

Studi in Silico *Amorphophallus* sp. Berdasarkan DNA Barcode rbcL

In Silico Study of *Amorphophallus* sp. Based on rbcL DNA Barcode

Titin Ayuk Nofitasari¹⁾, Syifara Chika²⁾, Hilda Putri Ningrum³⁾

^{1,3)}Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang
Jl. Prof. Dr. Hamka Km 02, Kelurahan Tambakaji, Kecamatan Ngaliyan, Kota Semarang, Jawa Tengah 50185

²⁾Program Studi Magister Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jl. Jalan Prof. Jacob Rais, Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah 50275

Email: titinayuknofitasari12@gmail.com

ABSTRAK

Amorphophallus sp. merupakan genus tumbuhan dari famili Araceae dapat ditemukan tumbuh secara liar di alam yang memiliki nilai ekologis dan ekonomi signifikan. Spesies-spesies *Amorphophallus* menunjukkan variasi morfologi yang cukup tinggi. Tingginya variasi ini menunjukkan adanya keragaman genetik yang perlu untuk dikaji sebagai upaya konservasi genetik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan kekerabatan, jarak, dan variasi genetik pada 18 spesies *Amorphophallus* berdasarkan gen rbcL. Metode yang digunakan yaitu mengoleksi data sekuens DNA, mengurutkan sekuens DNA, serta sekuens yang telah disejajarkan dilanjutkan untuk dianalisis jarak genetik dan variasi genetiknya. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik *Amorphophallus* sp. menunjukkan bahwa pada region rbcL terbagi menjadi 3 (tiga) *clade* ingroup dan satu outgroup. Clade 1 terdiri dari *A. variabilis*, *A. tinekeae*, *A. lambii*, *A. beccarii*, *A. discophorus*, *A. decus-silvae*, *A. titanum*, *A. borneensis*, *A. gigas*, dan *A. hewitii*. Clade 2 terdiri dari *A. paeoniifolius*, *A. koratensis*, dan *A. prainii*. Clade 3 terdiri dari *A. haematospadix*, *A. manta*, *A. pendulus*, *A. hirsutus*, dan *A. muelleri*. Outgroup yang digunakan yaitu *Alocasia macrorrhizos*. Jarak genetik antar spesies *Amorphophallus* sp. relatif sempit yaitu antara 0,00-0,02. Pada wilayah DNA barcode rbcL memiliki 17 variasi pada nukleotida *Amorphophallus*.

Keywords: *Amorphophallus*; DNA Barcoding; Filogenetik; In silico

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang mempunyai keanekaragaman hayati tinggi (Indahsari, 2023). Berdasarkan sifat kepulauan dan sejarah geologisnya, flora dan fauna di Indonesia telah mengalami evolusi yang beragam secara global, sehingga dikatakan bahwa negara Indonesia mempunyai tanaman endemik yang tinggi, salah satunya yang banyak berkembang yaitu *Amorphophallus* (Von Rintelen et al., 2017). *Amorphophallus* sp. merupakan genus tumbuhan dari famili Araceae dapat ditemukan tumbuh secara liar di alam yang memiliki nilai ekologis dan ekonomi signifikan. Tumbuhan *Amorphophallus* memiliki keistiwewaan, bunganya akan menghasilkan bau

busuk yang menyengat ketika bertunas (Wahyu et al., 2022). Tanaman ini banyak dimanfaatkan untuk industri kosmetik, bioetanol, dan pangan fungsional (Supriati, 2016). Selain itu, *Amorphophallus* sp. berpotensi dijadikan sebagai pangan fungsional bagi pasien diabetes melitus karena mengandung glukomanan yaitu karbohidrat serat yang berperan memperlambat laju penyerapan makanan di usus kecil, sehingga dapat menurunkan lonjakan glukosa dan insulin postprandial, serta memperbaiki sensitivitas insulin perifer (Thelmalina & Wirasuta, 2022).

Di Indonesia terdapat beragam spesies *Amorphophallus* yang tersebar di berbagai pulau, antara lain *Amorphophallus paeoniifolius*, *Amorphophallus variabilis*, *A. titanum*, *A. borneensis*, *A. gigas*, *A. lambii*, *A. costatus*, *A. borneensis*, *A. gigas*, *A. haematospadix*, *A. prainii*, *A. decus-silvae*. Spesies-spesies *Amorphophallus* menunjukkan variasi morfologi yang cukup tinggi, baik dari bentuk daun, ukuran umbi, ukuran, dan struktur bunga. Tingginya variasi ini menunjukkan adanya keragaman genetik yang perlu untuk dikaji sebagai upaya konservasi genetik (Santosa & Sugiyama, 2016; Supriati, 2016). Namun, berdasarkan data *The IUCN Red List of Threatened Species*, populasi *A. titanum* mengalami penurunan (*decreasing*) sejak tahun 2018 pada tingkat global. Kondisi ini menunjukkan pentingnya upaya konservasi genetik untuk mempertahankan keberagaman plasma nutfah spesies tersebut, sekaligus mencegah hilangnya variasi genetik yang berpotensi penting bagi adaptasi dan kelangsungan hidup populasi di habitat alamnya (Yuzammi & Hadiah, 2018).

Pengenalan dan penentuan status genetik suatu jenis atau spesies sangat diperlukan untuk mendukung kegiatan konservasi (Bhandari et al., 2017). Identifikasi organisme pada awalnya hanya berdasarkan pada karakter morfologi. Namun, pengenalan dan penentuan status dengan penanda morfologis memiliki keterbatasan yaitu memerlukan waktu yang lama dan sangat dipengaruhi oleh pengaruh lingkungan (Anumalla et al., 2015). Di era saat ini identifikasi organisme telah berkembang ke arah taksonomi molekuler dengan pengelompokannya dilakukan berdasarkan kemiripan gen yang dimiliki organisme tersebut. Analisis molekuler diperlukan untuk memperkuat dan mendukung identifikasi spesies secara morfologi. Hal tersebut dikarenakan karakter molekuler lebih stabil terhadap pengaruh lingkungan (Rahayu and Jannah, 2019).

Identifikasi menggunakan marka molekuler dapat dilakukan dengan DNA barcoding karena lebih cepat, konsisten, dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Irawan et al., 2016). DNA barcoding memanfaatkan fragmen DNA tertentu sebagai penanda genetik untuk mengidentifikasi atau membedakan spesies secara molekuler (Lima et al., 2018). Sekuens DNA yang diperoleh dapat digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan dari suatu jenis dengan cara mengkonstruksi pohon filogenetik. Karakterisasi dan analisis filogenetik sangat penting dalam konservasi genetik dan sebagai dasar dalam penyusunan kebijakan pengelolaan sumber daya hayati (Sari et al., 2023). DNA barcoding memiliki prinsip standar, minimalis, dan skalabilitas dengan target daerah

genetik tertentu. Pada tanaman, pendekatan multilokus pada gen kloroplas banyak digunakan salah satunya gen *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase* (rbcL) yang mudah disejajarkan dan dapat mengidentifikasi tingkat genus. Selain itu, gen Maturase-K (matK) juga sering digunakan karena memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi, sehingga mampu membedakan spesies yang berkerabat dekat (Coissac et al., 2016).

Berdasarkan urgensi konservasi dan potensi pemanfaatan *Amorphophallus* sp, serta keterbatasan metode indentifikasi konvensional berbasis morfologi, diperlukan pendekatan yang lebih akurat dan efisien. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan kekerabatan, jarak, dan variasi genetik pada 18 spesies *Amorphophallus* berdasarkan gen rbcL. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat memberikan gambaran keragaman genetik pada genus *Amorphophallus* yang dapat mejadi dasar dalam kajian taksonomi molekuler, identifikasi spesies, serta mendukung upaya pelestarian dan pengelolaan sumber daya genetik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *in silico* yang terbagi menjadi tiga tahapan, sebagai berikut

1. Tahap pertama : mengoleksi data sekuens DNA yang diperoleh dari database GenBank (NCBI) dengan menggunakan fitur pencarian berdasarkan nama spesies dan gen spesifik yang diinginkan. Sekuens DNA yang diperoleh kemudian dipilih berdasarkan kriteria gen rbcL dari spesies *Amorphophallus* yang ditemukan dan dipelajari di Indonesia. Data yang didapatkan disimpan dalam format FASTA. Informasi data yang diperlukan meliputi *accession number*, panjang nukleotida, dan sekuens nukleotida yang dianalisis.
2. Tahap kedua : mengurutkan sekuens DNA menggunakan *tools* Clustal W pada software MEGA X. Hal ini berguna untuk menentukan persamaan dan perbedaan dalam urutan basa nukleotida dari spesies yang dianalisis.
3. Tahap ketiga yaitu sekuens yang telah disejajarkan dianalisis jarak genetiknya menggunakan metode *pairwise distance* (*p distance*), sehingga didapatkan hasil jarak genetik dalam Ms. Excel. Kemudian konstruksi pohon filogenetik menggunakan software MEGA X dengan UPGMA model Kimura-2 Parameter dan *bootstrap* 1000x. Kemudian Variasi genetik dianalisis menggunakan data alignment sekuens *Amorphophallus* sp. dalam format FASTA menggunakan perangkat MULTALIN.

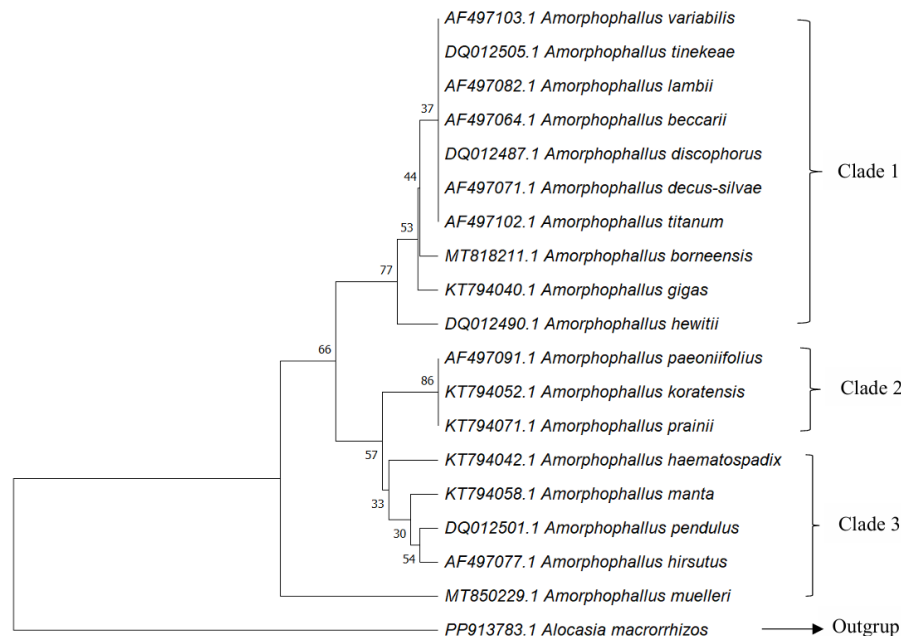
Tabel 1. Sekuens gen rbcl spesies *Amorphophallus* sp. yang Diperoleh dari NCBI

No.	Nama Spesies	Accession Number	Length (bp)
1	<i>Amorphophallus hewitii</i>	DQ012490.1	1.432
2	<i>Amorphophallus muelleri</i>	MT850229.1	683
3	<i>Amorphophallus titanum</i>	AF497102.1	1.466
4	<i>Amorphophallus borneensis</i>	MT818211.1	543
5	<i>Amorphophallus decus-silvae</i>	AF497071.1	1454
6	<i>Amorphophallus discophorus</i>	DQ012487.1	1.400
7	<i>Amorphophallus gigas</i>	KT794040.1	1363
8	<i>Amorphophallus beccarii</i>	AF497064.1	1488
9	<i>Amorphophallus lambii</i>	AF497082.1	1473
10	<i>Amorphophallus manta</i>	KT794058.1	1378
11	<i>Amorphophallus prainii</i>	KT794071.1	1381
12	<i>Amorphophallus paeoniifolius</i>	AF497091.1	1479
13	<i>Amorphophallus koratensis</i>	KT794052.1	1,363
14	<i>Amorphophallus haematospadix</i>	KT794042.1	1381
15	<i>Amorphophallus pendulus</i>	DQ012501.1	1,459
16	<i>Amorphophallus variabilis</i>	AF497103.1	1,476
17	<i>Amorphophallus hirsutus</i>	AF497077.1	1,482
18	<i>Amorphophallus tinekeae</i>	DQ012505.1	1427

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Rekonstruksi Pohon Filogenetik

Terdapat 18 sekuens gen rbcL yang diperoleh dari NCBI dan dianalisis untuk merekonstruksi pohon filogenetik. Gen rbcL berasal dari gen kloroplas yang menyadi subunit enzim *ribulose-1,5-bisfosfat karboksilase/oksigenase* (RuBisCO) yang terlibat dalam proses fotosintesis. Gen ini bersifat konservatif sehingga digunakan dalam barcoding karena memiliki tingkat keberhasilan amplifikasi dan sekuensing yang tinggi, serta mampu memberikan hubungan filogenetik yang baik dalam tingkat genus dan famili (Gholave et al., 2017). Hasil rekonstruksi pohon filogenetik dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rekonstruksi pohon filogenetik *Amorphophallus* sp. menggunakan metode UPGMA dengan model Kimura-2 Parameter dan menggunakan nilai bootstrap 1000x

Pohon filogenetik digunakan untuk menganalisis hubungan kekerabatan antar organisme, yang divisualisasikan dalam bentuk garis bercabang menyerupai struktur pohon (Kinene et al., 2016). Hasil rekonstruksi pohon filogenetik *Amorphophallus* sp. (Gambar 1) menunjukkan bahwa pada region *rbcL* terbagi menjadi 3 (tiga) *clade ingroup* dan satu *outgroup*. *Clade 1* terdiri dari *A. variabilis*, *A. tinekeae*, *A. lambii*, *A. beccarii*, *A. discophorus*, *A. decus-silvae*, *A. titanum*, *A. borneensis*, *A. gigas*, dan *A. hewitii*. *Clade 2* terdiri dari *A. paeoniifolius*, *A. koratensis*, dan *A. prainii*. *Clade 3* terdiri dari *A. haematospadix*, *A. manta*, *A. pendulus*, *A. hirsutus*, dan *A. muelleri*. Pengelompokan tersebut terjadi karena terdapat kemiripan susunan nukleotida pada setiap sampel. *Outgroup* pada penelitian ini adalah *Alocasia macrorrhizos*, spesies tersebut dipilih menjadi *outgroup* karena masih satu famili yang sama dengan *Amorphophallus* sp. yaitu famili Araceae. Pemilihan *outgroup* dapat dilakukan secara acak ataupun berdasarkan hubungan kekerabatan yang jelas antara *ingroup* dan *outgroup* (Luo et al., 2010). *Outgroup* dapat membantu memisahkan *clade* dalam suatu genus yang diteliti dan menentukan arah evolusi (Grant, 2019).

Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan metode UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) dengan model Kimura-2 Parameter dan menggunakan nilai *bootstrap* 1000x. Prinsip UPGMA adalah mengelompokkan organisme berdasarkan tingkat kemiripan atau jarak evolusioner di antara mereka. UPGMA mengasumsikan bahwa laju evolusi berlangsung secara konstan

atau seragam pada semua garis keturunan, sehingga pohon yang dihasilkan bersifat terakar dan mencerminkan waktu divergensi antar spesies (Sneath & Sokal, 1973). *Bootstrap replications* yang tertera pada pohon filogenetik digunakan untuk menguji validitas topologi pohon filogenetik (Hoang et al., 2018). Panjang seluruh sekuen *Amorphophallus* sp. pada DNA barcode *rbcL* adalah 519 bp.

Jarak Genetik *Amorphophallus* sp.

Analisis filogenetik diperkuat dengan perhitungan nilai jarak genetik (*pairwise distance*). Analisis jarak genetik ini dilakukan untuk mengetahui hubungan kekerabatan *Amorphophallus* sp. Jarak genetik berguna untuk menunjukkan hubungan kekerabatan antar sampel. Jika jarak genetik semakin kecil antar sampel, maka kemiripan basa nukleotida DNA semakin besar, sehingga hubungan kekerabatannya dekat. Sementara, jarak genetik yang semakin besar antar sampel menunjukkan kemiripan basa nukleotida DNA semakin kecil, sehingga hubungan kekerabatannya semakin jauh (Hermawan, 2023)

Hasil analisis jarak genetik terhadap 18 spesies *Amorphophallus* dengan penanda gen *rbcL* dapat dilihat pada Tabel 2. Gen *rbcL* bersifat konservatif dengan rentang jarak genetik antar spesies *Amorphophallus* sp. relatif sempit yaitu antara 0,00-0,02. Beberapa pasangan spesies yang menunjukkan jarak genetik terdekat (0,00) satu sama lain, mengindikasikan hubungan kekerabatan sangat dekat dan kemungkinan berasal dari leluhur yang sama. Spesies yang menunjukkan jarak genetik 0,01 terhadap beberapa spesies, mengindikasikan posisi transisi atau berada diantara klaster konservatif dan divergen. Spesies yang memiliki jarak genetik terjauh (0,02) terhadap beberapa spesies, mengindikasikan spesies tersebut mengalami divergensi lebih awal atau memiliki evolusi yang relatif terpisah karena faktor geografis yang berbeda.

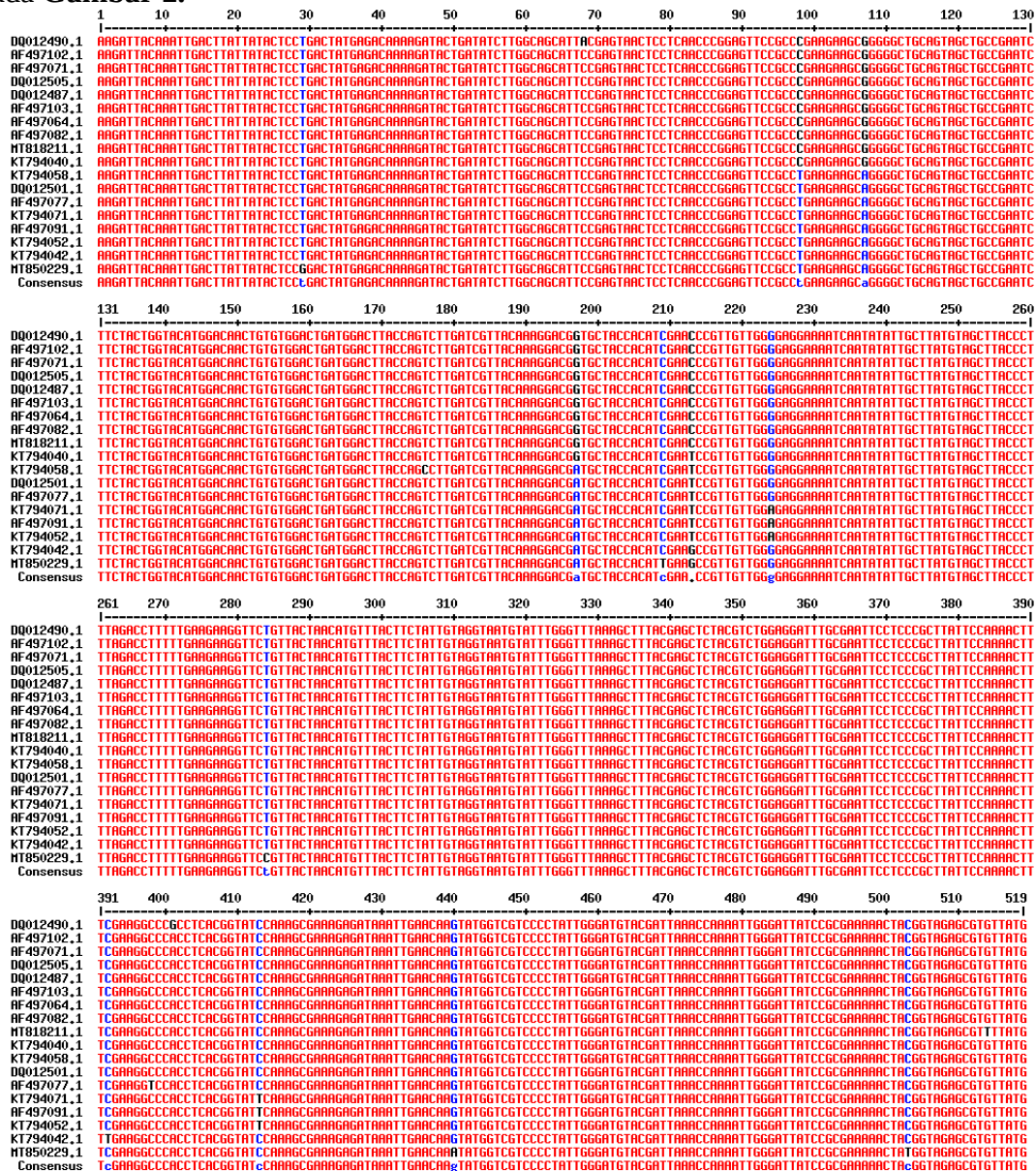
Tabel 2. Perkiraan jarak evolusi dalam sekuens gen *rbcL* antara 18 spesies *Amorphophallus*

Spesies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1 <i>A. hewitii</i>																	
2 <i>A. muelleri</i>	0.02																
3 <i>A. titanum</i>	0.00	0.02															
4 <i>A. borneensis</i>	0.01	0.02	0.00														
5 <i>A. decus-silvae</i>	0.00	0.02	0.00	0.00													
6 <i>A. discophorus</i>	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00												
7 <i>A. gigas</i>	0.01	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00											
8 <i>A. beccarii</i>	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00										
9 <i>A. lambii</i>	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00									
10 <i>A. manta</i>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01								
11 <i>A. prainii</i>	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01							
12 <i>A. paeoniifolius</i>	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01						
13 <i>A. koratensis</i>	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00				

14	A.	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	<i>haematospadix</i>														
15	<i>A. pendulus</i>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
16	<i>A. variabilis</i>	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
17	<i>A. hirsutus</i>	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00
18	<i>A. tinekeae</i>	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00

Analisis Variasi Genetik *Amorphophallus* sp.

Spesies *Amorphophallus* yang diteliti memiliki variasi genetik seperti yang tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Variasi genetik *Amorphophallus* sp. berdasarkan DNA barcode rbcL

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan bahwa *Amorphophallus* sp. pada wilayah DNA barcode rbcL memiliki 17 variasi yaitu pada nukleotida nomor 29, 68, 98, 107, 176, 197, 209, 213, 224, 284, 392, 398, 401, 413, 440, 503, dan 515. Variasi genetik tersebut disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya karena sekuen yang diteliti berasal dari spesies yang berbeda. Perbedaan spesies menyebabkan variasi genetik karena setiap spesies memiliki urutan nukleotida yang berbeda-beda. Selain itu, adanya mutasi, faktor lingkungan seleksi alam, dan isolasi reproduktif juga sangat berpengaruh terhadap variasi genetik. Perbedaan spesies pada dasarnya merupakan hasil dari variasi genetik yang terus berkembang dan diwariskan antar generasi (Coyne & Orr, 2004). Variasi genetik juga dapat disebabkan karena adanya mutasi yang terdiri dari delesi, insersi, transisi, dan tranversi. Persamaan serta perbedaan karakter yang dimiliki antar spesies tersebut digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatannya (Chika, 2024).

Gen rbcL (*Ribulosa-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase large subunit gene*) digunakan sebagai salah satu kandidat DNA barcode pada tumbuhan untuk menganalisis variasi genetik, karakteristik molekuler, hubungan kekerabatan (Syahreza et al., 2023). DNA Barcode rbcL dan merupakan DNA kloroplas yang berasal dari keturunan maternal (Chika & Zahro, 2024). Menurut *Consortium Barcode of Life* atau CBOL (2009), gen rbcL memiliki tingkat mutasi lebih rendah dibandingkan penanda DNA kloroplas lainnya, sehingga dapat digunakan sebagai penanda yang baik dalam analisis sistematika tumbuhan. Menurut penelitian Cumming (2003), menyatakan bahwa gen rbcL memiliki tingkat keberhasilan yang tinggi dalam proses sekuensing dua arah menggunakan primer *forward* dan *reverse* (*bidirectional sequencing*) jika dibandingkan dengan kandidat DNA barcode yang lainnya.

PENUTUP

Berdasarkan hasil rekonstruksi pohon filogenetik menunjukan bahwa daerah rbcL terbagi menjadi tiga *clade ingroup* dan satu *clade outgroup*. Pengelompokan tersebut terjadi karena terdapat kemiripan susunan nukleotida pada setiap sampel. Jarak genetik terhadap 18 spesies *Amorphophallus* dengan penanda gen rbcL dengan rentang jarak genetik antar spesies *Amorphophallus* sp. relatif sempit yaitu antara 0,00-0,02. Variasi genetik *Amorphophallus* sp. dari DNA barcode rbcL menunjukkan bahwa *Amorphophallus* sp. pada wilayah DNA barcode rbcL memiliki 17 variasi yaitu pada nukleotida nomor 29, 68, 98, 107, 176, 197, 209, 213, 224, 284, 392, 398, 401, 413, 440, 503, dan 515. Variasi genetik tersebut disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya karena sekuen yang diteliti berasal dari spesies yang berbeda, adanya mutasi, faktor lingkungan seleksi alam, dan isolasi reproduktif juga sangat berpengaruh terhadap variasi genetik.

REFERENSI

- Anumalla, M., Roy, R., & Goud, J. V. (2015). Overview: Morphological and Molecular Markers Role in Crop Improvement Programs. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(4), 388–404.
- Bhandari, H. R., Bhanu, A. N., Srivastava, K., Singh, M. N., & Shreya. (2017). Assessment of Genetic Diversity in Crop Plants-An Overview. *Advances in Plants & Agriculture Research*, 7(3), 279–286.
- Chika, S. (2024). In Cilico Study and Genetic Variation of Genus *Rhododendron* using DNA Barcode trnL–trnF Intergenic Spacer. In *Proceeding of International Conference on Biology Education, Natural Science, and Technology* (pp. 31-38).
- Chika, S., & Zahro, S. (2024). An In Silico Approach for Evaluation of ITS, rbcL, and psbA-trnH for DNA Barcoding of *Eugenia* spp. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 15(1), 153-167.
- Coissac, E., Hollingsworth, P. M., Lavergne, S., & Taberlet, P. (2016). From Barcodes to Genomes: Extending the concept of DNA barcoding. *Molecular Ecology*, 25(7), 1423–1428.
- Consortium Barcode of Life (CBOL). (2009). *A DNA Barcode for Land Plants*. PNAS, 106 (31).
- Coyne, J. A., & Orr, H. A. (2004). Speciation: a Catalogue and Critique of Species Concepts. *Philosophy of biology: an anthology*, 272-92.
- Cumming, M.P., Nugent, J.M., Olmstead, R.G. & Palmer, J.D. (2003). Phylogenetik Analysis Reveals Five Independent Transfer of the Chloroplast Gene rbcL to the Mitochondrial Genome in Angiosperms. *Curr Genet*, 43, 131-138.
- Gholave, A. R., Pawar, K. D., Yadav, S. R., Bapat, V. A., & Jadhav, J. P. (2017). Reconstruction of Molecular Phylogeny of Closely Related *Amorphophallus* Species of India Using Plastid DNA Marker and Fingerprinting Approaches. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23, 155-167.
- Grant, T. (2019). Outgroup Sampling in Phylogenetics: Severity of Test and Successive Outgroup Expansion. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 57(4), 748-763.
- Hoang, D. T., L. S. Vinh, T. Flouri, A. Stamatakis, A. V. Haeseler, & B. Q. Minh. (2018). MPBoot: Fast Phylogenetic Maximum Parsimony Tree Inference and Bootstrap Approximation. *BMC Evolutionary Biology*, 18, 1-11.
- Indahsari, L. I. N. Studi Filogenetik Kantung Semar (*Nepenthes* spp.) Berdasarkan Sekuens Gen *Nep2* dan *trnK* di Paparan Sunda: Studi in Silico. *Wahana-Bio: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 15(1), 12-22.
- Irawan, B., Sari, D. P., & Nugroho, A. (2016). DNA Barcoding sebagai Metode Identifikasi Molekuler Cepat dan Akurat. *Jurnal Biologi Indonesia*, 12(2), 123–

- 130.
- Kinene, T., Wainaina, J., Maina, S., & Boykin, L. M. 2016. Rooting trees, Methods for. *Encyclopedia of Evolutionary Biology*, 489.
- Luo, A. R., Zhang, Y. Z., Qiao, H.-J., Shi, W.-F., Murphy, R. W., & Zhu, C.-D. 2010. Outgroup Selection in Tree Reconstruction: a Case Study of the Family Halictidae (Hymenoptera: Apoidea). *Acta Entomologica Sinica*, 53(2), 192-201.
- Rahayu, S., & Jannah, M. (2019). Studi in silico: DNA barcoding *Amorphophallus* sp. di Paparan Sunda Berdasarkan Penanda *rbcL* dan ITS. *Jurnal Biologi Indonesia*, 15(2), 123–130.
- Santosa, E., & Sugiyama, N. (2016). *Amorphophallus* species in East Nusa Tenggara Islands, Indonesia. *Tropical Agriculture and Development*, 60(1), 53-57.
- Sari, N. P., Fitriani, D., & Prasetyo, A. (2023). DNA Barcoding untuk Konservasi Genetik: Studi Kasus Pada Spesies Endemik Indonesia. *Jurnal Konservasi Hayati*, 18(1), 45–52.
- Sneath, P.H.A., and Sokal, R.R. 1973. *Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification*. W. H. Freeman and Company. San Francisco.
- Supriati, Y. (2016). Keanekaragaman iles-iles (*Amorphophallus* spp.) dan Ootensinya untuk Industri Pangan Fungsional, Kosmetik, dan Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*, 35(2), 69-80.
- Syahreza, D. R., Tambunan, E. P. S., & Idami, Z. (2023). Uji Molekuler Menggunakan Gen *rbcL* Pada Tumbuhan Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology)*, 6(2), 605-611.
- Thelmalina, F. J., & Wirasuta, I. M. A. G. (2022). Potensi *Amorphophallus* sp. sebagai Pangan Fungsional Untuk Pasien Diabetes Melitus. In *Prosiding Workshop Dan Seminar Nasional Farmasi* (Vol. 1, pp. 230-243).
- von Rintelen, K., Arida, E., & Häuser, C. (2017). A Review of Biodiversity-related Issues and Challenges in Megadiverse Indonesia and Other Southeast Asian countries. *Research Ideas and Outcomes*, 3, e20860.
- Wahyu, J., Virgota, A., Sukiman, S., Farista, B., & Suropto, S. (2022). Preliminary Study: Habitat Characteristics of *Amorphophallus* spp. to Support Cultivation Development in East Lombok. *Jurnal Biologi Tropis*, 22(1), 62-69.
- Yuzammi & Hadiah, J.T. (2018). *Amorphophallus titanum*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2018: e.T118042834A118043213. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20182.RLTS.T118042834A118043213.en>
Accessed on 14 June 2025.