) from the Southern Colombian Andes. *Genes*. 14(1266). 1-21.
<https://doi.org/10.3390/genes14061266>
- Subari, A., Razak, A., & Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic Analysis of *Rasbora* spp. Based on the Mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*. 21(1). 89-94.
<http://dx.doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2351>
- Wang, C., Sun, Q., & Zhang, W. (2025). Pan-mitochondrial genomic analysis of *Felis catus*: Insights into cat domestication. *Journal of Wildlife and Biodiversity*. 9(3). 176-191.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.17381813>
- Yu. J., Yu, X., Bi, W., Li, Z., Zhou, Y., Ma, R., Feng, F., Huang, C., Gu, J., Wu, We, Lan, G., Zhang, L., Chen, C., Xue, F., & Liu, J. (2025). Mitogenome Diversity and Phylogeny of Felidae Species. *Diversity*. 17(634). 1-15.
<https://doi.org/10.3390/d17090634>