



STUDI PERBANDINGAN KODE BATANG DNA INTI DAN KLOROPLAS PADA *Heliconia* IN SILICO

COMPARISONAL IN SILICO STUDY OF NUCLEAR AND CHLOROPLAST DNA BARCODE in *Heliconia*

Erlin Via Vertiana¹, Ade Ayu Oksari^{1*}, Muhammad Rifqi Hariri²

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Nusa Bangsa,
Jl. KH. Sholeh Iskandar Km. 4, Tanah Sareal, Kota Bogor, Indonesia, 16166

²Pusat Riset Biosistemika dan Evolusi – Badan Riset dan Inovasi Nasional,
Jl. Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong, Bogor 16003

*Corresponding author: adeayuoksari@gmail.com

Abstrak

Heliconia merupakan tanaman pisang hias yang banyak dibudidayakan di daerah tropis. Keberadaan *Heliconia* di Indonesia memiliki kelimpahan tinggi yang menjadikan tanaman tersebut berpotensi untuk bersaing di pasar bunga Internasional. *Heliconia* merupakan kelompok tumbuhan belum banyak dipelajari karakter molekulernya, sehingga perlu diperhatikan karena memiliki keterkaitan dengan pentingnya upaya konservasi dan pemuliaan plasma nutfahnya. DNA *barcoding* dapat digunakan sebagai yang efektif dalam mendeterminasi spesies. Metode yang dilakukan merupakan studi *in silico* menggunakan database Genbank (NCBI). Sekuen DNA yang dikoleksi dari *database* pada NCBI yaitu terdiri dari region inti sel dan plastida, yakni *rbcL*, *matK*, ITS, *psbA* dan *trnL*. Analisis data penyelarasan sekuen, identifikasi sekuen yang berpotensi sebagai *barcode* dan konstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan menggunakan MEGA X. Analisis bioinformatik pohon filogenetik *Heliconia* menunjukkan bahwa hasil algoritma UPGMA *Tree* menggunakan gen *matK* dan *rbcL* sekuen parsial sangat konservatif dan gagal dalam diskriminasi spesies, sedangkan *region* ITS memiliki tingkat variasi genetik tinggi dan kemampuan diskriminasi yang baik. *Region psbA* dan *trnL* dianggap sebagai gen pelengkap untuk identifikasi tumbuhan khususnya *Heliconia*, karena kurangnya ketersediaan akses *online* untuk spesies-spesies tumbuhan.

Kata kunci: *Heliconia*; Kode batang DNA; NCBI; Penanda *barcode*; Pohon filogenetik

Abstract

Heliconia is an ornamental banana plant that is widely cultivated in the tropics. The presence of *Heliconia* in Indonesia has a high abundance which makes this plant potential to compete in the international flower market. *Heliconia* is a plant group whose molecular character has not been studied much, so it needs to be considered because it is related to the importance of conservation and breeding of its germplasm. DNA *barcoding* can be used as an effective method for determining species. The method used is an *insilico* study using the Genbank database (NCBI). The DNA sequences collected from the database at NCBI consist of the cell nucleus and plastid regions, namely *rbcL*, *matK*, ITS, *psbA* and *trnL*. Analysis of sequence alignment data, identification of potential sequences as barcodes and construction of phylogenetic trees were carried

out using MEGA X. Bioinformatic analysis of *Heliconia* phylogenetic trees showed that the results of the UPGMA Tree algorithm using *matK* and *rbcL* genes were very conservative and failed in species discrimination, while the ITS region have a high level of genetic variation and good discrimination ability. The *psbA* and *trnL* regions are considered as complementary genes for plant identification especially *Heliconia*, due to the lack of availability of online accessions for plant species.

Keywords: Barcode region; DNA barcode; *Heliconia*; NCBI; Phylogenetic tree

PENDAHULUAN

Heliconia merupakan tanaman herba menahun yang dikenal sebagai cakar lobster (Malakar *et al.*, 2015). *Heliconia* di Indonesia dikenal dengan sebutan pisang hias karena memiliki karakteristik morfologi seperti pisang dan sering dimanfaatkan sebagai tanaman hias (Hapsari *et al.*, 2019). Karakteristik unik pada *Heliconia* menjadikan tanaman tersebut berpotensi untuk bersaing di pasar bunga internasional sehingga banyak dibudidayakan sebagai tanaman ornamental, baik berupa bunga potong maupun tanaman lanskap (Guimarães *et al.*, 2014). *Heliconia* merupakan satu-satunya genus anggota famili *Heliconiaceae* dalam ordo *Zingiberales* (Marouelli *et al.*, 2010).

Heliconia berasal dari daerah tropis Amerika namun beberapa spesies ditemukan di daerah Pasifik Selatan. Terdapat 120-250 spesies *Heliconia* dan 40 spesies diantaranya sudah dikenal di Indonesia. Persebaran *Heliconia* di Indonesia dapat ditemukan di Maluku, Jawa Timur, Jawa Barat (Hapsari *et al.*, 2019), Bali (Zuraida *et al.*, 2018), Yogyakarta (Basuki *et al.*, 2015), Jakarta (Silalahi, 2016) dan Sulawesi (Flores *et al.* 2017). Sebagian besar spesies *Heliconia* mendiami daerah lembab atau basah, tetapi beberapa ditemukan di daerah kering musiman. Meskipun *Heliconia* mencapai pertumbuhan vegetatif yang paling subur di tempat lembab dataran rendah tropis pada ketinggian di bawah 500 meter, jumlah spesies terbanyak (banyak endemik lokal) ditemukan di dataran sedang (800-1.500 meter) hujan dan habitat hutan awan (Kress, 1990).

Potensi *Heliconia* sebagai tanaman ornamental menjadi hal yang perlu diperhatikan karena memiliki keterkaitan dengan pentingnya upaya konservasi dan pemuliaan plasma nutfah *Heliconia* sehingga tetap dapat memenuhi ketersediaan tanaman tersebut di pasar bunga internasional. Selain itu, *Heliconia* mempunyai lebih banyak potensi yang belum dikembangkan secara maksimal, seperti sebagai obat, pangan sampai dekorasi rumah. Oleh karena itu, perlu dilakukan karakterisasi untuk mengetahui keragaman genetik *Heliconia* sehingga dapat memberikan informasi sebagai dasar referensi penelitian terkait *Heliconia* dalam hal konservasi maupun bidang lainnya (Loges *et al.*, 2013).

DNA *barcoding* adalah teknik untuk mengkarakterisasi spesies organisme menggunakan urutan DNA pendek dari posisi standar dan disepakati dalam genom. DNA *barcoding* memiliki prinsip dasar yaitu identifikasi menggunakan sekuen DNA pendek “barcode” dari bagian standar genom dari spesimen yang sedang diteliti (Hajibabaei *et al.*, 2007). Identifikasi spesies berbasis DNA merupakan metode yang cepat dan konsisten sehingga dapat dipertanggungjawabkan (Irawan *et al.*, 2016). Hal tersebut dikarenakan karakter DNA yang relatif lebih konstan dibandingkan karakter morfologi (Hidayat *et al.*, 2008). Sekuen DNA yang diperoleh dapat digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan dari suatu spesies dengan cara mengkonstruksi pohon filogenetik.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kemampuan determinasi jenis beberapa *region* DNA *Heliconia* secara *in silico*. Hasil penelitian diharapkan dapat menyediakan informasi *region* DNA *barcode* terbaik yang dapat digunakan dalam determinasi dan delineasi jenis *Heliconia* sehingga mampu mendukung upaya pemanfaatan berkelanjutan dan konservasinya.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian dilakukan pada Maret 2021 di Laboratorium Treub, Kebun Raya Bogor dengan memanfaatkan data sekuen gen ITS, *rbcL*, *matK*, *psbA* dan *trnL* dari 58 spesies *Heliconia* yang terdapat di Genbank. Secara umum, penelitian ini meliputi tiga kegiatan utama, yaitu: (1) Koleksi

sekuen DNA *barcode Heliconia*; (2) Penyejajaran sekuen menggunakan CLUSTAL W; (3) Konstruksi pohon kekerabatan *Heliconia*.

Pencarian Sekuen Nukleotida dan Analisis Homologi

Sekuen nukleotida gen ITS (Tabel 1), *rbcL* (Tabel 2), *matK* (Tabel 3), *psbA* (Tabel 4) dan *trnL* (Tabel 5) *Heliconia* merupakan data utama dalam penelitian ini. Sekuen DNA ditelusuri pada laman GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Data nomor akses, panjang nukleotida, Panjang sekuen, serta asal *Heliconia* diekstrak dan disusun dalam tabel data sebelum dianalisis lebih lanjut.

Penyejajaran Sekuen

Penyejajaran sekuen dilakukan menggunakan metode Clustal W. Konstruksi pohon kekerabatan dilakukan menggunakan metode UPGMA *tree (Unweighted Pairgroup Method with Arithmetic Average)* digunakan untuk membentuk pohon fenetik (Oktavianingsih, 2019) dengan bootstrap sebanyak 500 kali ulangan (Pangestika *et al.*, 2015). Seluruh analisis dikerjakan menggunakan MEGA X (Kumar *et al.*, 2018).

Tabel 1. Informasi Data *Region ITS Heliconia*

No.	Spesies	Nomor Akses	Panjang Nukleotida (bp)
1	<i>Heliconia vaginalis</i> Benth.	KY215005.1	640
2	<i>Heliconia vaginalis</i> Benth.	KY215123.1	640
3	<i>Heliconia wagneriana</i> Peterson.	KY215128.1	571
4	<i>Heliconia wagneriana</i> Peterson.	KY215036.1	1,010
5	<i>Heliconia collinsiana</i> Criggs.	KY214984.1	622
6	<i>Heliconia collinsiana</i> Criggs.	KY314983.1	622
7	<i>Heliconia aemygdiana</i> Burle-Marx.	KY214958.1	673
8	<i>Heliconia acuminata</i> A.Rich	KY214957.1	669
9	<i>Heliconia longiflora</i> R.R.Sm	KY214955.1	675
10	<i>Heliconia willisiana</i> Abalo & G.Morales.	KY215041.1	632
11	<i>Heliconia willisiana</i> Abalo & G.Morales.	KY215130.1	625
12	<i>Heliconia laufao</i> W.J.Kress	KY215035.1	643
13	<i>Heliconia laufao</i> W.J.Kress	KY215034.1	675
14	<i>Heliconia caribaea</i> Lam.	FJ428106.1	466

Tabel 2. Informasi Data *Region rbcL Heliconia*

No.	Spesies	Nomor Akses	Panjang Nukleotida (bp)
1	<i>Heliconia latispatha</i> Benth	JQ592197.1	769
2	<i>Heliconia latispatha</i> Benth	JQ592196.1	552
3	<i>Heliconia imbricata</i> (Kuntze) Baker.	JQ592192.1	552
4	<i>Heliconia imbricata</i> (Kuntze) Baker.	JQ592193.1	532
5	<i>Heliconia vaginalis</i> Benth.	JQ592209.1	552
6	<i>Heliconia vaginalis</i> Benth.	JQ592210.1	552
7	<i>Heliconia mariae</i> Hook.f.	JX978648.1	555
8	<i>Heliconia mariae</i> Hook.f.	JX978647.1	534
9	<i>Heliconia caribaea</i> Lam.	EF590402.1	495
10	<i>Heliconia caribaea</i> Lam.	EF590533.1	427
11	<i>Heliconia rostrata</i> Ruiz & Pav.	KU215266.1	382
12	<i>Heliconia acuminata</i> A.Rich.	KU215261.1	376

Tabel 3. Informasi Data *Region matK Heliconia*

No.	Spesies	Nomor Akses	Panjang Nukleotida (bp)
1	<i>Heliconia vaginalis</i> Benth.	JQ588002.1	768
2	<i>Heliconia vaginalis</i> Benth.	JQ588001.1	769
3	<i>Heliconia pogonantha</i> Cufod.	JQ587999.1	693
4	<i>Heliconia pogonantha</i> Cufod.	JQ587996.1	671
5	<i>Heliconia caribaea</i> Lam.	GQ248133.1	768
6	<i>Heliconia bihai</i> (L.) L.	GQ248132.1	783
7	<i>Heliconia psittacorum</i> L.f.	MF350241.1	769
8	<i>Heliconia latispatha</i> Benth.	JQ587994.1	769
9	<i>Heliconia latispatha</i> Benth.	JQ587993.1	764
10	<i>Heliconia tortuosa</i> Griggs.	JQ589596.1	735
11	<i>Heliconia tortuosa</i> Griggs.	JQ589595.1	737
12	<i>Heliconia imbricata</i> (Kuntze) Baker.	JQ587989.1	769
13	<i>Heliconia imbricata</i> (Kuntze) Baker.	JQ587988.1	769

Tabel 4. Informasi Data *Region psbA Heliconia*

No.	Spesies	Nomor Akses	Panjang Nukleotida (bp)
1	<i>Heliconia collinsiana</i> Criggs.	HG963850.1	494
2	<i>Heliconia nutans</i> Woodson.	DQ006193.1	497
3	<i>Heliconia clinophila</i> R.R.Sm.	DQ006192.1	500
4	<i>Heliconia psittacorum</i> L.f.	MF348326.1	529
5	<i>Heliconia caribaea</i> Lam.	GQ248312.1	436
6	<i>Heliconia caribaea</i> Lam.	EF590701.1	439

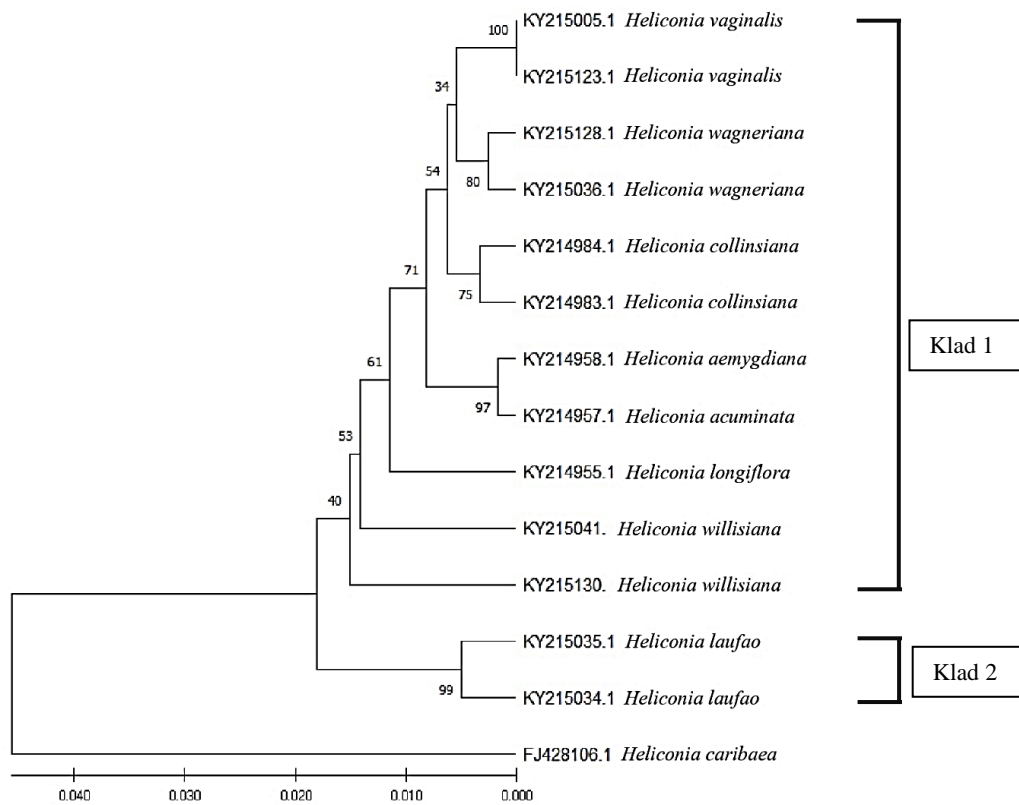
Tabel 5. Informasi Data *Region trnL Heliconia*

No.	Spesies	Nomor Akses	Panjang Nukleotida (bp)
1	<i>Heliconia necrobracteata</i> W.J.Kress	KY214719.1	687
2	<i>Heliconia impudica</i> Abalo & G.Morales	KY214681.1	687
3	<i>Heliconia clinophila</i> R.R.Sm.	KY214653.1	687
4	<i>Heliconia wagneriana</i> Peterson.	KY214778.1	679
5	<i>Heliconia sclerotricha</i> Peterson.	KY214753.1	687
6	<i>Heliconia sylvestris</i> (Gleason) L.B.Sm.	KY214764.1	742
7	<i>Heliconia indica</i> Lam.	KY215684.1	697
8	<i>Heliconia indica</i> Lam.	KY214682.1	707
9	<i>Heliconia wagneriana</i> Peterson.	KY214547.1	749
10	<i>Heliconia sclerotricha</i> Abalo & G.Morales	KY214587.1	743
11	<i>Heliconia sylvestris</i> (Gleason) L.B.Sm.	KY214598.1	766
12	<i>Heliconia reticulata</i> Griggs.	KY214579.1	615
13	<i>Heliconia juliani</i> Barreiros.	KY214688.1	679

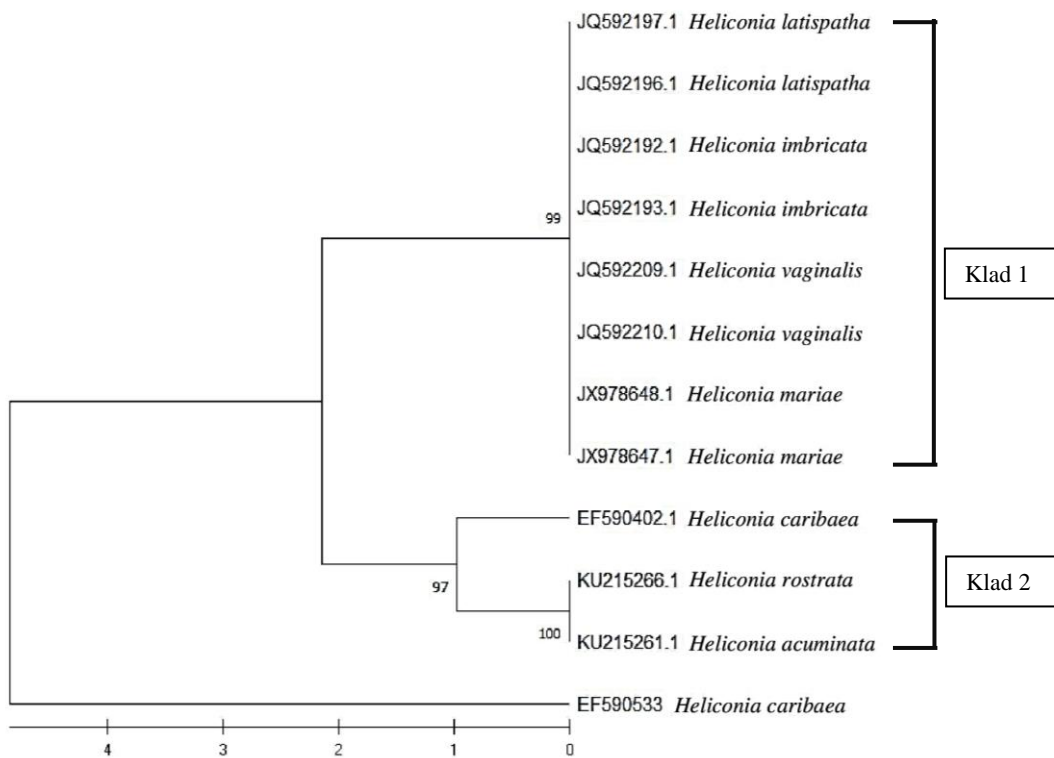
HASIL DAN PEMBAHASAN

Topologi pohon kekerabatan yang berhasil dikonstruksi dari kelima *region* DNA *barcoding* baik ITS (Gambar 1), *rbcL* (Gambar 2), *matK* (Gambar 4), *psbA* (Gambar 4) dan *trnL* (Gambar 5) memperlihatkan bahwa beberapa spesies *Heliconia* terbagi menjadi 2 kelompok/klada besar. Ardiana *et al.* (2021) menyatakan bahwa klada ini terbentuk karena adanya kemiripan urutan basa nitrogen satu sama lain, urutan basa yang cenderung sama akan terbentuk mengumpul dalam satu klada dan tidak tersusun bercabang. Keragaman genetik dapat terjadi tidak hanya pada interspesies tetapi juga dapat terjadi pada intraspesies. Hal ini dapat dibuktikan pada spesies *H. longiflora* (KY214955.1), spesies *H. willisiana* (KY2150.1), spesies *H. willisiana* (KY215130.1), dan spesies *H. caribaea* (FJ428106.1), spesies *H. caribaea* (EF590402.1) dan spesies *H. caribaea* (EF590533.1), serta spesies *H. psittacorum* (MF350241.1) terpisah dari sub-klada kecil yang menandakan adanya

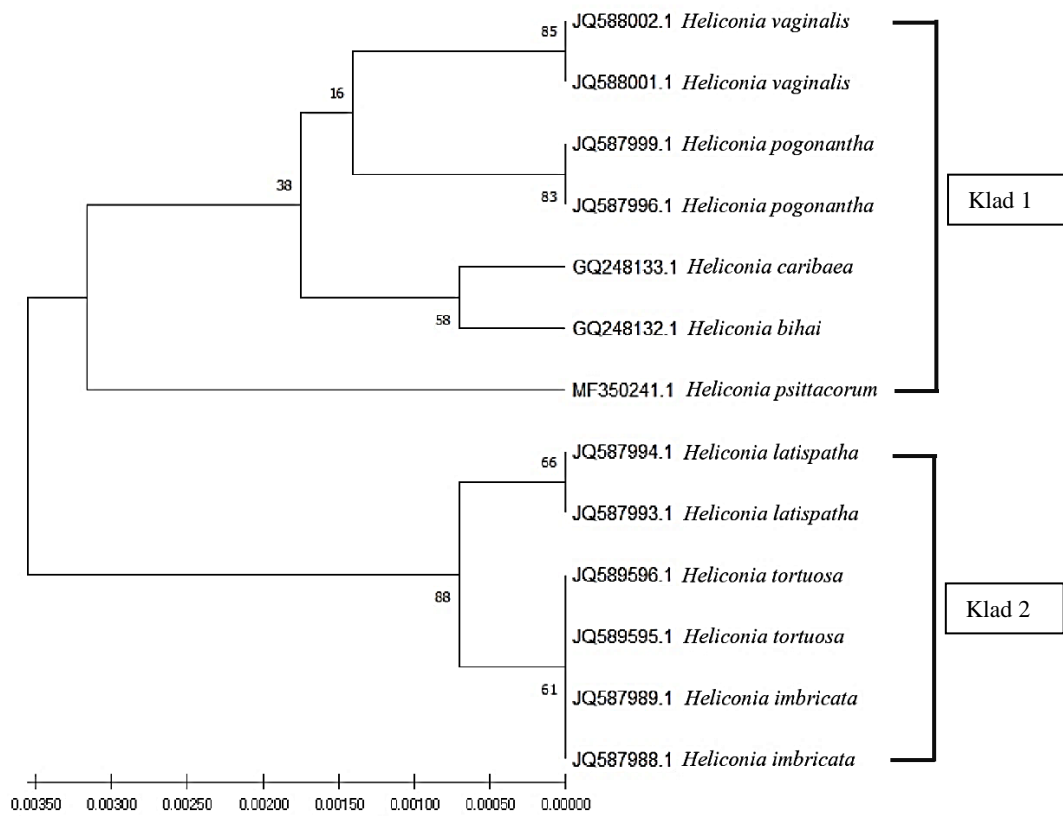
perbedaan komposisi basa nukleotida antar individu, sehingga terletak pada sub cabang yang berbeda.



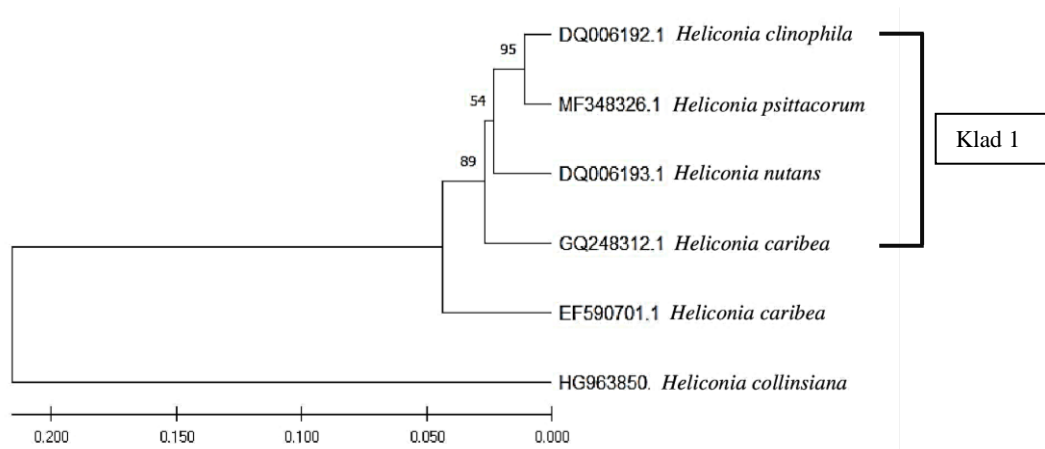
Gambar 1. Dendogram kekerabatan *Heliconia* berdasarkan *region ITS*



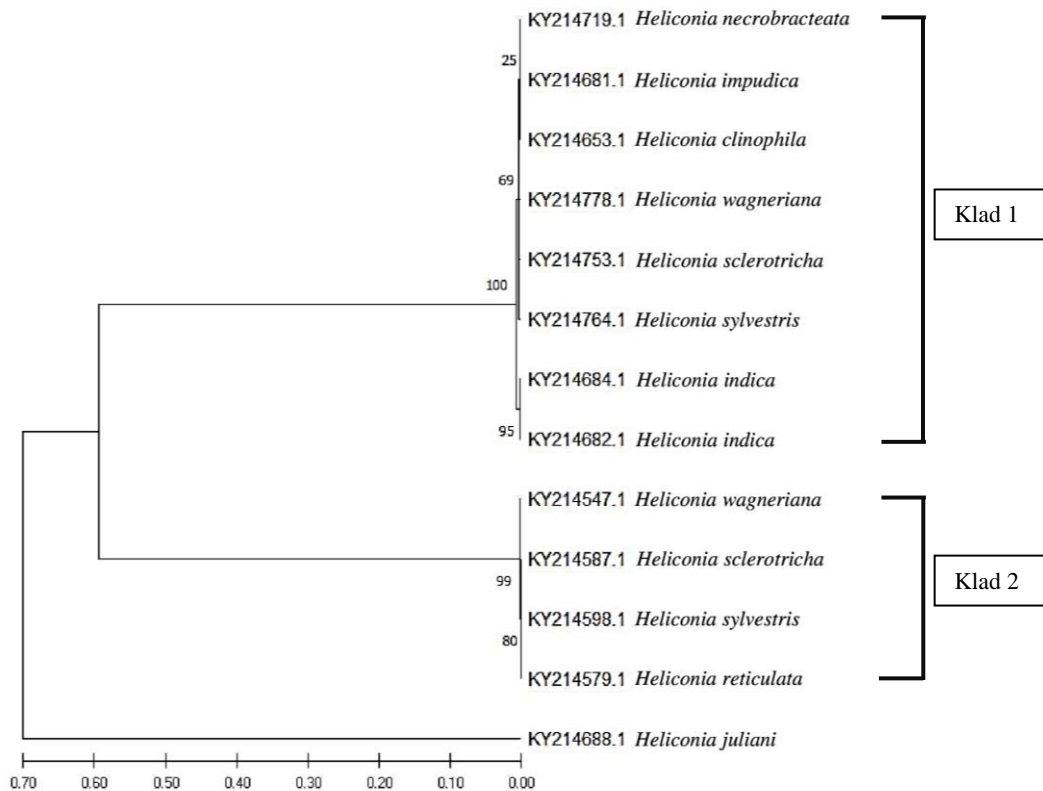
Gambar 2. Dendogram kekerabatan *Heliconia* berdasarkan *region rbcL*



Gambar 3. Dendrogram kekerabatan *Heliconia* berdasarkan *region matK*



Gambar 4. Dendrogram kekerabatan *Heliconia* berdasarkan *region psbA*



Gambar 5. Dendrogram kekerabatan *Heliconia* berdasarkan *region trnL*

Empat *region DNA barcoding* *rbcL* (Gambar 1), *matK* (Gambar 2), *psbA* (Gambar 4) dan *trnL* (Gambar 4) dalam pohon kekerabatan *Heliconia* tidak membentuk kelompok-kelompok khusus melainkan tercampur satu sama lain. Hal ini menunjukkan bahwa *region rbcL*, *matK*, *psbA* dan *trnL* memiliki kemampuan yang rendah dalam pengenalan determinasi dan deliniasi spesies *Heliconia*. Sementara itu, *region* gen ITS dapat memberikan gambaran yang informatif mengenai filogenetik molekuler dari *Heliconia* pada tingkat spesies.

Pensejajaran (*Alignment*) sekuens *Heliconia*

Pohon kekerabatan merupakan sebuah grafik dua dimensi yang menunjukkan hubungan kekerabatan sekuens nukleotida dari organisme. Tahapan ini dimulai dengan pensejajaran kelompok sekuens (*multiple sequence alignment*) pada *Heliconia* menggunakan *region* ITS (Gambar 1), *region rbcL* (Gambar 2), *region matK* (Gambar 3), *region psbA* (Gambar 4) dan *region trnL* (Gambar 5) yang secara keseluruhan memiliki kemiripan atau homologi. Pensejajaran sekuens dapat digunakan untuk mempelajari serta mengidentifikasi kemiripan (*similarity*) dari barisan DNA/variasi genetik.

Diferensiasi variasi genetik antar populasi, jarak genetik dapat dihitung dari jumlah perbedaan basa polimorfik suatu lokus gen masing-masing populasi berdasarkan pada kemiripan karakter nukleotida sebagai dasar dalam membangun topologi pohon kekerabatan. Hal ini mengindikasikan bahwa sekuens ITS memiliki keragaman genetik yang lebih tinggi sehingga lebih menunjukkan kemampuannya untuk mendiskriminasi sampai tingkat spesies pada *Heliconia* dibandingkan *region rbcL*, *matK*, *psbA* dan *trnL* (Perwitasari *et al.*, 2020).

Pola pengklasteran pohon kekerabatan menggunakan sekuens ITS menunjukkan bahwa klad I terdapat tiga bagian sub klad dengan masing-masing sub percabangan yang bersatu terdiri spesies *H. vaginalis*, *H. wagneriana*, *H. collinsiana* ketiga jenis ini didukung dengan nilai bootstrap di atas 70 yang berarti ketiganya memiliki hubungan kekerabatan yang dekat, tetapi satu sub klada dimana spesies *H. willisiana* (KY215041) tidak bersatu dengan *H. willisiana* (KY215130) dimungkinkan karena adanya perbedaan komposisi basa nukleotida antar individu, sehingga terletak pada cabang yang berbeda (Ramdhini & Jannah, 2021).

Berdasarkan hasil percobaan tersebut juga diperkuat oleh hasil penelitian Pangestika *et al.* (2015) bahwa region ITS biasa digunakan untuk identifikasi pada tingkat spesies, tetapi juga dapat diaplikasikan pada tingkat yang lebih rendah, seperti *strain*. Hall (2001) menyatakan nilai *bootstrap* sebanyak 100 sampai 500 ulangan digunakan untuk memperkirakan tingkat kepercayaan sebuah pohon filogenetik. Semakin besar nilai *bootstrap* yang digunakan maka semakin tinggi tingkat kepercayaan topologi pohon hasil rekonstruksi yang didasarkan atas distribusi karakter dalam data yang sangat dipengaruhi oleh efek acak. Pohon kekerabatan juga menunjukkan hubungan kekerabatan *Heliconia* dengan nilai *bootstrap* 100%. Nilai *bootstrap* dinilai tinggi, suatu klada dapat dipercaya dengan nilai *bootstrap* 90% dan tidak dipercaya dengan nilai *bootstrap* 25 % (Pangestika *et al.*, 2015).

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan analisis kajian *in silico* yang dilakukan menunjukkan primer *region barcode* ITS direkomendasikan untuk digunakan dalam kegiatan identifikasi jenis *Heliconia*, dikarenakan *region barcode* ITS dianggap mampu memberikan kontribusi dalam mendukung keberlanjutan kegiatan analisis molekuler. Hasil analisis kekerabatan genetik menggunakan metode UPGMA *Tree*, diperoleh gambaran bahwa *Heliconia* secara umum terpisah menjadi dua (2) kelompok atau klada utama, baik berdasarkan sekuen ITS, *rbcL*, *matK* dan *trnL* gabungan. *Region rbcL*, *matK*, *psbA* dan *trnL* memiliki kemampuan yang rendah dalam pengenalan determinasi dan deliniasi spesies *Heliconia*. Sementara itu, region gen ITS dapat memberikan gambaran yang informatif mengenai filogenetik molekuler dari *Heliconia* pada tingkat spesies. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan untuk mendukung program pemuliaan dan penyusunan strategi konservasi genetik dalam melestarikan sumber daya genetik *Heliconia* yang ada di Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Pusat Riset Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya, dan Kehutanan-BRIN (Kebun Raya Bogor) dan Lembaga Perguruan Tinggi Universitas Nusa Bangsa, Fakultas MIPA yang telah memberikan kesempatan, memberikan dukungan, dan memfasilitasi serangkaian kegiatan penelitian ini. Penulis juga berterima kasih kepada rekan penyusun yang telah memberikan ide gagasan, saran, dan masukan serta acuan referensi dalam pengembangan karya tulis ilmiah ini.

REFERENSI

- Ardiana, S.A., Astarini, I.A., Putra, I.N.G., Pertiwi, P.D., Sembiring, A., Yusmalinda, A., & Al Malik, D. 2021. Keragaman Genetik dan Filogenetik Longtail Tuna (*Thunnus tonggol*) yang Didaratkan di Pasar Ikan Pabean, Surabaya. *Musamus Fisheries and Marine Journal*, 3(2), 107-115. doi: <https://doi.org/0.35724/mfmj.v3i2.3375>
- Basuki, Maryana, & Irawati, E.B. 2015. Seleksi Tanaman Pisang Hias Di Kebun Plasma Nutfah Giwangan Daerah Istimewa Yogyakarta. *Prosiding LPPM UPN "Veteran" Yogyakarta*, 3(1), 82-88.
- Flores, R., Black, C., & Ibáñez A. 2017. A New Species of *Heliconia* (Heliconiaceae) with Pendent Inflorescence, from Chucantí Private Nature Reserve, Eastern Panama. *PhytoKeys*, 77(1), 21–32. doi: <https://doi.org/10.3897/phytokeys.77.11190>
- Guimarães, W.N.R, Martins, L.S.S., Castro, C.E.F., & Carvalho Filho, J.L.S., & Loges, V. 2014. *Heliconia* Phenotypic Diversity Based on Qualitative Descriptors. *Genetics and Molecular Research*, 13(2), 3128–3142. doi: <https://doi.org/10.4238/2014.April.17.9>
- Hajibabaei, M., Singer, G.A.C., Clare, E.L., & Hebert, P.D.N. 2007. Design and Applicability of DNA Arrays and DNA Barcodes in Biodiversity Monitoring. *BMC Biology*, 5(24), 1-7. doi: <https://doi.org/10.1186/1741-7007-5-24>
- Hall, B.G. 2001. Phylogenetic Trees Made Easy: A How-To Manual for Molecular Biologists. *Briefings in Bioinformatics*, 3(4), 428-431.

- Hapsari, L., Trimanto, & Wahyudi, D. 2019. Species Diversity and Phylogenetic Analysis of *Heliconia* spp. Collections of Purwodadi Botanic Garden (East Java, Indonesia) Inferred by *rbcl* Gene Sequences. *Biodiversitas*, 20(5), 1266–1283. doi: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200505>
- Hidayat, T., Diah, K., Kusdianti, Dian, D.Y., Astry, A.M., & Dina, M. 2008. Analisis Filogenetik Molekuler pada *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) Menggunakan Urutan Basa DNA Daerah Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Matematika dan Sains*, 13(1), 16-21.
- Irawan, D., Presticilla, T.E., Tallei, Beivy, & Kolondam, J. 2016. Analisis Sekuens dan Filogenetik Beberapa Tumbuhan *Syzygium* (Myrtaceae) di Sulawesi Utara Berdasarkan Gen *matK*. *Jurnal Ilmiah Sains*, 16(2), 43-49.
- Kress, J. 1990. The Diversity and Distribution of *Heliconia* (Heliconiaceae) in Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 4(1), 159-167.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547. doi: <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Loges, V., Costa, A.S., Leite, K.P., Lima, T.L.A., da Silva, S.Á.C.G, Maranhão, S.R.V.L, de Souza, C.C.F., Guimaraes, W.N.R., & de Castro, A.C.R. 2013. *Heliconia rauliniana* as Cut Flower and Ornamental Plant. *Acta Horticulturae*, 1000, 123–130. doi: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2013.1000.14>
- Malakar, M., Acharyya, P., & Biswas, S. 2015. Evaluation of *Heliconia* Species Based on Agro-Morphological Traits. *International Journal of Agriculture*, 8(4), 957-964. doi: <https://doi.org/10.5958/2230-732X.2015.00109.6>
- Marouelli, L.P., Inglis, P.W., Ferreira, M.A., & Buso, G.S. 2010. Genetic Relationships Among *Heliconia* (Heliconiaceae) Species Based on RAPD Markers. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 9(3), 1377–1387. doi: <https://doi.org/10.4238/vol9-3gmr847>
- Oktavianingsih L. 2019. Keragaman dan Hubungan Kekerbatan Kultivar Talas (*Colocasia* spp.) di Kalimantan berdasarkan karakter Morfologis, Anatomis dan Molekuler (Disertasi). Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada.
- Pangestika, Y., Anto, B., Hermin, P., & Kusumaningrum. 2015. Analisis Filogenetik *Curcuma zedoaria* (Temu Putih) Berdasarkan Gen Internal Transcribed Spacer. *Jurnal Biologi*, 4(4), 8-13.
- Ramdhini, D. W., & Jannah, M. 2021. Analisis Filogenetik *Dendrobium* Berdasarkan Sekuen ITS rDNA. *BIO-SAINS: Jurnal Ilmiah Biologi*, 1(1), 8-12.
- Silalahi, M. 2016. Keanekaragaman dan Distribusi Tumbuhan Bermanfaat Di Pekarangan Kampus Universitas Kristen Indonesia (UKI) Cawang, Jakarta Timur. *Jurnal Biologi*, 20(2), 75-82.
- Zuraida, A., Gde Raka Dalem, A.A., & Joni, M. 2018. Inventarisasi Jenis-Jenis Tanaman Hias Introduksi Di Desa Panglipuran Kabupaten Bangli, Bali. *Jurnal Simbiosis*, 6(1), 25-29.