



Klasifikasi Accipitriformes dan Falconiformes Berdasarkan Penanda DNA Parsial Cytochrome Oxidase 1 (CO1) secara In Silico

Classification of Accipitriformes and Falconiformes Based on In Silico Partial DNA Marker Cytochrome Oxidase 1 (CO1)

Renandy Kristianlie Ekajaya¹, Chayra Endlessa¹, Amalia Putri Salsabila¹, Siti Ratu Rahayu Ningrum¹, Topik Hidayat^{1*}

¹Program Studi Biologi, Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia

Jl. Dr. Setiabudi No. 229, Bandung 40154, West Java, Indonesia

Email: topikhidayat@upi.edu

*Penulis Korespondensi

Abstract

The category of birds of prey or raptors is divided into 3 main orders: Accipitriformes, Falconiformes, and Strigiformes. The classification between Accipitriformes and Falconiformes is still debated because the species have morphological similarities but differ in eating behavior. The existing classification of the birds' orders is based on their behavior when ambushing and killing prey. Therefore, the study aimed to prove the difference between two orders with a DNA molecular approach. This study used secondary data of partial DNA marker sequences named cytochrome oxidase subunit 1 (COI) from 15 species of each order and 1 species of Strigiformes as the outgroup. Data is analyzed with Clustal-X and PAUP software. The results show that all species have a high degree of DNA homology. The reconstruction of the phylogenetic tree classifies the two orders into monophyletic groups that form two distinct clusters. Thus, this study has proven that Accipitriformes and Falconiformes differ based on their eating behavior and their genetic. Nevertheless, further studies should be conducted to improve the reliability of the phylogenetic relationship of both orders by adding the number of secondary samples, the type of genetic marker, and primary data.

Keywords: Accipitriformes, cytochrome oxidase subunit 1, Falconiformes, phylogenetic, order

Abstrak

Kategori burung pemangsa atau *raptors* dibagi ke dalam 3 ordo utama, yaitu Accipitriformes, Falconiformes, dan Strigiformes. Klasifikasi antara ordo Accipitriformes dan Falconiformes sering menjadi perdebatan karena spesies-spesiesnya memiliki kesamaan morfologi, namun berbeda saat memakan mangsa. Klasifikasi burung pemangsa yang telah ada memisahkan kedua ordo tersebut berdasarkan perilakunya saat menyergap dan membunuh mangsa. Maka, tujuan penelitian adalah untuk membuktikan pemisahan kedua ordo dengan pendekatan molekuler berupa data DNA. Penelitian ini menggunakan data sekunder sekuens penanda genetik DNA parsial *cytochrome oxidase subunit 1* (COI) dari 15 spesies masing-masing ordo dan 1 spesies Strigiformes sebagai *outgroup*. Data diolah dengan menggunakan *software* Clustal-X dan PAUP. Hasilnya menunjukkan bahwa semua spesies memiliki tingkat homologi yang tinggi berdasarkan sekuens DNA-nya. Rekonstruksi pohon filogenetik mengklasifikasi kedua ordo ke dalam kelompok monofiletik yang membentuk dua *cluster* berbeda. Penelitian ini telah membuktikan bahwa Accipitriformes dan Falconiformes tidak hanya berbeda berdasarkan perilaku makann saja, melainkan namun juga berdasarkan genetik dari kedua ordo. Meskipun begitu, studi lebih lanjut perlu dilakukan untuk meningkatkan reliabilitas hubungan filogenetik kedua ordo dengan menambahkan jumlah sampel sekunder, jenis penanda genetik, dan data primer.

Kata kunci: Accipitriformes, cytochrome oxidase subunit 1, Falconiformes, filogenetik, ordo

Diterima : 9 Maret 2023, Direvisi : 1 Juli 2023, Disetujui : 1 Juli 2023



Pendahuluan

Aves merupakan salah satu hewan tingkat kelas dengan ordo paling banyak dibandingkan kelas dari filum Chordata lainnya. Menurut Clements *et al.* (2021), Aves terdiri atas 41 ordo. Di seluruh dunia diperkirakan terdapat sekitar 8.800 – 10.200 spesies burung. Indonesia sendiri mempunyai 1.594 spesies burung dan menjadi negara kelima terbesar dunia dengan spesies burung terbanyak (Conservation International, 2018).

Dari puluhan ordo Aves yang ada, pengklasifikasian dua ordo tertentu dinilai kontroversial karena memiliki ciri morfologis yang serupa, namun diletakkan pada ordo yang berbeda. Kedua ordo ini termasuk ke dalam kelompok burung pemangsa yang merupakan predator puncak dalam setiap komunitas biotik terestrial (Cho *et al.*, 2019). Secara umum, kelompok dengan nama lain *raptors* ini terdiri atas tiga ordo burung pemangsa, yakni Accipitriformes (elang, burung bangkai, dan kite), Falconiformes (falkon dan caracara), dan Strigiformes (burung hantu) (Cho *et al.*, 2019). Berbeda dengan Strigiformes yang merupakan burung nokturnal, Accipitriformes dan Falconiformes telah beradaptasi untuk memburu dan memakan daging pada siang hari sehingga memiliki karakteristik morfologi yang sama (Zhan *et al.*, 2013). Akan tetapi, adanya perbedaan perilaku saat anggota Accipitriformes dan Falconiformes memakan mangsa menyebabkan kedua ordo tersebut dipisahkan dalam cara klasifikasinya. Menurut Sustaita (2008), keduanya menggunakan kaki untuk menangkap mangsa, namun elang umumnya membunuh dengan kaki sedangkan falkon dengan paruh. Lebih lanjut, burung elang cenderung menyergap mangsanya dengan gerakan ekor, lalu merentangkan kakinya ke depan dan menggunakan cakarnya untuk membunuh mangsa dengan mencekik atau merusak organ vitalnya (Csermely & Gaibani, 1998). Sementara itu, burung falkon membunuh dengan menggigit mangsanya, dengan bantuan gigi tomial, untuk merusak vertebra serviks dan sumsum tulang belakang (Csermely, 1998).

Studi filogenetik bertujuan untuk merekonstruksi sejarah evolusi sekelompok

makhluk hidup (Hillis, 1987) dan umumnya dilakukan berdasarkan ciri morfologi. Meskipun demikian, pendekatan filogenetik berbasis morfologi tidak selalu objektif sebab karakter tersebut dipengaruhi oleh lingkungan sehingga bersifat inkonsisten. Oleh karena itu, kemajuan teknologi sekuensing DNA dan *software* yang terlibat telah merevolusi proses pembentukan taksonomi makhluk hidup (Maddison *et al.*, 2012).

Pendekatan genetik dengan data molekuler berupa sekuens DNA dinilai lebih akurat dan konsisten dibandingkan data morfologi. Hal ini disebabkan seluruh informasi yang diwariskan dan diekspresikan menjadi ciri morfologi terkode dalam DNA (Hillis, 1987). Teknik klasifikasi ini menggunakan penanda DNA, yaitu sekuens DNA pendek dari daerah genom yang telah terstandarisasi (Hebert *et al.*, 2004), untuk mengidentifikasi spesies.

Saat data morfologi dinilai kurang akurat, identifikasi spesies secara genetik dapat mencocokkan informasi yang tidak diketahui dengan referensi berupa *database* sekuens gen. Salah satu contohnya adalah lokus DNA mitokondria (mtDNA) yang diketahui bervariasi antar spesies. Adapun gen yang paling umum digunakan sebagai penanda genetik dalam identifikasi spesies adalah sitokrom b (*cytochrome b*) (Verma *et al.*, 2003 & Branicki *et al.*, 2003). Kelebihan gen mitokondria adalah jumlah salinan yang tinggi sehingga memungkinkan hasil mtDNA yang lebih besar untuk dipulihkan dari sampel dibandingkan dengan DNA inti (Carracedo *et al.*, 2000). Selain itu, pengembangan teknologi DNA *barcode* telah memunculkan dugaan bahwa gen mtDNA sitokrom c oksidase I (*cytochrome oxidase I* atau COI) dapat digunakan sebagai penanda genetik untuk sebagian besar kehidupan hewan (Herbert *et al.*, 2003 & Herbert *et al.*, 2003).

Berdasarkan penjelasan sebelumnya, studi filogenetik yang objektif dan reliabel sebaiknya selaras antara data morfologi dan molekuler. Keselarasan tersebut menjadi bukti kuat pembedaran sejarah evolusi yang diduga telah terjadi. Namun, adanya perdebatan menunjukkan bahwa data tambahan diperlukan untuk menyelesaikan masalah taksonomi (Hillis, 1987). Oleh karena itu, klasifikasi

Accipitriformes dan Falconiformes yang dipisah menjadi dua ordo berdasarkan Menggunakan pendekatan *in silico*, penelitian ini bertujuan untuk mengusulkan klasifikasi kedua ordo berdasarkan sekuens DNA dengan penanda materi genetik parsial CO1 dari beberapa perwakilan spesies kedua ordo.

Metode

1. Pengumpulan Sekuens DNA Sampel

Sekuens DNA kedua ordo burung diperoleh dari GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan cara memasukkan nama spesies disertai dengan penanda genetiknya, yakni *cytochrome oxidase 1*. Hasil pencarian sekuens DNA kemudian disimpan pada *software* Notepad dalam bentuk FASTA format dengan cara penulisan >Nomor Akses_Nama_spesies_Penanda Genetik_Sumber (Gambar 1). Adapun

morfologi dan perilaku makan akan dibuktikan dalam penelitian ini.

Tabel 1 menunjukkan *database* seluruh spesies yang digunakan dalam penelitian beserta dengan nomor aksesnya. Jumlah setiap sampel untuk ordo Accipitriformes dan Falconiformes masing-masing sebanyak lima belas spesies. Accipitriformes diwakilkan oleh spesies yang berasal dari genus *Accipiter*, *Butastur*, *Buteogallus*, *Circus*, *Gyps*, *Milvus*, *Pandion*, *Spilornis*, *Aquila*, *Spizaetus*, dan *Elanus*. Sementara itu, Falconiformes diwakilkan oleh genus *Falco*, *Caracara*, *Daptrius*, *Microhierax*, *Milvago*, dan *Polyborus*. Lebih lanjut, hanya terdapat satu spesies yang dijadikan *outgroup*, yakni *Tyto alba* atau burung hantu lumbung yang berasal dari ordo Strigiformes.

```
>KM377637_Tyto_alba_Cytochrome_Oxidase_1_NCBI
TCAGCCTCCAATCCGGGAGAATTAGGACAACCAGGAACCCCTCTGGAGATGACCAAATCTAACACGT
AATTGTCACTGCCACGCCTTGTAAATAATTCTCATGGTAATACCCATCATGATGGCGGATTTGGA
AACTGACTAGTCCCCCTCATATCGGAGCCCCGGACATAGCATTCCCCTGATAAATAACATAAGCTTCT
GACTACTCCCCCTCTCTGCTACTACTCGCATCTCCACAGTTGAAGGCCGGAGCACAGGATG
GACTGCTACCCACCATTGGCCAGCAACATAGCCACGCCGGGGCCTCAGTTGATCTGGCATTTCG
CTCCACTTGGCAGGTGTCATCCATCTGGAGCAATCAACTTCATTACAACCGCCATTAACATAAAAC
CCCCGGCCCTGTACAGTACCAACACCACTGTTGTATGGTCAGTCTCATACCGCAATTCTACTCCT
ACTATGCTCCCCAGTACTAGCCGCCGGATTACCATGCTCTAACCGACCGAAACCTAACACCCACATT
TTTGACCCCTGCCGGGGAGGGGACCCCTGCTGTACCAAGCACCTTTCTGATTCTTGGCACCCAGAAG
TGTACATCCTAATCCTCCCAGGATTGGAATTATCTCCAC

>AY666498_Accipiter_gentilis_Cytochrome_Oxidase_1_NCBI
CCTATATTAATCTTGGCGCTTGAGCCGGCATAGTAGGCACTGCCCTAGCCTCCATCCGCAGAA
CTCGGTCAACCAGGTACACTCTAGGCACGACCAAATCTACAAACGTAATCGTCACCGCACATGCCCTCG
TAATAATCTTCTTCATAGTTATACCAATCATAATTGGAGGCTCGGAAACTGACTCGTCCACTCATAAT
TGGCGCCCCGACATAGCCTCCCACGCATAAACACATAAGCTTCTGACTACTCCCTCATTTCTC
CTCCTACTAGCCTCTCACCGTAGAACGAGGCCGGAACTGGATGAAGTGTGTTACCCCTCATTAGCCG
GCAACATAGCTATGCCGGAGCCTCAGTAGACCTAGCCATCTCTCCATCTAGCTGGAGTCTCATC
CATTCTGGGGCAATTAACTTCATCACAAACGCCATTAACATAAAACCCCCAGCCCTTCCAAACCAA
ACTCCCCTATTGCTATGATCAGTCCTCATTACCGCCGTCTACTACTACTCTCACTTCCAGTCTAGCTG
CCGGCATTACCATACTAAACAGATGAAACCTCAACACAAACATTCTCGACCCCTGCCGGTGGAGGAGA
TCCCATCCTATACACATCTTCTGATTCTTGGCACCCAGAAGTCTACATCCTAATTCTA
```

Gambar 1. Sekuens DNA sampel dalam FASTA format pada *software* Notepad.

Tabel 1. Database Sampel Spesies Burung Anggota Ordo Accipitriformes dan Falconiformes serta *Outgroup*

| No. | Ordo | Spesies | Nomor Aksesi |
|-----------------|------------------------|---------------------------------|--------------|
| 1. | Accipitriformes | <i>Accipiter gentilis</i> | AY666498 |
| 2. | | <i>Accipiter nisus</i> | GQ481251 |
| 3. | | <i>Accipiter trivirgatus</i> | MK932889 |
| 4. | | <i>Accipiter virgatus</i> | GQ481253 |
| 5. | | <i>Butastur liventer</i> | MK932904 |
| 6. | | <i>Buteogalus meridionalis</i> | FJ027239 |
| 7. | | <i>Circus cyaneus</i> | GU571338 |
| 8. | | <i>Gyps himalayensis</i> | MK932898 |
| 9. | | <i>Milvus milvus</i> | GU571979 |
| 10. | | <i>Pandion haliaetus</i> | GU571571 |
| 11. | | <i>Spilornis cheela</i> | MK932911 |
| 12. | | <i>Aquila nipalensis</i> | KU748112 |
| 13. | | <i>Aquila heliaca</i> | KY754483 |
| 14. | | <i>Spizaetus alboniger</i> | MK932895 |
| 15. | | <i>Elanus caeruleus</i> | MK932886 |
| 16. | Falconiformes | <i>Caracara cheriway</i> | KM894302 |
| 17. | | <i>Falco amurensis</i> | GQ481873 |
| 18. | | <i>Falco tinnunculus</i> | MK932909 |
| 19. | | <i>Falco subbuteo</i> | EF515773 |
| 20. | | <i>Falco peregrinus</i> | EF515772 |
| 21. | | <i>Falco naumanni</i> | GQ481876 |
| 22. | | <i>Falco columbarius</i> | AY666522 |
| 23. | | <i>Falco rufigularis</i> | JQ174835 |
| 24. | | <i>Daptrius ater</i> | JQ174640 |
| 25. | | <i>Daptrius americanus</i> | JQ175132 |
| 26. | | <i>Microhierax erythrogenys</i> | JQ175372 |
| 27. | | <i>Microhierax caerulescens</i> | JQ175370 |
| 28. | | <i>Milvago chimango</i> | MG263845 |
| 29. | | <i>Polyborus plancus</i> | FJ027298 |
| 30. | | <i>Milvago chimachima</i> | FJ027808 |
| <i>Outgroup</i> | | | |
| 31. | Strigiformes | <i>Tyto alba</i> | KM377637 |

2. Multiple Alignment Sekuens DNA Sampel

Multiple alignment merupakan pengolahan beberapa sekuens DNA untuk disejajarkan. Sekuen DNA yang telah diperoleh dari GenBank NCBI disejajarkan secara bersamaan dengan menggunakan *software Clustal-X*. Hasilnya akan menunjukkan tingkat homologi (kesamaan) urutan DNA antarspesies (Gambar 2). Tingkat homologi spesies ditentukan melalui perhitungan persentase tanda asterisk yang terdapat pada data hasil *alignment*. Celah atau *gap* yang terbentuk pada hasil *alignment* menunjukkan adanya insersi dan delesi sebagai bentuk mutasi DNA.

3. Pembuatan Pohon Filogenetik

Data sekuens DNA yang telah disejajarkan selanjutnya digunakan untuk membuat pohon filogenetik menggunakan *software PAUP* dan *Treeview* (Gambar 3). Rekonstruksi pohon filogenetik ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kekerabatan dari setiap sampel burung dan melihat laju evolusi. Analisis pohon filogenetik dilakukan menggunakan metode *maximum parsimony*, analisis *bootstrap* sebanyak 1000 ulangan, indeks konsistensi (CI), dan indeks retensi (RI).

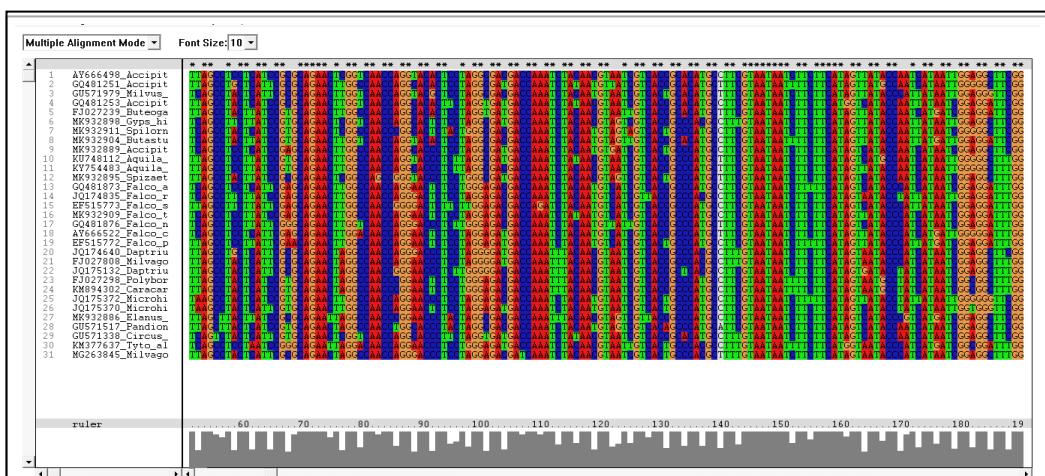
Hasil dan Pembahasan

Pemilihan 31 sampel dipertimbangkan berdasarkan dua kriteria, yaitu dari genus dan jumlah pasangan basa penanda gen COI. Ordo Accipitriformes terdiri atas 249 spesies yang

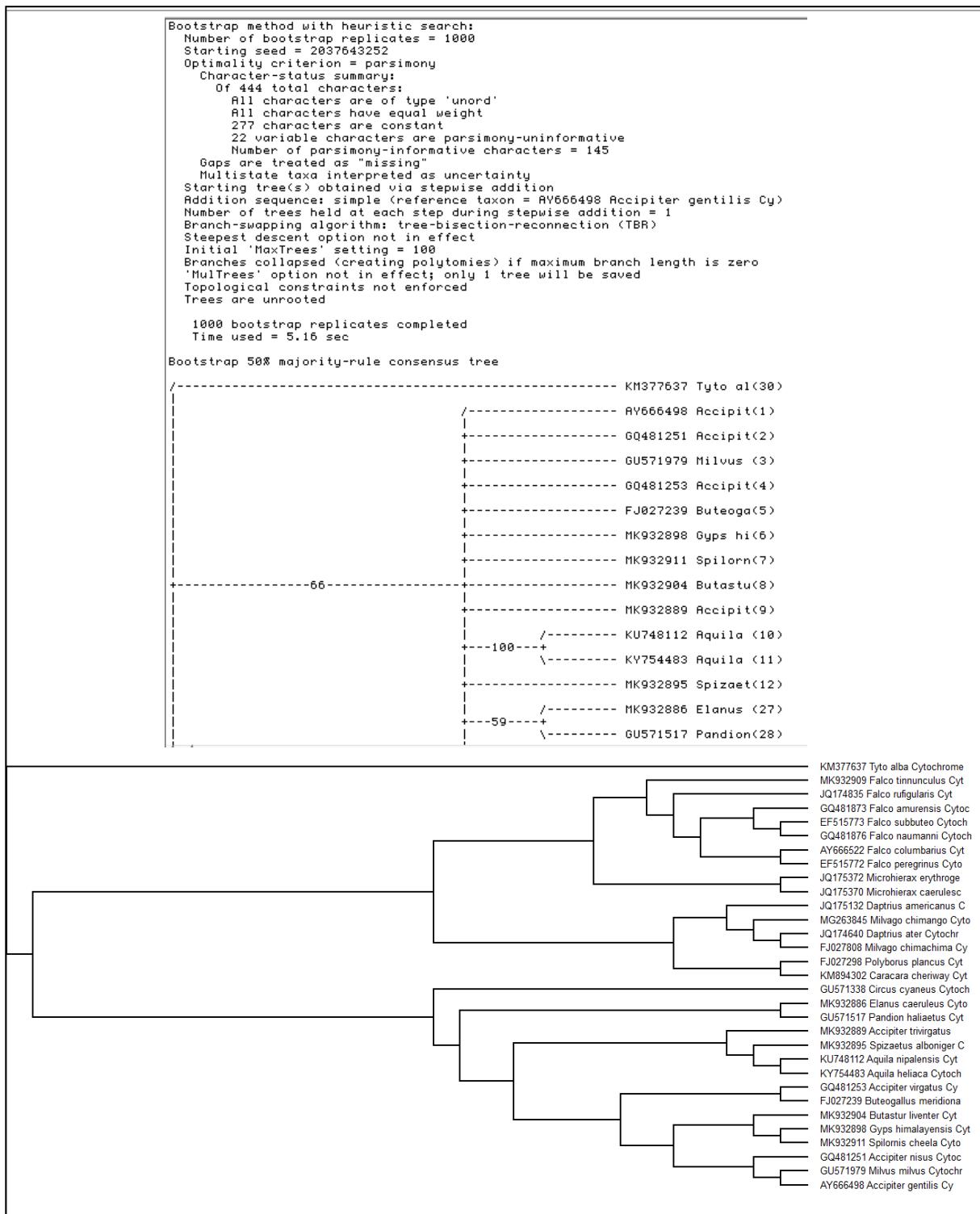
diklasifikasikan ke dalam 70 genus (Clements *et al.*, 2019). Dalam penelitian ini, ordo yang meliputi burung elang ini diwakili oleh 11 genus. Ordo Falconiformes hanya terdiri atas familia Falconidae yang mempunyai 7-9 genus(Fuchs *et al.*, 2015) dan 39 spesies burung (IUCN Red List of Threatened Species, 2018). Penelitian ini menggunakan 6 genus Falconiformes sebagai sampel.

Penanda genetik yang digunakan adalah gen mitokondria COI. Pada Aves, khususnya Passeriformes, gen ini mempunyai panjang keseluruhan 1.551 pasang basa (Hung & Zink, 2014). Untuk kebutuhan klasifikasi hewan, COI yang digunakan umumnya memiliki panjang 650 pasang basa (Yang *et al.*, 2019) atau dikenal juga dengan COI

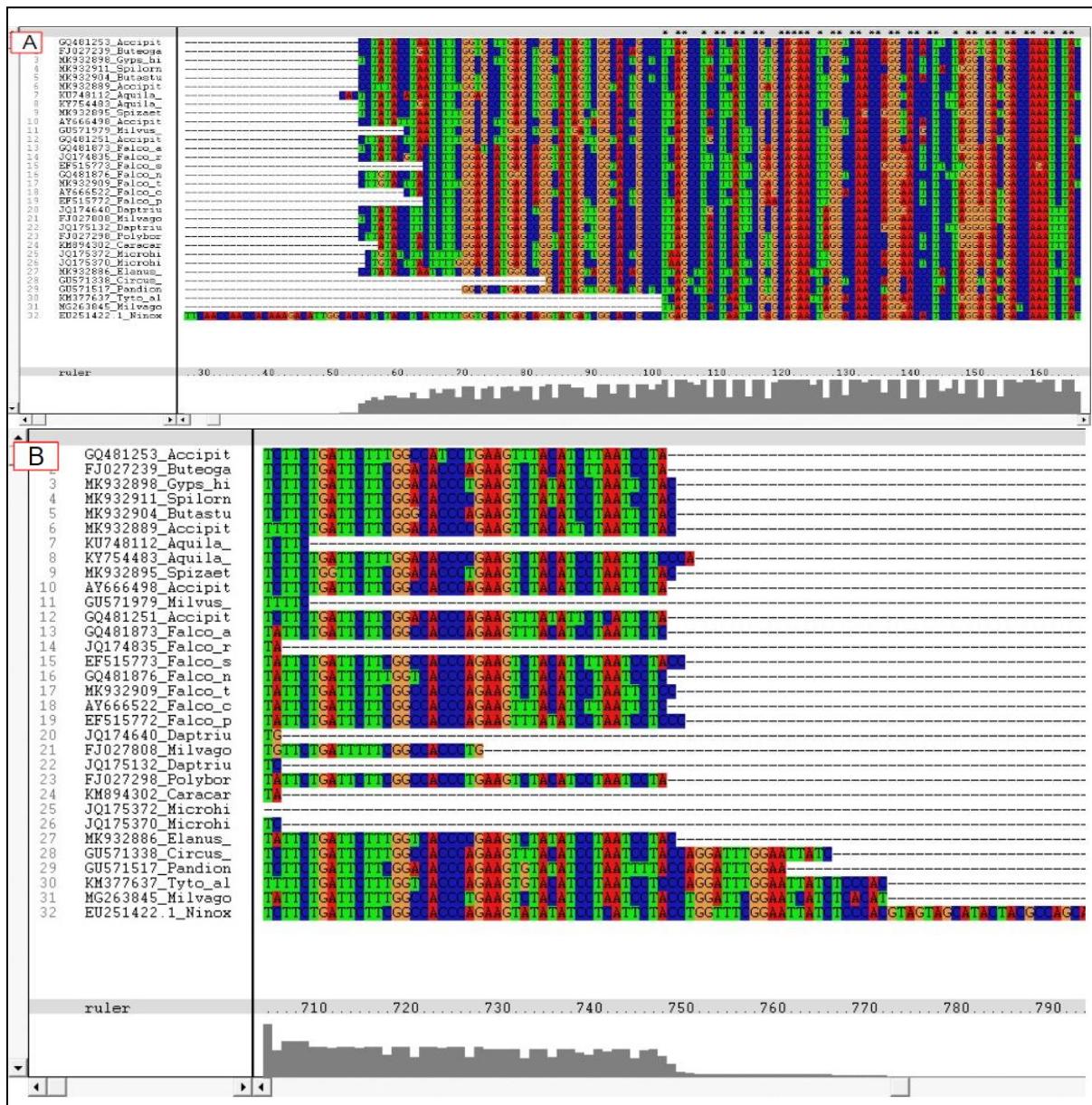
parsial. Maka, ketiga puluh spesies burung yang telah dipilih sebagai sampel penelitian ini mempunyai panjang gen COI yang mendekati angka tersebut, yaitu 700 ± 20 pasang basa. Gambar 4 menunjukkan bahwa posisi gen COI parsial terletak di awal gen COI lengkap. Sekuens gen COI lengkap diperoleh dari spesies ordo Strigiformes, *Ninox scutulata*, daripada kedua ordo lainnya akibat keterbatasan data di GenBank NCBI. Pemilihan 15 spesies pada setiap ordo berdasar kepada ketersediaan informasi sekuen gen COI parsial spesies tersebut secara lengkap di dalam database GenBank NCBI. Seluruh spesies yang dipilih pun memenuhi kriteria panjang sekuen yang telah ditentukan.



Gambar 2. Hasil multiple alignment sekuen DNA sampel menggunakan software Clustal-X.



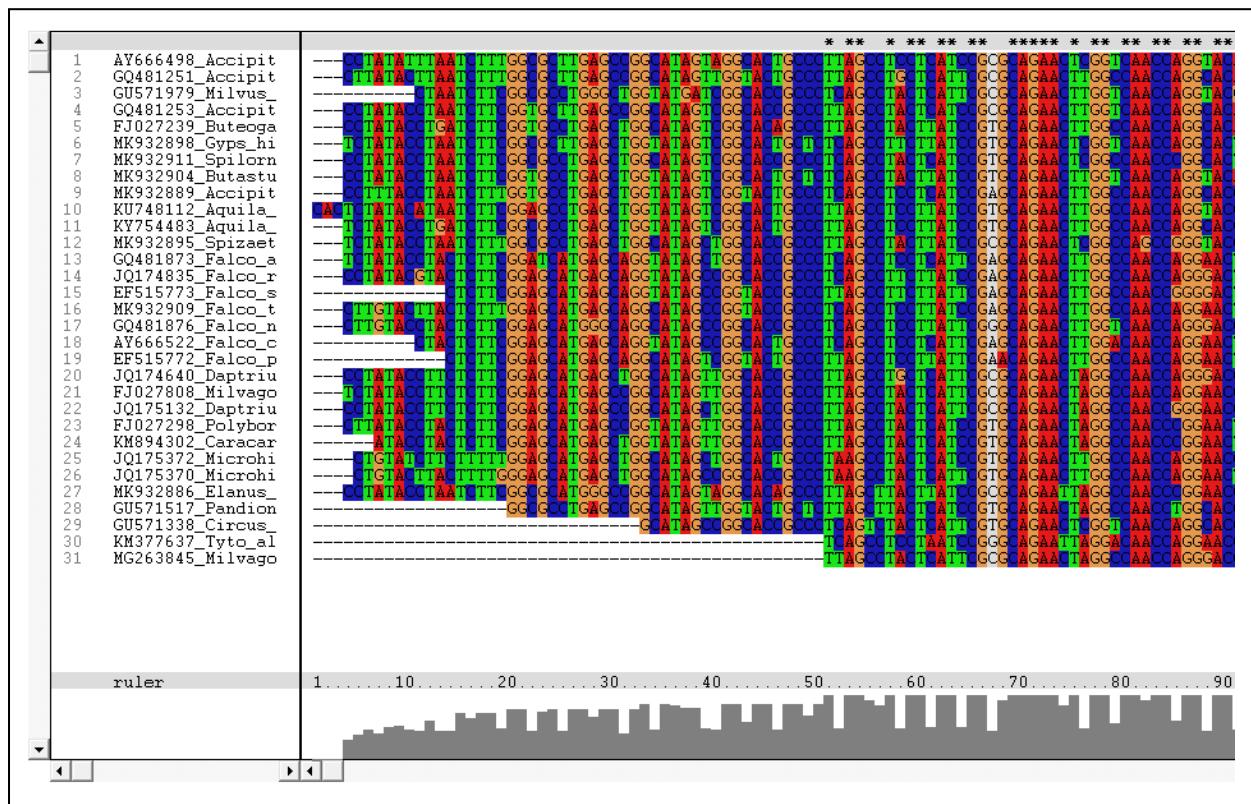
Gambar 3. Proses konstruksi pohon filogenetik menggunakan *software PAUP* dan *Treeview*.



Gambar 4. Perbandingan posisi sekuen gen COI parsial dengan COI lengkap. (A) COI parsial mulai dari urutan pasang basa ke-51. (B) COI parsial berakhir di urutan pasang basa ke-772.

Konstruksi pohon filogenetik mengenai pemisahan ordo Accipitriformes dan Falconiformes selain menggunakan lima belas sampel dari masing-masing ordo, juga melibatkan satu spesies sampel sebagai *outgroup*, yaitu *Tyto alba*. Dalam pembuatan pohon, *outgroup* yang paling informatif merupakan *sister group* dari takson yang diteliti. Artinya, *outgroup* mempunyai hubungan kekerabatan yang kurang dekat dengan takson dibandingkan antar sesama anggota takson (Brown, 2002). Fungsi dari *outgroup* tersebut adalah untuk me-root pohon

supaya menggambarkan jalur evolusi yang diduga telah terjadi pada anggota takson (Brown, 2002). Maka, pemilihan *Tyto alba* dari ordo Strigiformes sebagai *outgroup* dilakukan berdasarkan kedudukannya sebagai *sister group* dari ordo Falconiformes (Livezey & Zusi, 2007). Keduanya, bersama dengan Accipitriformes, dimasukan ke dalam kelompok burung pemangsa (*birds of prey*) karena ekologinya yang sama (Zein, 2018).



Gambar 5. Hasil *multiple alignment* sekuens DNA adanya gap (celah) yang menunjukkan adanya delesi atau insersi.

Penentuan tingkat homologi menjadi langkah awal yang informatif dalam mengidentifikasi kekerabatan makhluk hidup. Hasil proses penjajaran (*alignment*) dengan menghitung jumlah asterisk menunjukkan bahwa urutan DNA kelima belas sampel burung memiliki tingkat homologi 38.2% (Gambar 5). Hal demikian menandakan bahwa kesamaan sekuens-sekuens DNA sampel muncul dari nenek moyang yang sama (Pearson, 2013). Selain itu, kesamaan sekuens tersebut pun disebabkan oleh sifat dari penanda gen COI yang stabil (Lynch & Jarrell 1993).

Adanya *gap* yang ditandai dengan celah maupun garis putus-putus menggambarkan terjadinya mutasi berupa insersi dan delesi. Melalui *multiple sequence alignment* dapat diketahui adanya mutasi yang dapat dilihat sebagai adanya perbedaan huruf dan *gap* pada satu kolom akibat insersi atau delesi (Colton, 2007). Terjadinya mutasi merupakan hal esensial untuk evolusi (Baum, 2008), yakni saat hasil mutasi mengubah fenotip organisme dan diturunkan ke generasi selanjutnya (Carlin, 2011). Maka, insersi dan delesi yang

ditemukan dari hasil *multiple alignment* (Gambar 5) ikut berkontribusi terhadap perbedaan perilaku makan Accipitriformes dan Falconiformes sehingga klasifikasi keduanya dipisah menjadi dua ordo berbeda.

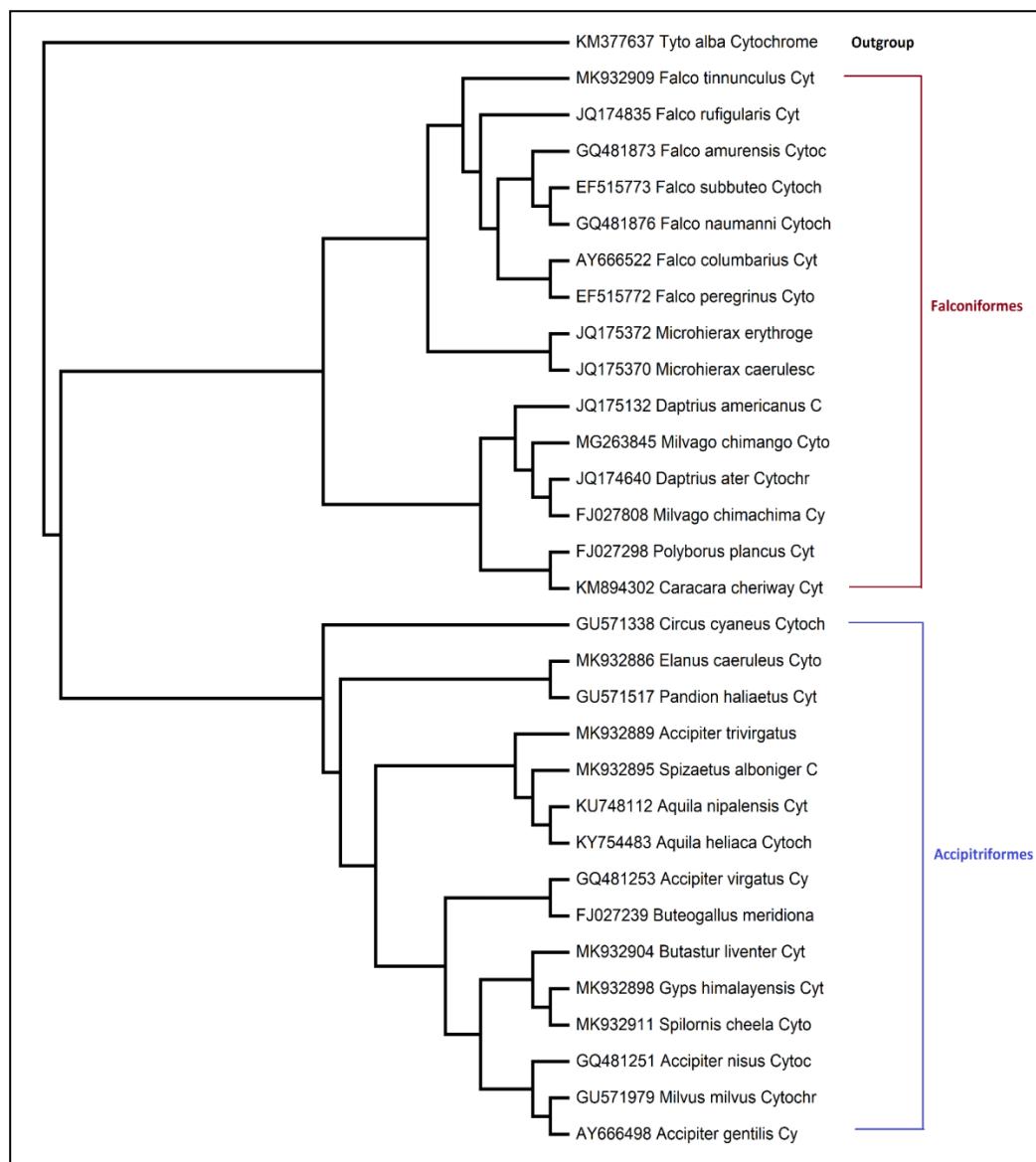
Analisis pohon filogenetik dengan 444 karakter, yang meliputi 277 karakter konstan, 22 karakter *uninformative*, dan 145 karakter informatif menghasilkan nilai CI = 0,313 dan RI = 0,436. Indeks konsistensi (CI) dan indeks retensi (RI) dihitung untuk pohon konsensus. Nilai CI dan RI yang rendah (<0,5) menunjukkan terjadinya *homoplasy* atau munculnya karakter bersama akibat evolusi konvergen, bukan karena kesamaan nenek moyang (Conti dkk., 2021). Pada hasil *bootstrap*, data spesies terbagi menjadi dua kelompok, yaitu ordo Accipitriformes dengan dukungan nilai bootstrap yang cukup besar (66) dan ordo Falconiformes dengan nilai bootstrap yang lebih rendah (55).

Hasil rekonstruksi pohon filogenetik ordo Accipitriformes dan Falconiformes menggambarkan bahwa kedua ordo termasuk kelompok monofiletik yang membentuk *cluster*-nya masing-masing (Gambar 6).

Hasilrekonstruksi ini berbeda dengan salah satu penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa raptor merupakan kelompok parafiletik. Burung pemangsa atau ‘*raptor*’ merupakan kelompok parafiletik di mana sebagian besar spesiesnya memiliki tingkah laku sebagai pemangsa yang diturunkan dari nenek moyangnya yang tunggal (McClure *et al.*, 2019). Hal tersebut mungkin terjadi disebabkan oleh penggunaan sampel yang berbeda-beda pada setiap penelitian.

Dengan terbentuknya pohon filogenetik yang termasuk dalam kelompok monofiletik, artinya kedua ordo mempunyai nenek moyang (*most recent common ancestor*) dan

sinapomorf atau karakter bersama yang menjadi ciri khasnya (Kitching *et al.*, 2017). Menurut McClure *et al.* (2019), burung pemangsa berevolusi dari garis keturunan burung terestrial raptorial. Pada *cluster* Falconiformes terlihat bahwa spesies-spesiesnya terbagi menjadi dua kelompok berbeda. Genus *Falco* terlihat berkerabat paling dekat dengan genus *Microhierax*. Hubungan kekerabatan yang sama pun diamati pada genus *Daptrius* dan *Milvago* serta *Polyborus* dan *Caracara*. Sementara itu, spesies Accipitriformes membentuk *cluster* non-monofiletik, khususnya pada genus *Accipiter*.



Gambar 6. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik sampel ordo Accipitriformes dan Falconiformes.

Simpulan dan Saran

Ordo Accipitriformes dan Falconiformes memiliki ciri morfologi yang sama tetapi dipisahkan menjadi dua ordo berbeda karena perbedaan perilaku memakan mangsanya. Hasil penelitian *in silico* berbasis penanda DNA parsial *cytochrome oxidase I* (COI) menunjukkan bahwa kedua ordo merupakan kelompok monofiletik yang membentuk dua *cluster* berbeda. Dengan demikian, usulan pengklasifikasian penelitian ini telah membuktikan bahwa Accipitriformes dan Falconiformes tidak hanya berbeda berdasarkan perilaku makannya saja, melainkan diperkuat dengan perbedaan secara genetik dari kedua ordo. Hasil tersebut membenarkan klasifikasi pemisahan kedua ordo yang telah ada.

Untuk penelitian ke depannya, klasifikasi ordo Accipitriformes dan Falconiformes berdasarkan sekuens DNA sebaiknya dilakukan dengan menambahkan jumlah sampel hewan dan jenis penanda genetik lainnya, seperti *internal transcribed spacer* (ITS). Sebagai penanda genetik yang terletak di dalam inti, ITS dapat menambahkan informasi yang informatif terkait kekerabatan spesies guna mengembangkan sistem klasifikasi yang baru berbasis data molekuler. Selain itu, hasil klasifikasi dengan DNA dapat diperkuat dengan menggabungkan data morfologi dan lingkungan untuk menjustifikasi kebenaran pengelompokan yang telah dilakukan serta melakukan *sequencing* DNA dengan data primer yang diperoleh sendiri agar hasil yang didapatkan lebih akurat.

Daftar Pustaka

- Baum, D. (2008). Trait evolution on a phylogenetic tree: Relatedness, similarity, and the myth of evolutionary advancement. *Nature Education* 1(1): 191.
- Branicki, W., Kupiec, T. & Pawlowski, R. (2003). Validation of cytochrome b sequence analysis as a method of species identification. *Journal of forensic sciences* 48(1): 83–87.
- Brown, T. A. (2002). *Genomes: 2nd Edition*. Wiley-Liss. Oxford.
- Carlin, J. L. (2011) Mutations Are the Raw Materials of Evolution. *Nature Education Knowledge* 3(10): 10.
- Carracedo, A., Bär, W., Lincoln, P., Mayr, W., Morling, N., Olaisen, B., Schneider, P., Budowle, B., Brinkmann, B., Gill, P., Holland, M., Tully, G. & Wilson, M. (2000). DNA commission of the international society for forensic genetics: guidelines for mitochondrial DNA typing. *Forensic science international* 110(2): 79–85.
- Cho, Y. S., Jun, J. H., Kim, J. A., Kim, H. M., Chung, O., Kang, S. G., Park, J. Y., Kim, H. J., Kim, S., Kim, H. J., Jang, J. H., Na, K. J., Kim, J., Park, S. G., Lee, H. Y., Manica, A., Mindell, D. P., Fuchs, J., Edwards, J. S., Weber, J. A., Witt, C. C., Yeo, J., Kim, S. & Bhak, J. (2019). Raptor genomes reveal evolutionary signatures of predatory and nocturnal lifestyles. *Genome biology* 20(1): 181.
- Clements, J. F., Schulenberg, T. S., Illiff, M. J., Fredericks, T. A., Gerbracht, J. A., Lepage, D., Billerman, S. M., Sullivan, B. L. & Wood, C. L. (2019). *The eBird/Clements checklist of birds of the world: v2019*, Retrieved December 2013, 2022, from <http://www.birds.cornell.edu/clementschecklist/download/>
- Colton, S. (2007). *Introduction to Bioinformatics, Genetics Background, Course 3* 41. Department of Computing Imperial College. London.
- Conservation International. (2018). Annual Report. USA.
- Csermely, D. (1998). Prey killing by Eurasian Kestrels: The role of the foot and the significance of bill and talons. *Journal of Avian Biology* 29(1): 10–16..
- Csermely, D. & Gaibani, G. (1998). Is foot squeezing pressure by two raptor species sufficient to subdue their prey?. *The Condor* 100(4): 757–763.
- Fuchs, J., Johnson, J. A. & Mindell, D. P. (2015). Rapid diversification of falcons (Aves: Falconidae) due to expansion of open habitats in the Late Miocene. *Molecular phylogenetics and evolution* 82(A): 166–182.
- Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S. & deWaard, J. R. (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1

- divergences among closely related species. *Proceedings. Biological sciences* 270(Suppl 1): 96–99.
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L. & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings. Biological sciences* 270(1512): 313–321.
- Hebert, P. D. N., Stoeckle, M. Y., Zemlak, T. S. & Francis, C. M. (2004). Identification of Birds through DNA Barcodes. *PLoS biology*2(10): e312.
- Hillis, D. M. (1987). Molecular versus morphological approaches to systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 23-42.
- Hung, C. M. & Zink, R. M. (2014). Distinguishing the effects of selection from demographichistory in the genetic variation of two sister passerines based on mitochondrial-nuclear comparison. *Heredity* 113(1): 42–51.
- IUCN Red List of Threatened Species (2018). Version 2018-1, Retrieved December 1, 2022, from <http://www.iucnredlist.org/>.
- Kitching, I. J., Forey, P. L. & Williams, D. M. (2017). *Cladistics: Reference Module in Life Sciences*. Elsevier. Amsterdam.
- Livezey, B. C. & Zusi, R. L. (2007). Higher-order phylogeny of modern birds (Theropoda, Aves: Neornithes) based on comparative anatomy. II. Analysis and discussion. *Zoological journal of the Linnean Society* 149(1): 1–95.
- Lynch, M. & Jarrell, P. E. (1993). A Method for Calibrating Molecular Clocks and Its Application to Animal Mitochondrial DNA. *Genetics* 135(4): 1197-1208.
- Maddison, D. R. (2012). Ramping up biodiversity discovery via online quantum contributions. *Trends in Ecology and Evolution* 27(2): 72–77.
- McClure, C. J., Schulwitz, S. E., Anderson, D. L., Robinson, B. W., Mojica, E. K., Therrien, J. F. & Johnson, J. (2019). Commentary: defining raptors and birds of prey. *Journal of Raptor Research* 53(4): 419-430.
- Pearson, W. R. (2013). An introduction to sequence similarity ("homology") searching. *Current protocols in bioinformatics* 3: 311-318.
- Sustaita, D. (2008). Musculoskeletal Underpinnings to Differences in Killing Behavior Between North American Accipiters (Falconiformes: Accipitridae) and Falcons (Falconidae). *Journal of Morphology* 269(3): 283–301.
- Verma, S.K. & Singh, L. (2003). Novel universal primers establish identity of an enormous number of animal species for forensic application. *Molecular Ecology Notes* 3(1): 28-31.
- Yang, C. H., Wu, K. C., Chuang, L. Y. & Chang, H. W. (2019). Decision Theory-Based COI-SNP Tagging Approach for 126 Scombriformes Species Tagging. *Frontiers in genetics* 10: 259.
- Zein, M. S. A. (2018). Barcoding DNA burung elang (famili Accipitridae) di Indonesia. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati* 2(17): 165-173.
- Zhan, X., Pan, S., Wang, J., Dixon, A., He, J., Muller, M. G., Ni, P., Hu, L., Liu, Y., Hou, H., Chen, Y., Xia, J., Luo, Q., Xu, P., Chen, Y., Liao, S., Cao, C., Gao, S., Wang, Z., Yue, Z. & Bruford, M. W. (2013). Peregrine and saker falcon genome sequences provide insights into evolution of a predatory lifestyle. *Nature genetics* 45(5): 563–566.