

KAJIAN EVOLUSI BERBASIS URUTAN NUKLEOTIDA

I WAYAN KARMANA
FPMIPA. IKIP Mataram

ABSTRAK

Teori evolusi saat ini semakin berkembang seiring kemajuan Iptek. Pengkajian evolusi yang sebelumnya berbasis pendekatan sistematik dan paleontologi (*macroevolution*) dilengkapi pendekatan berbasis biologi molekuler (*microevolution*), salah satunya adalah pendekatan evolusi molekuler.

Evolusi molekuler adalah suatu pendekatan pengkajian evolusi yang berpijak pada genetika populasi dan biologi molekuler dengan lingkup atau area pengkajian pada perubahan materi genetik (urutan DNA atau RNA) dan produknya (protein) serta sejarah evolusi organisme yang didukung oleh data-data molekuler.

Perubahan evolusi berbasis urutan nukleotida merupakan salah satu bagian evolusi molekuler yang terkait dengan peristiwa mutasi, insersi, delesi dan inversi yang akan dapat menyebabkan perubahan-perubahan pada tingkat gen (nukleotida), dimana perubahan ini merupakan suatu agen terjadinya evolusi pada tingkat molekuler (*microevolution*).

Kata kunci: evolusi, DNA, nukleotida

PENDAHULUAN

Semenjak Charles Darwin mengemukakan gagasannya tentang teori evolusi yang tertuang dalam bukunya “ *On the Origin of Species by Means of Natural Selection or the Preservation of Favoured Races* “ telah banyak menuai atau menimbulkan pro dan kontra di masyarakat. Kelompok yang kontra kurang memandang teori evolusi Darwin secara proporsional. Kelompok ini hanya melihat teori evolusi secara sempit dan lebih terfokus pada ungkapan “ manusia berasal dari kera “, padahal sejatinya tidak demikian yang dinyatakan oleh Darwin dalam buku tersebut. Hal ini diperkuat Waluyo (2005), yang menyatakan bahwa evolusi tidaklah berkisar pada manusia dan kera saja, lagi pula manusia bukanlah keturunan langsung dari kera seperti yang dipahami masyarakat awam.

Terlepas dari pro dan kontra tersebut, teori evolusi (evolusi biologi/organik) saat ini terus mengalami perkembangan seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi pada era globalisasi ini. Mulai dari teori evolusi masa Darwin hingga saat ini pada masa evolusi modern yang memandang dan mengkaji teori evolusi dari berbagai aspek dan pendekatan.

Pengkajian teori evolusi pada masa modern ini dilihat dari beberapa pendekatan antara lain melalui pendekatan genetika populasi, evolusi ekologi, evolusi molekuler, sistematik, dan paleontologi (Stearn & Hoekstra, 2003). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa untuk mengkaji proses evolusi biologi dapat dilakukan melalui berbagai pendekatan, sehingga masalah evolusi dapat dikaji secara lebih komprehensif dan proporsional.

Pendekatan evolusi molekuler (*molecular evolution*) sebagai salah satu pendekatan yang digunakan dalam mengkaji evolusi biologi pada saat ini (masa evolusi modern) sangat banyak digunakan (Waluyo, 2005). Pendekatan molekuler ini mengkaji dan memandang evolusi dari sejarah rekaman urutan DNA dan protein (Stearn & Hoekstra, 2003). Selanjutnya dalam mengkaji masalah evolusi, maka terdapat dua area pembahasan evolusi molekuler yaitu: (1) evolusi makromolekul, menunjuk kepada rata-rata dan pola perubahan yang tampak pada materi genetik (misalnya urutan DNA) dan produksinya (misalnya protein) selama waktu evolusi serta mekanisme yang bertanggung jawab untuk sejumlah perubahan itu; dan (2) rekonstruksi sejarah evolusi gen dan organisme (*molecular phylogeny*), menjelaskan sejarah evolusi organisme dan makromolekul seperti adanya keterlibatan data-data molekuler (Widodo, 2003).

Mengingat pentingnya kedudukan pendekatan molekuler dalam pengkajian masalah evolusi saat ini, maka dalam tulisan ini akan dibahas sisi kecil dari dimensi evolusi biologi yang mengacu kepada pendekatan evolusi molekuler, khususnya area pembahasan evolusi makromolekul dengan tujuan memberikan gambaran tentang evolusi molekuler, struktur kimiawi DNA (nukleotida) dan beberapa bentuk perubahan evolusi berbasis nukleotida.

PEMBAHASAN

Pengertian dan Lingkup Evolusi Molekuler

Seperti diketahui bahwa pengkajian evolusi pada masa evolusi modern saat ini dilihat dari berbagai aspek dan pendekatan sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi itu sendiri. Pada masa sekarang ini masalah evolusi dikaji dari pendekatan genetika populasi, evolusi ekologi, sistematik, evolusi molekuler dan paleontologi (Stearn & Hoekstra, 2003). Berbagai pendekatan dalam mengkaji masalah evolusi ini diprediksikan akan terus berkembang sesuai dengan dinamika perkembangan ilmu.

Dewasa ini pendekatan dari aspek evolusi molekuler banyak dilakukan untuk mengkaji evolusi biologi. Seperti dinyatakan Waluyo (2005) bahwa pada masa lalu, para ahli bekerja dengan data morfologi, anatomi, dan penurunan genetika, maka masa sekarang para ahli beranjak pada pendekatan molekuler, fisiologi, model matematika, dan lain sebagainya.

Evolusi molekuler (*molecular evolution*) pada dasarnya menjelaskan dinamika daripada perubahan evolusi pada tingkat molekuler, disamping itu untuk mendukung pemahaman tentang proses evolusi dan efek-efek berbagai macam mekanisme molekuler, termasuk di dalamnya adalah evolusi genom, gen-gen, dan produk-produknya (Graur & Hsiung Li, 2000). Lebih lanjut dikatakan bahwa studi tentang evolusi molekuler berakar pada dua disiplin ilmu yang berbeda yaitu “genetika populasi “ dan “ biologi molekuler “. Genetika populasi melengkapi tentang dasar teori untuk proses-proses evolusi, sementara biologi molekuler melengkapi tentang data empirik. Jadi untuk memahami evolusi molekuler tersebut sangat diperlukan pengetahuan dasar keduanya yaitu genetika populasi dan biologi molekuler praktis.

Selanjutnya lingkup pembahasan evolusi molekuler seperti yang disampaikan Graur & Hsiung Li (2000) sebagai berikut.

“ Molecular evolution encompasses two areas of study: the evolution of macromolecules, and the reconstruction of the evolutionary history of genes and organism. By the evolution of macromolecules we refer to the characterization of the changes in the genetic material (DNA or RNA sequences) and its products (proteins or RNA molecules) during evolutionary time, and to the rates and patterns with which such changes occur. This area of study also attempts to unravel the mechanisms responsible for such changes. The second area, also known as molecular phylogenetics deals with the evolutionary history of organism and macromolecules as inferred from molecular data and methodology of tree reconstruction “

Berdasarkan kutipan di atas kita dapat mengetahui bahwa pembahasan, lingkup, atau area evolusi molekuler meliputi dua area yaitu: (1) evolusi makromolekul, dan (2) rekonstruksi sejarah evolusi gen dan organisme. Area evolusi makromolekul menunjukkan karakteristik perubahan dalam materi genetik (urutan DNA atau RNA) dan produk-produknya (protein atau molekul RNA) serta terhadap rata-rata dan pola perubahan yang tampak. Sedangkan area kedua filogeni molekuler menjelaskan sejarah evolusi organisme dan makromolekul seperti adanya keterlibatan data-data molekuler dan metodologi pohon rekonstruksi.

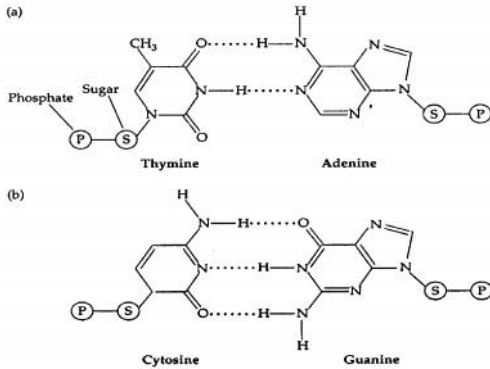
Senada dengan pendapat di atas Stearn dan Hoekstra (2003) secara lebih sederhana menyatakan bahwa evolusi molekuler mengkaji dan memandang evolusi dari rekaman sejarah dalam urutan DNA dan protein.

Berdasarkan beberapa rujukan dan pendapat ahli di atas dapat disimpulkan pengertian dan lingkup dari evolusi molekuler adalah suatu pendekatan pengkajian masalah evolusi yang berpijak pada populasi genetika dan biologi molekuler dengan area atau lingkup pengkajian pada perubahan materi genetik (urutan DNA atau RNA) dan produknya (protein atau molekul RNA) serta rata-rata dan pola perubahannya serta mengkaji pula sejarah evolusi organisme dan makromolekul yang didukung data-data molekuler (filogeni molekuler).

Struktur Kimia DNA (Nukleotida)

Informasi hereditas organisme hidup, kecuali virus dibawa oleh DNA dan DNA biasanya terdiri dari untai komplemen “ *double helix* “. Masing-masing rantai adalah polinukleotida linear yang mana pada masing-masing nukleotida mengandung tiga komponen yang khas yaitu: (1) basa nitrogen, (2) gula pentosa, dan (3) asam posfat. Terdapat dua kelompok basa nitrogen yaitu basa purin terdiri dari adenin (A) dan guanin (G) serta kelompok basa pirimidin yang terdiri dari sitosin (C), dan timin (T). RNA juga mengandung basa purin berupa adenin (A) dan guanin (G) serta basa pirimidin berupa sitosin (C) dan urasil (U) (Graur & Hsiung Li, 2000; Lehninger, 1982; Stansfield, 1983).

Sementara itu ada dua jenis pentosa yaitu deoksiribosa pada DNA dan ribosa pada RNA. Basa adenin (A) selalu berpasangan dengan basa timin (T), basa guanin (G) selalu berpasangan dengan basa sitosin (C) pada rantai DNA, sedangkan pada rantai RNA, adenin (A) berpasangan dengan urasil (U), sitosin (C) berpasangan dengan guanin (G). Ikatan antara basa purin dengan basa pirimidin adalah ikatan hidrogen, dimana ikatan A-T termasuk ikatan lemah (*weak bond*), sementara ikatan G-C termasuk ikatan kuat (*strong bond*). Struktur tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1

Complementary base pairing by means of hydrogen bonds (dotted lines) between (a) thymine and adenine (weak bond), and (b) cytosine and guanine (strong bond).



Gambar2

Tipe-tipe mutasi (a) Original sequence, (b) Transitions from C to T, (c) Transversion from G to C, (d) Recombination, the exchange of the sequence GTCTT by CAAAC, (e) Deletion of the sequence ACCTA, (f) Insertion of the sequence AAAGC, (g) Inversions of 5'—GCAAAC—3' to 5'—GTTTGC—3'.

Perubahan Evolusi Berbasis Urutan Nukleotida

Pada bagian ini difokuskan pada pembicaraan mengenai mutasi karena peristiwa mutasi (secara molekuler) sangat erat kaitannya dengan perubahan evolusi berbasis urutan nukleotida. Mutasi itu sendiri menurut Lehninger (1982) dapat diartikan sebagai perubahan permanen yang akan bersifat menurun pada genom (gen-gen atau urutan nukleotida) suatu organisme. Lebih lanjut dikatakan bahwa mutasi dapat mempengaruhi sebuah nukleotida (*point mutations*) atau beberapa nukleotida yang saling berdekatan (*segmental mutations*). Sedangkan Graur & Hsiung Li (2000) menyatakan mutasi adalah kesalahan-kesalahan yang terjadi pada saat replikasi DNA.

Selanjutnya disampaikan oleh Graur & Hsiung Li ada beberapa tipe mutasi yaitu: (1) *substitution mutations*, penggantian sebuah nukleotida dengan yang lainnya, (2) *recombinations*, pertukaran sebuah nukleotida dengan yang lainnya, (3) *deletions*, pergerakan satu atau lebih nukleotida pada DNA, (4) *insertions*, penambahan satu atau lebih nukleotida ke dalam urutan (sekuen) DNA, dan (5) *inversions*, perputaran 180 derajat dari segmen untai ganda (*double-strand*) DNA yang berisi dua atau lebih pasangan basa. Tipe-tipe mutasi tersebut tertera pada Gambar 2 di atas

Mutasi Substitusi

Mutasi substitusi adalah salah satu tipe mutasi seperti yang telah disebutkan di atas. Jenis mutasi ini penting dibahas lebih lanjut karena padasarnya proses evolusi dari urutan DNA (urutan nukleotida) adalah substitusi dari sebuah nukleotida dengan yang lainnya selama waktu evolusi (Graur & Hsiung Li, 2000; Puterbaugh & Burleigh, 2001). Dengan kata lain bahwa evolusi adalah substitusi (penggantian) nukleotida dalam urutan DNA.

Mutasi substitusi dibagi ke dalam *transitions* dan *transversions*. Transitions adalah pengubahan antara A dan G (purin) atau antara C dan T (pirimidin). Transversions adalah pengubahan antara purin dengan pirimidin. Ada empat tipe transitions yaitu: A → G, G → A, C → T, T → C. Sementara ada delapan tipe transversions yaitu: A → C, A → T, C → A, C → G, T → A, T → C, G → C, G → T.

Mutasi substitusi terjadi pada daerah pengkodean protein yang dapat diklasifikasikan menurut efeknya terhadap produk translasi (protein) yaitu: (1) *synonymous*, jika menyebabkan tidak terjadi perubahan asam

amino yang spesifik (Gambar 3a), (2) *nonsynonymous*, perubahan terjadi pada asam amino, sehingga perubahan nukleotida *nonsynonymous* disebut *replacement*.

Perubahan *nonsynonymous* selanjutnya diklasifikasikan ke dalam *missense mutations*, adalah pengubahan yang mempengaruhi kodon di dalam kodon spesifik pada asam amino berbeda dari yang sebelumnya (Gambar 3b) dan *nonsense mutations*, pengubahan arti atau penterjemahan kodon ke dalam kodon terminasi (penghabisan) dan sebagai awal berhentinya proses translasi (Gambar 3c).

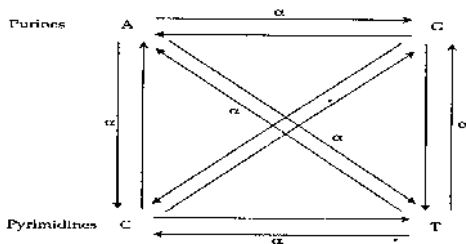
(a)	Ile ATA	Cys TGT	Ile ATA	Lys AAG	Ala GCA	Leu CTG	Val GTC	Leu CTG	Leu TTA	Thr ACA
	ATA	TGT	ATA	AAG	GCA	CTG	GTA	CTG	TTA	ACA
	Ile	Cys	Ile	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Leu	Thr
(b)	Ile ATA	Cys TGT	Ile ATA	Lys AAG	Ala GCA	Asn AAC	Val GTC	Leu CTG	Leu TTA	Thr ACA
	ATA	TGT	ATA	AAG	GCA	AAC	TTC	CTG	TTA	ACA
	Ile	Cys	Ile	Lys	Ala	Asn	Phe	Leu	Leu	Thr
(c)	Ile ATA	Cys TGT	Ile ATA	Lys AAG	Ala GCA	Asn AAC	Val GTC	Leu CTG	Leu TTA	Thr ACA
	ATA	TGT	ATA	TAG	GCAAACGTCCTGTTAACA					
	Ile	Cys	Ile	Stop						

Gambar 3 Tipe-tipe mutasi substitusi pada daerah pengkodean, (a) synonymous, (b) missense mutations, (c) nonsense mutations.

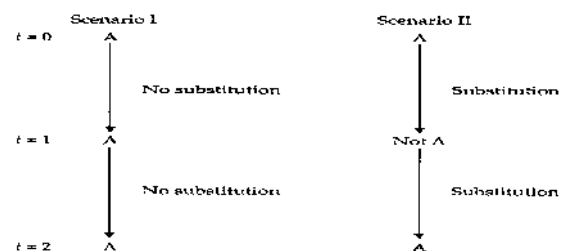
Model Substitusi Nukleotida pada Urutan DNA

1. *Jukes and Cantor's One-Parameter Model*

Skema substitusi menurut model Jukes and Cantor's (1969) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4



Gambar 4 One-parameter model of nucleotide substitution. The rate of substitution in each direction α .



Gambar 5 Two possible scenario according to the one-parameter model for having A at site at time $t = 2$, given that the site had A at time 0

Model seperti Gambar 4 memiliki asumsi yang sederhana yaitu bahwa proses substitusi yang terjadi memiliki kemampuan atau peluang yang sama (setara) diantara keempat tipe nukleotida. Contoh: misalnya adenin (A) akan berubah ke T, C, atau G dengan kemungkinan yang sama. Begitu juga kemungkinan dengan basa yang lain akan dapat berubah seperti adenin (A).

Dalam model ini rata-rata penggantian (*rate of substitution*) masing-masing nukleotida adalah 3α per satuan waktu dan rata-rata substitusi dari masing-masing tiga kemungkinan ditunjukkan oleh α (alpha). Karena model ini hanya mengembangkan satu parameter yaitu α , maka disebut: one-parameter model. Pada model ini kemungkinan A berubah dalam satuan waktu adalah : $PA(1) = 1-3\alpha$.

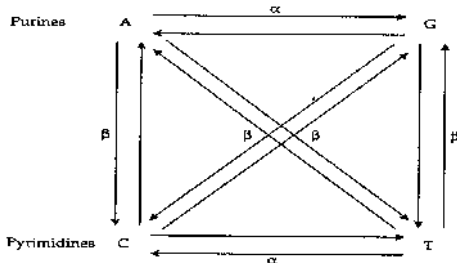
Selanjutnya dari one-parameter model ini terdapat dua kemungkinan skenario yang dimiliki A pada suatu letak atau tempat berdasarkan waktu $t=2$, seperti tertera pada Gambar 5 di atas

2. *Kimura's Two-Parameter Model*

Menurut model ini asumsi bahwa seluruh substitusi nukleotida terjadi dengan kemungkinan yang sama seperti pada model Jukes and Cantor's model adalah dalam banyak kasus tidak realistis. Contoh transitions (yaitu pengubahan antara A dan G atau antara C dan T) umumnya frekuensi lebih banyak dari transversions.

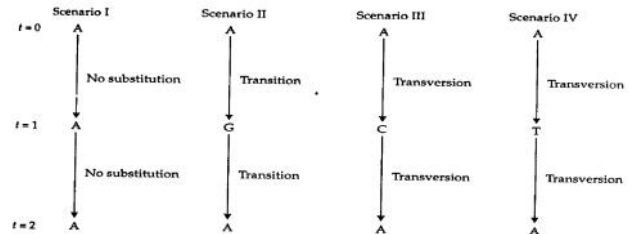
Kenyataan ini perlu diperhitungkan, untuk itu Kimura (1980) mengajukan Two-parameter Model. Pada skema ini rata-rata substutusi transitional masing-masing nukleotida adalah α per satuan waktu sedangkan rata-rata masing-masing substitusi transversional adalah β per satuan waktu, seperti tertera pada gambar 2.6 di bawah ini.

Berbeda dengan model one-parameter, maka pada model two-parameter ini ada empat kemungkinan skenario untuk letak A pada satuan waktu $t = 2$, dengan kemungkinan A berubah pada satuan waktu adalah: PAA (1) = $1 - \alpha - 2\beta$ (Gambar 6).



Gambar 6.

Two-parameter model of nucleotide substitution. The rate of transition (α) may be equal to the rate of transversion (β).



Gambar 7.

Four possible scenario, according to Kimura's (1980) two-parameter model, for having A at a site at time $t = 2$, given that the site had A at time 0.

Pengubahan Satu Pasang Basa (Mutasi Butir)

Mutasi yang disebabkan oleh penggantian satu basa dengan basa yang salah dinamakan *mutan substitusi*. Mutasi tersebut akan mengakibatkan perubahan ada hanya satu kodon gen yang bersangkutan. Jadi hal ini dapat atau tidak mengakibatkan penggantian asam amino oleh yang lain pada urutan polipeptida yang disandi oleh gen ini (Lehninger, 1982).

Selanjutnya bagaimana pengaruh satu pasang basa dan hipotesisnya terhadap aktivitas-aktivitas biologik produk protein yang dihasilkan ditampilkan pada Tabel 1 di bawah ini.

Mutasi	Keterangan	Triplet DNA Belum Termutasi	Triplet Termutasi
Substitusi satu basa tidak menyebabkan perubahan pada urutan asam amino. Mutasi ini disebut mutasi diam.	Cetakan DNA Kodon RNA Asam amino	(3')-GGT-(5') (5')-CCA-(3') -Pro-	-GGA- -CCU- -Pro-
Mutasi satu basa menyebabkan perubahan asam amino yang mungkin tidak mengubah aktivitas biologik protein, karena penggantian asam amino tidak terjadi pada posisi kritis dan juga menyerupai asam amino normalnya, mutasi ini juga termasuk mutasi diam.		(3')-TAA-(5') (5')-AUU-(3') -Ile-	-GAA- -CUU- -Leu-
Mutasi satu basa yang mematikan. Disini residu serin yang bersifat esensial bagi aktivitas enzim digantikan oleh fenilalanin, sehingga produk enzimatisnya menjadi tidak aktif.		(3')-AGA-(5') (5')-UCU-(3') -Ser-	-AAA- -UUU- -Phe-
Mutasi kebobolan. Disini penggantian asam amino kebobolan. Disini penggantian asam amino mengakibatkan protein yang sebagian aktivitasnya masih dapat dipertahankan.		(3')-CGT-(5') (5')-GCA-(3') -Ala-	-CCT- -GGA- -Gly-

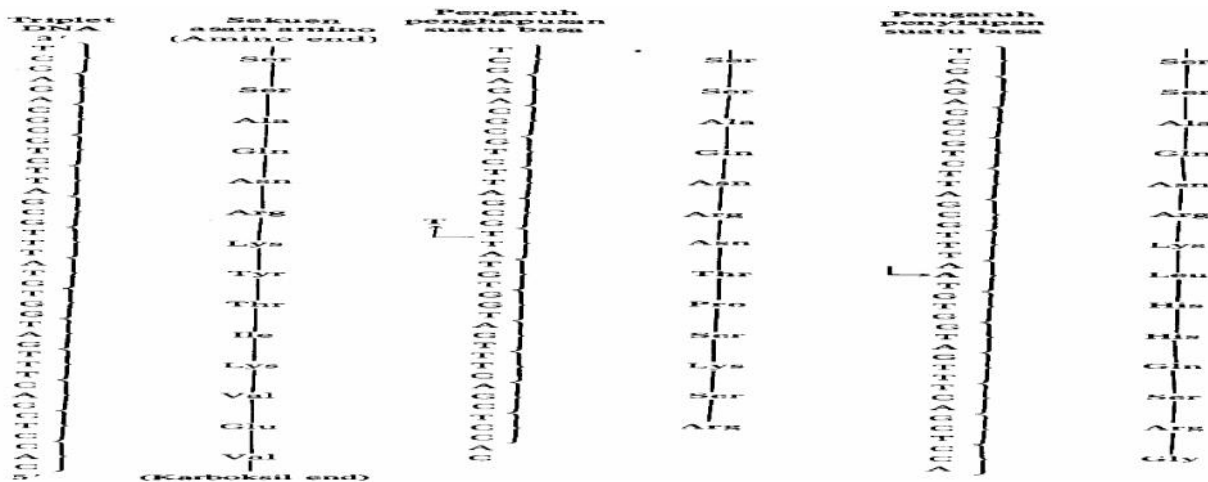
Penyisipan atau Penghapusan Nukleotida (Mutasi Pergeseran Kerangka)

Apabila suatu mutasi disebabkan oleh penyisipan atau penghapusan satu pasang basa pada suatu gen, peristiwa ini dapat mengakibatkan jenis kerusakan genetik yang lebih ekstensif. Konsekuensi mutasi ini adalah perusakan sifat kolinearitas di antara kodon-kodon pada urutan DNA dan urutan asam amino polipeptida yang disandinya. Perusakan ini akan dimulai pada tempat masuknya (tersisipnya) atau hilangnya basa yang

bersangkutan, karena akan terjadi pergeseran dalam kerangka pembacaan DNA. Akibatnya produk polipeptida akan memiliki urutan asam amino secara benar sampai pada titik mutasi, tetapi akan memiliki urutan asam amino yang kacau, yang sama sekali berbeda dari urutan asam amino setelah titik tersebut (gambar 2.8) Mutasi pergeseran kerangka sering kali menimbulkan kodon terminasi internal yang mengakibatkan rantai polipeptida yang lebih pendek dan belum sempurna dibuat terpaksa dilepaskan. Sebagian besar mutasi pergeseran kerangka satu basa mengakibatkan produk gen yang tidak aktif secara biologik (Guilfoile & Plum, 2004; Lehninger, 1982).

Mutasi pergeseran kerangka dapat dirangsang oleh molekul basa berbentuk pipih dan berukuran relatif besar yang menyerupai basa atau pasangan basa normal. Molekul ini cenderung melakukan *penyisipan* (*interkalasi*) diantara dua pasangan basa yang terletak berurutan, dan sebagai akibatnya menambahkan kelebihan basa pada DNA. Bilamana *untai yang telah berubah ini* melakukan replikasi, kelebihan basa ini dapat masuk ke dalam *untai anak* melalui pasangan basa yang salah dengan molekul penyisip ini.

Untuk dapat memahami terhadap mutasi pergeseran kerangka yang disebabkan oleh adanya penyisipan (*insersi*) dan penghapusan (*delesi*), dapat dilihat pada Gambar 8 di bawah ini.



Gambar 8: Mutasi pergeseran kerangka yang disebabkan oleh penyisipan (*insersi*) dan penghapusan (*delesi*)

PENUTUP

Simpulan

Berdasarkan lingkup materi dan pembahasan, maka dapat diambil simpulan sebagai berikut.

1. Evolusi molekuler adalah suatu pendekatan pengkajian evolusi yang berpijak pada genetika populasi dan biologi molekuler dengan lingkup atau area pengkajian pada perubahan materi genetik (urutan DNA atau RNA) dan produknya (protein) serta sejarah evolusi organisme yang didukung oleh data-data molekuler.
2. Secara kimiawi struktur DNA (Nukleotida) terdiri dari basa nitrogen (purin dan pirimidin), gula pentosa (ribosa dan deoksiribosa) serta asam posfat.
3. Beberapa bentuk perubahan evolusi berbasis urutan nukleotida adalah: (1) mutasi substitusi, (2) pengubahan satu pasang basa nukleotida (mutasi butir), dan (3) penyisipan (*insersi*) atau penghapusan (*delesi*) nukleotida yang merupakan mutasi pergeseran kerangka.
4. Dua model substitusi nukleotida pada urutan DNA adalah: *Jukes and Cantor's one-parameter model* dan *Kimura's two-parameter model*.

Saran-saran

Berdasarkan simpulan di atas dapat disarankan sebagai berikut.

1. Sangat perlu meningkatkan pemahaman dan pendalaman terhadap pendekatan evolusi molekuler berbasis urutan nukleotida karena pendekatan ini sangat banyak digunakan untuk mengkaji masalah-masalah evolusi dewasa ini.
2. Untuk lebih memahami perubahan evolusi berbasis urutan nukleotida, maka terlebih dahulu sangat diperlukan pemahaman terhadap genetika populasi dan biologi molekuler serta mempelajari lebih mendalam tentang mutasi substitusi, mutasi butir, dan mutasi pergeseran kerangka.

DAFTAR PUSTAKA

- Graur, D & Hsiung Li, W. 2000. *Fundamental of Molecular Evolution* .Second Edition. Massachusetts: Sinaur Associates, Inc, Publisher.
- Guilfoile, P. & Plum, S . 2004. *The Relationship Between Phenotype and Genotype*. American Biology Teacher, 6(4):288-291.
- Harris, H. 1994. *Dasar-dasar Genetika Biokemis Manusia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Lehninger (Terjemahan Maggy Tenawijaya). 1982. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 3*. Penerbit Erlangga Jakarta.
- Puterbaugh, M.N. & Burleugh, J.G. 2001. *Investigating Evolutionary Question Using Online Molecular Databases*. American Biology Teacher, 63(6):422-431.
- Stanfield, W. D. 1983. *Theory and Problem of Genetic*. Second Edition. New York: Schaum' Outline Series McGraw-Hill, Inc.
- Stearn, S.C. & Hoekstra, R.F. 2003. *Evolution an Introduction*. New York: Oxford University Press.
- Subandi & Amin, M. 2005. *Bahan Ajar Biokimia*. PPS UM. Malang
- Waluyo, L. 2005. *Evolusi Organik*. UMM Press. Malang
- Widodo, dkk. 2003. *Evolusi* (Program Semi Que-IV) Direktorat Pendidikan Tinggi. Proyek Peningkatan Manajemen Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional.Jakarta