

Latihan Pembuatan Pohon Filogeni

Bimo Hadi Permana
(NPM. 2306157103)
Kelas Biosistematika D
ATA 2024/2025

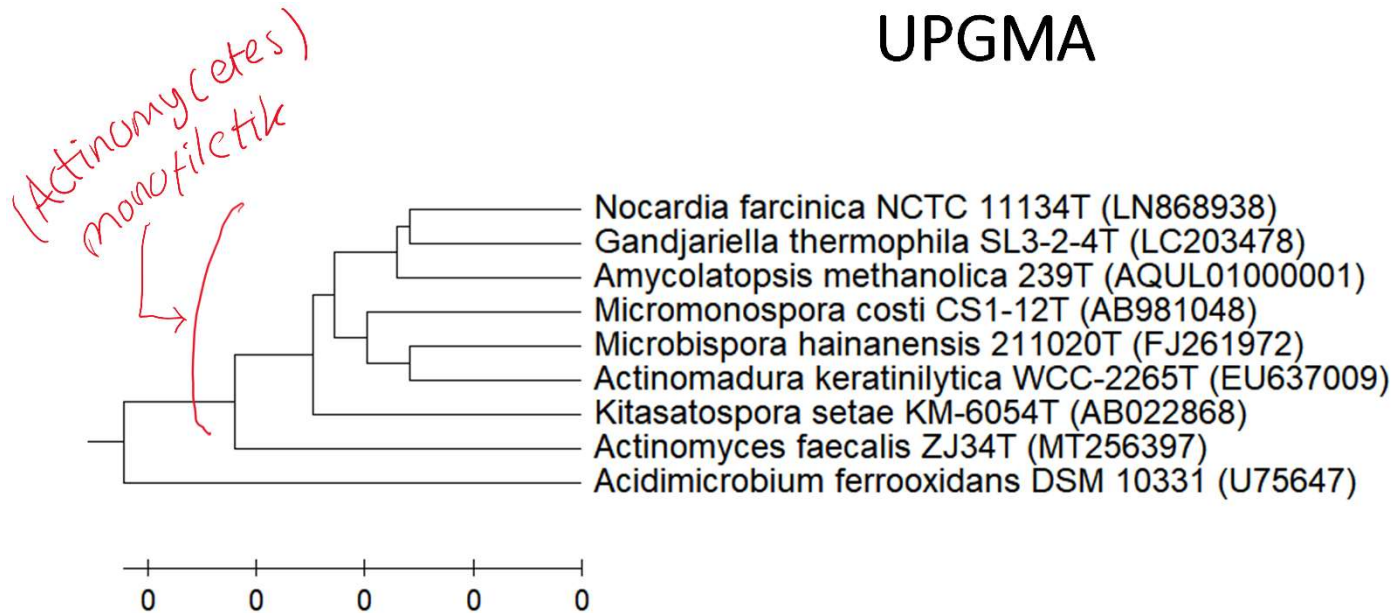
Conserved site

Informative
Site
A

*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
G	A	C	G	A	A	C	G	C	T	G	G	C	G	G	C	G	T	G	C	T	T	A	A	C	A	C	A	T	G	C	A	A	G	T	C	G	A	G	
G	A	C	G	A	A	C	G	C	T	G	G	C	G	G	C	G	T	G	C	T	T	A	A	C	A	C	A	T	G	C	A	A	G	T	C	G	A	G	
G	A	C	G	A	A	C	G	C	T	G	G	C	G	G	C	G	T	G	C	T	T	A	A	C	A	C	A	T	G	C	A	A	G	T	C	G	A	A	
G	A	C	G	A	A	C	G	C	T	G	G	C	G	G	C	G	T	G	C	T	T	A	A	C	A	C	A	T	G	C	A	A	G	T	C	G	A	G	
G	A	C	G	A	A	C	G	C	T	G	G	C	G	G	C	G	T	G	C	T	T	A	A	C	A	C	A	T	G	C	A	A	G	T	C	G	A	A	
G	A	C	G	A	A	C	G	C	T	G	G	C	G	G	C	G	T	G	C	T	T	A	A	C	A	C	A	T	G	C	A	A	G	T	C	G	A	A	
G	A	C	G	A	A	C	G	C	T	G	G	C	G	G	C	G	T	G	C	T	T	A	A	C	A	C	A	T	G	C	A	A	G	T	C	G	A	G	
G	A	C	G	A	A	C	G	C	T	G	G	C	G	G	C	G	T	G	C	C	T	A	A	C	A	C	A	T	G	C	A	A	G	T	C	G	T	A	

Conserved site ada pada seluruh spesies yang diuji. Dalam pembuatan pohon filogeni digunakan informative site dalam menentukan kekerabatan beberapa spesies.

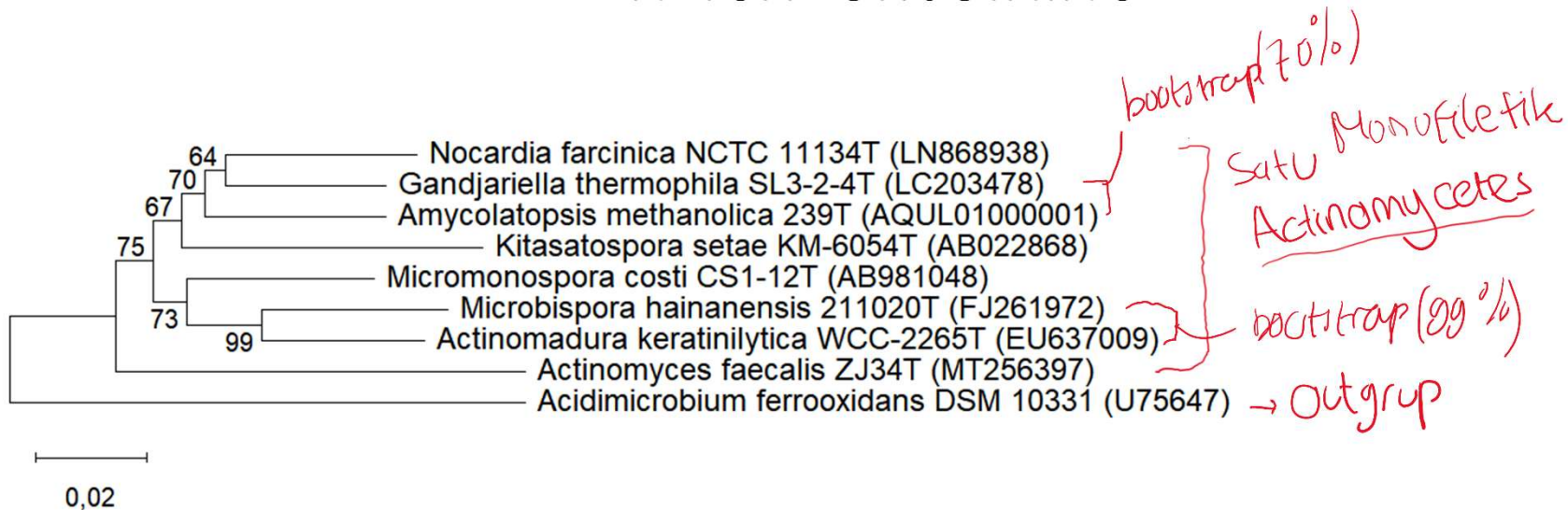
UPGMA



Hanya menggambarkan kriteria bukan jarak perbedaan basa
sehingga jarak 0.

Outgrup: *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647)

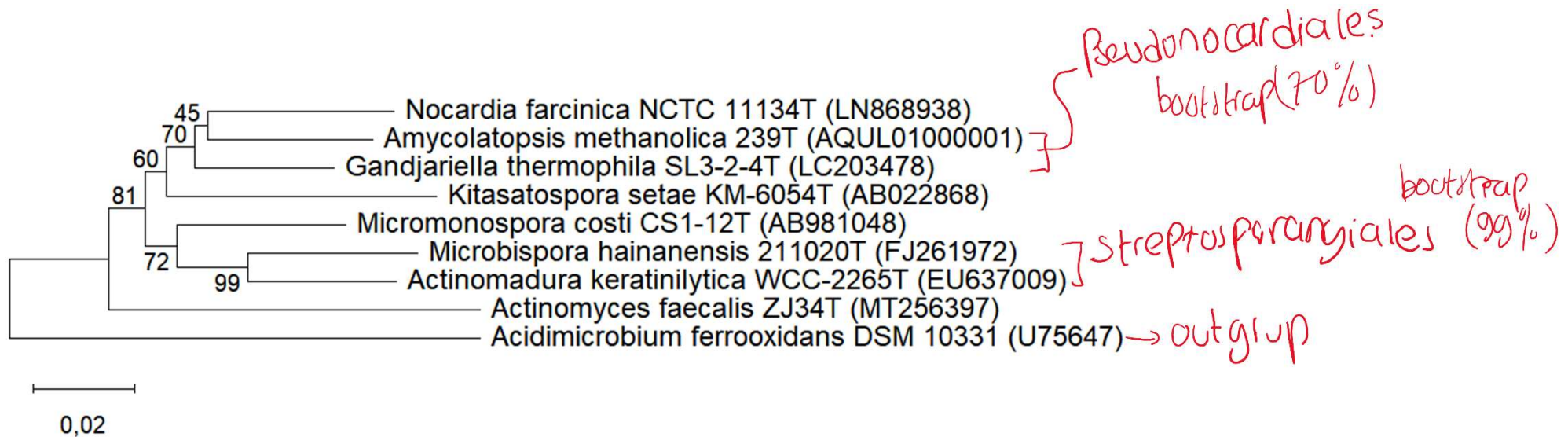
NEIGHBOR JOINING



Terdapat kekerabatan yang tinggi pada *Microbispora* dan *Actinomyces* karena memiliki bootstrap yang tinggi yaitu 99% (Streptosporangiales). Lalu *Amycolatopsis* dan *Gandjariella* yang memiliki nilai bootstrap yang lumayan tinggi yaitu 70%.

Outgroup: *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647)

MINIMUM EVOLUTION



Terdapat kekerabatan yang tinggi pada *Microbiospora* dan *Actinomyces* karena memiliki bootstrap yang tinggi yaitu 99% (Streptosporangiales). Lalu *Amycolatopsis* dan *Gandjariella* yang memiliki nilai bootstrap yang lumayan tinggi yaitu 70%. Outgroup: *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647)

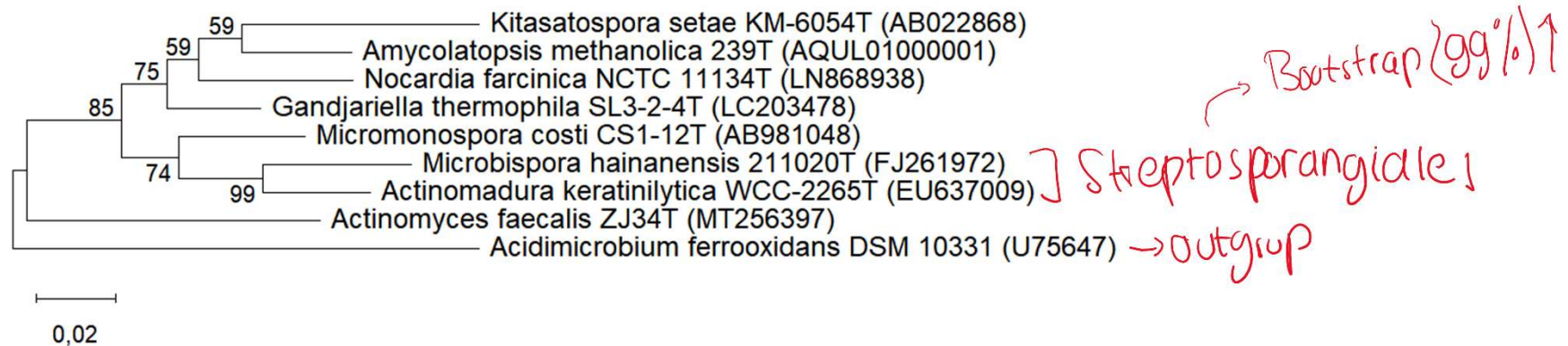
MAXIMUM PARSIMONY



Kekerabatan yang tinggi konsisten pada *Microbispora* dan *Actinomyces* karena memiliki bootstrap yang tinggi yaitu 97% (Streptosporangiales).

Outgrup: *Actinomyces faecalis* ZJ34T (MT256397) dan *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647)

MAXIMUM LIKELIHOOD

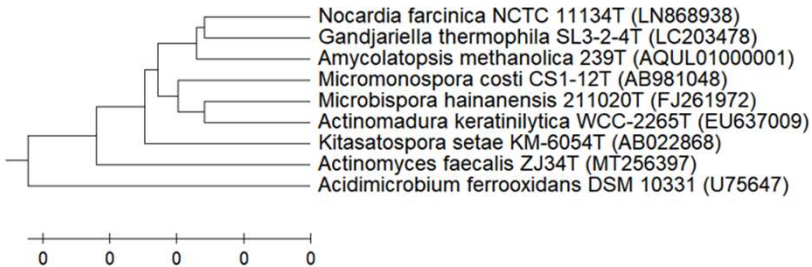


Microbispora dan *Actinomadura* konsisten bootstrap 99% (Streptosporangiales)

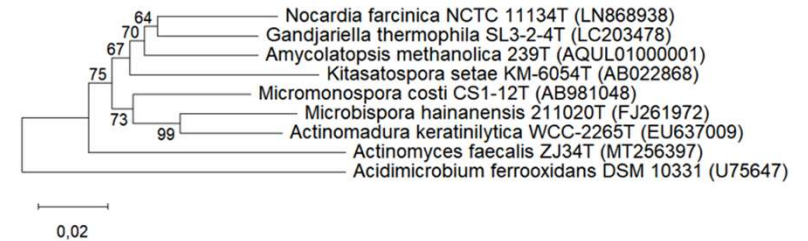
Outgrup: *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647)

ANALISIS DATA

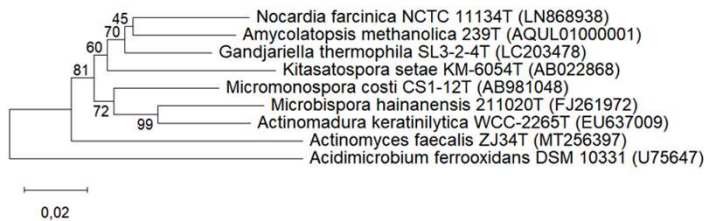
UPGMA



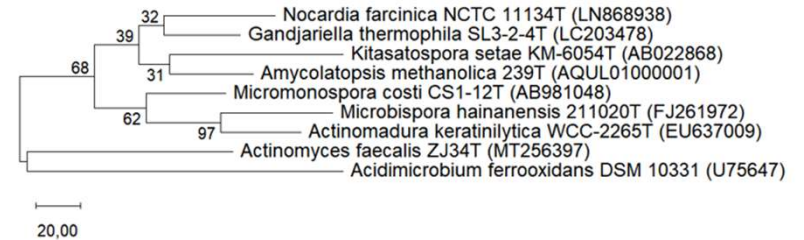
NEIGHBOR JOINING



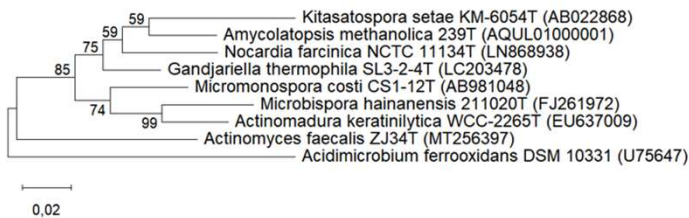
MINIMUM EVOLUTION



MAXIMUM PARSIMONY



MAXIMUM LIKELIHOOD



Rata-rata Outgrup muncul yaitu:

Actinomyces faecalis ZJ34T (MT256397) &
Acidimicrobium ferrooxidans DSM 10331 (U75647)

Paling beda dan jauh

ANALISIS DATA

Data keseluruhan menggunakan syarat bootstrap method replikasi 500 agar lebih reliable. Teknik tersebut menggunakan sampling random terhadap data basa dan mencatat kecocokannya.

Setelah itu, penggunaan model Kimura pada substitusi basa nukleotida. Dengan perbedaan transisi (mutasi titik) disingkat menjadi alpha dan tranversi (mutasi titik) disingkat menjadi beta.

COMPUTATIONAL METHOD		
DATA TYPE	Optimality criterion	
	Clustering algorithm	
	PARSIMONY	
	MAXIMUM LIKELIHOOD	
	BAYESIAN	
	MINIMUM EVOLUTION	UPGMA
	LEAST SQUARES	NEIGHBOR-JOINING

	A	T	C	G
A	-	β	β	α
T	β	-	α	β
C	β	α	-	β
G	α	β	β	-

Kimura (K80) model

Menghilangkan complete deletion, yaitu basa yang dihilangkan sehingga gene menjadi pseudogene atau truncated gene diabaikan.

Bentuk filogeni pada MEGA 12, yaitu tradisional, *radiation* dan *circle*.

ANALISIS DATA

Pertama, data 9 sekuens di-alignment dan diperoleh, seperti gambar di bawah:

[illegible]

Hasil yang dijadikan *bootstrapping* pada *hands-on* kali ini yaitu basa-basa yang memiliki character state berbeda, namun dimiliki oleh beberapa spesies lain. Metode stastikal namun berbeda algoritma. Berikut adalah analisis tiap-tiap metode dari yang sudah dilakukan:

1. UPGMA: Metode paling sederhana dengan membandingkan dengan grup terdekat, lalu diulang terus (bentuk dendrogram).

Hasil: 0 (tidak membandingkan jarak gen)

2. Neighbor-Joining: Metode bottom-up clustering, neighbor menjadi nodus, jarak

Hasil: Single, pohon dengan estimasi cabang (outgrup yaitu *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647))

- ### 3. Minimum Evolution: Metode optimal kriteria dengan menghitung jarak

Hasil: Outgrup yaitu *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647) (paling jauh)

4. Maximum Parsimony (Substitusi minimum pada *share-derived character*, ex. *Invariable* dan *singleton*)

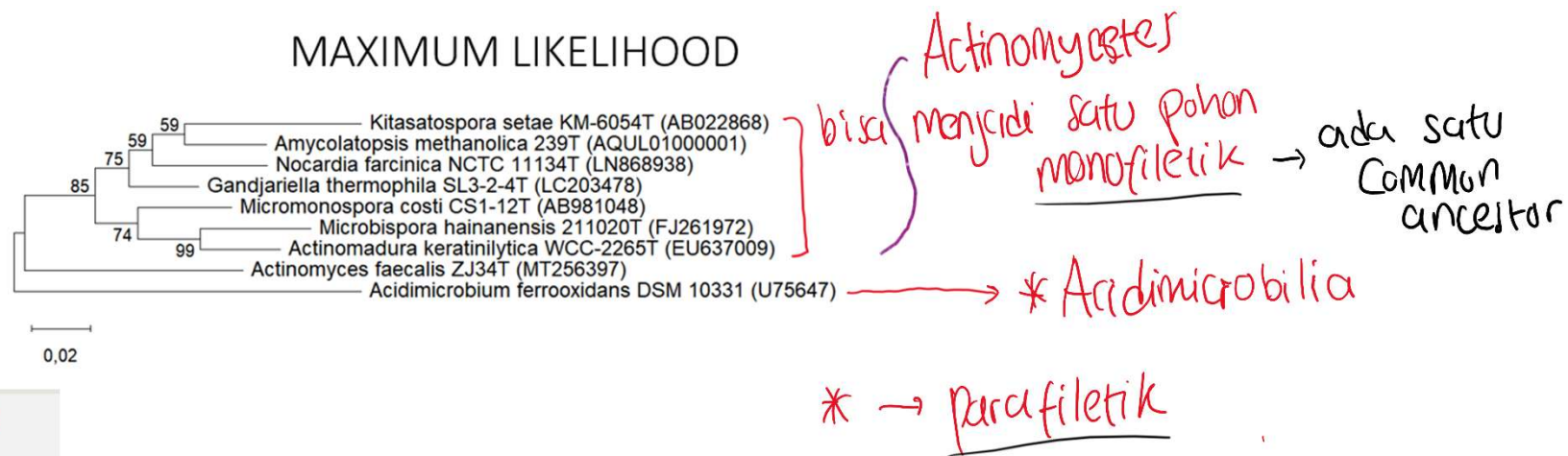
Hasil: Outgrup *Actinomyces faecalis* ZJ34T (MT256397) & *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647) (konsisten)

ANALISIS DATA

5. Maximum Likelihood: Metode yang possible seluruh pohon, mengutamakan yang paling sedikit perbedaan angka basanya.

Hasil: Lebih menyakinkan, *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647) (paling jauh).

Dengan menggunakan Max. Likelihood didapatkan bahwa Outgrup pasti yaitu *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647).



Bootstrap value

Bootstrap Value Categories:
0-50% = unstable/unreliable
50-69% = Low confidence/support
70-75% = Moderate support
76-94% = Strong support
95-100% = Very strong support

ANALISIS DATA

Nama Bakteri	Filum	Kelas	Ordo	Famili	Genus
<i>Gandjariella thermophila</i>	Actinomycetota	Actinomycetes	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	<i>Gandjariella</i>
<i>Nocardia farcinica</i>	Actinomycetota	Actinomycetes	Mycobacteriales	Nocardiaceae	<i>Nocardia</i>
<i>Amycolatopsis methanolica</i>	Actinomycetota	Actinomycetes	Pseudonocardiales	Amycolaptosis	<i>Amycolaptosis</i>
<i>Kitasatospora setae</i>	Actinomycetota	Actinomycetes	Kitasatosporales	Streptomycetaceae	<i>Kitasatospora</i>
<i>Micromonospora costii</i>	Actinomycetota	Actinomycetes	Micromonosporales	Micromonosporaceae	<i>Micromonospora</i>
<i>Microbispora hainanensis</i>	Actinomycetota	Actinomycetes	Streptosporangiales	Streptosporangiaceae	<i>Microbispora</i>
<i>Actinomadura keratinilytica</i>	Actinomycetota	Actinomycetes	Streptosporangiales	Thermonosporaceae	<i>Actinomadura</i>
<i>Actinomyces faecalis</i>	Actinomycetota	Actinomycetes	Actinomycetales	Actinomycetaceae	<i>Actinomyces</i>
<i>Acidimicrobium ferrooxidans</i>	Actinomycetota	Acidimicrobiia	Acidimicrobiales	Acidimicrobiaceae	<i>Acidimicrobium</i>

Sumber:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Hubungan kesamaan warna menyatakan kesamaan hierarki. Setiap common ancestor sama hanya sampai hierarki Filum. Dengan *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 keluar pada hierarki kelas.

Strain tidak dilanjutkan pada matriks karena berhenti di perbedaan Famili.

ANALISIS DATA

Pembahasan Matriks

Menurut matriks yang sudah dibuat, lebih cocok dengan pohon filogeni dari minimum evolution dan Neighbor terhadap perbedaan klasifikasi taksonomi bakteri. Perbedaan cukup signifikan karena *Actinomyces faecalis* dipisahkan menjadi parafiletik pada Max. likelihood (paling tinggi metode statistikalnya). Maka dapat disimpulkan penggunaan pohon filogeni yang paling mendekati antara menggunakan minimum evolution dan NN atau likelihood, apabila likelihood maka perlu taksonomi ulang terhadap klasifikasi bakteri *Actinomyces faecalis*, berbeda dengan taksonomi NCBI.

- *Microbispora hainanensis* 211020T (FJ261972) dan *Actinomadura keratinilytica* WCC-2265T (EU637009) selalu berada pada satu clade yang sama di berbagai metode penyusunan pohon filogenetik karena merupakan anggota ordo yang sama (Streptosporangiales) => bootstrap tinggi (97-99%).
- *Gandjariella thermophila* SL3-2-4T (LC203478) dan *Nocardia farcinica* NCTC 11134T (LN868938) berada di satu clade yang sama pada metode neighbor-joining tree dan UPGMA, sementara pada 3 metode yang lain keduanya terpisah clade. Kedua bakteri ini termasuk ke dalam satu kelas yang sama, yaitu Actinomycetes. Penyebab kedua bakteri ini terpisah pada 3 metode yang lain kemungkinan karena hubungan kekerabatannya sedikit jauh, yaitu di tingkat kelas.
- *Amycolatopsis methanolica* 239T (AQUL01000001) memiliki kekerabatan tinggi yang didukung oleh angka bootstrap sekitar 70% dengan *Gandjariella thermophila* SL3-2-4T (LC203478) pada NJ dan ME karena anggota ordo yang sama yaitu Pseudonocardiales.
- *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331 (U75647) merupakan outgroup pada semua metode yang digunakan karena termasuk kelas yang berbeda. *Acidimicrobium ferrooxidans* termasuk ke dalam kelas Acidimicrobia sementara 8 bakteri yang lain termasuk kelas Actinomycetes

DAFTAR PUSTAKA

- Masatoshi Nei, Sudhir Kumar. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press.
- Dan Graur and Wen-Hsiung Li. *Fundamentals of Molecular Evolution*. Sinauer Associates, Massachusetts.
- Rzhetsky A. and Nei M. 1992. A simple method for estimating and testing minimum evolution trees. *Molecular Biology and Evolution* **9**:945-967.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* **39**:783-791.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* **16**:111-120.
- Nei M. and Kumar S. 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press, New York.
- Saitou N. and Nei M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4**:406-425.
- Kumar S., Stecher G., and Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* **33**:1870-1874.

TERIMA KASIH!