

**DNA Barcoding Tanaman Daluga (*Cyrtosperma* spp) dari
Kepulauan Sangihe Berdasarkan Gen *matK*
(DNA Barcoding Daluga Plant (*Cyrtosperma* spp) of
Sangihe Island Based on *matK* Gene)**

Eka Julianti¹⁾*, Arthur Pinaria¹⁾, Edy F. Lengkong¹⁾, Beivy J. Kolondam²⁾

¹⁾Program Studi Agronomi, Pasca Sarjana Universitas Sam Ratulangi, Kampus UNSRAT
Manado 95115

²⁾Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Kampus UNSRAT Manado 95115

*Email korespondensi: ekajulianti89@yahoo.com

Diterima 23 Juli 2015, diterima untuk dipublikasikan 27 Agustus 2015

Abstrak

Tanaman daluga (Cyrtosperma spp.) termasuk dalam famili Araceae (talas-talasan), umbinya berpotensi sebagai tanaman pangan alternatif karena mempunyai nilai gizi yang tinggi. Tanaman ini banyak terdapat di Kepulauan Sangihe. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui DNA barcoding daluga hijau, kuning dan belang-belang dengan menggunakan gen matK (maturase K). Ekstraksi DNA menggunakan Genomic DNA Mini Kit Plant (Geneaid), amplifikasi DNA menggunakan Kit PCR 5x FirePol Master Mix (Solis Biodyne) dan sepasang primer universal yaitu matK-3F-r (5'CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG 3') dan matK-1R-f (5'ACC CAGTCCATCTGGAAATCTTGTTTC3'). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman daluga hijau, daluga kuning, dan daluga belang-belang dari Kepulauan Sangihe memiliki sekuens DNA yang identik (kemiripan 100%). Daluga yang diteliti memiliki kemiripan sekuens dengan sampel di NCBI yaitu dengan Cyrtosperma macrotum (99,88%), Podolasia stipitata (99,50%), Dracontium polyphyllum (99,38 %), Pycnospatha arietina (99,38%) dan Dracontioides desciscen (99%). Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa DNA barcoding tanaman daluga dari kepulauan Sangihe berdasarkan gen matK belum dapat membedakan variasi intraspecies.

Kata kunci: daluga, dalugha, Cyrtosperma spp.

Abstract

Daluga (Cyrtosperma spp.) plant belongs to the family Araceae, the corm is potential as an alternative food because it has a high nutritional value. The plant is widely available in Sangihe Island. This study aimed to determine the DNA barcoding of green daluga, yellow daluga and mottled daluga using matK gene (maturase K). The DNA extraction used Genomic DNA Mini Kit Plant (Geneaid) and DNA amplification used the Kit PCR 5x FirePol Master Mix (Solis Biodyne) and universal primers matK-3F-R (5' CGTACAGTACTT TTGTGTTTACGAG 3') and matK-1R-f (5'ACCCAGAAATGGATCTTCTCCTGG TTC3'). The result showed that the green daluga, yellow daluga and mottled daluga from Sangihe Islands were identical (100% similarity). Daluga from Sangihe had similarities with the sample sequences in NCBI, namely Cyrtosperma macrotum (99.88%), Podolasia stipitata (99.50%), Dracontium polyphyllum (99,38%) Pycnospatha arietina (99.38%) and Dracontioides desciscen (99%). From these results it could be concluded that DNA barcoding of daluga plant from Sangihe based on the matK gene could not distinguish variations intraspecies.

Keywords: daluga, dalugha, Cyrtosperma spp.

PENDAHULUAN

Daluga (*Cyrtosperma* spp) adalah nama lokal yang diberikan oleh masyarakat untuk tanaman talas rawa yang terdapat di Kepulauan Sangihe. Umbi daluga berpotensi sebagai tanaman pangan alternatif pengganti beras sejak puluhan tahun lalu karena umbinya mengandung karbohidrat yang tinggi yaitu sebesar 83,44% (Lumba 2012). Nama umum tanaman daluga dalam bahasa Inggris disebut *Giant Swamp Taro* (Talas Rawa Raksasa), *Swamp Taro* (Talas Rawa) dan *Gallan* (Lim 2015).

Genus *Cyrtosperma* memiliki jumlah spesies paling sedikit yaitu 12 spesies yang tersebar di Papua, Semenanjung Malaya, Filipina, Kalimantan, Sumatra, Jawa dan Oseania. Tanaman daluga merupakan satu-satunya spesies dari genus ini yang umbinya dapat dikonsumsi oleh manusia (Jackson, 2008). Hasil penelitian terbaru di Federated States of Micronesia mengatakan bahwa di daerah Micronesia dan sekitarnya terdapat 37 kultivar *Cyrtosperma* dan masing-masing kultivar memiliki karakter morfologi berbeda (Rao *et al.* 2014).

Tanaman daluga banyak terdapat di daerah Kepulauan Sangihe yaitu kepulauan yang berbatasan dengan wilayah selatan negara Filipina. Beberapa tempat merupakan habitat asli yang ditumbuhi tanaman daluga seperti Tamako, Manganitu Selatan dan Tatoareng (Julianti 2011). Tanaman daluga dapat tumbuh dengan baik di lahan basah dan tanah yang sering tergenang air payau dengan kadar garam berkisar 0,59 ppt – 1,91 ppt dan kadar keasaman (pH) 6,9 – 9,8 (Ratag *et al.* 2013). *Screening in vivo* menunjukkan bahwa beberapa kultivar tanaman daluga dapat mentoleransi kadar garam sampai 5 ppt (Rao *et al.* 2014 b). Tanaman daluga juga dapat

mentoleransi suhu maksimum 38 °C dan minimum 15,5 °C (Manner 2011).

Daluga merupakan salah satu tanaman pangan lokal yang mempunyai nilai penting bagi masyarakat Kepulauan Sangihe dan sekitarnya sehubungan dengan dampak perubahan iklim serta dalam menunjang program pemerintah untuk meningkatkan ketahanan dan kemandirian pangan (Lintang *et al.* 2012), tetapi saat ini tanaman daluga belum dibudidayakan secara luas oleh masyarakat bahkan rawa tempat tumbuh tanaman daluga telah dikonversi menjadi sawah dan pemukiman (Ratag *et al.* 2013).

Petani di Kepulauan Sangihe mengenal tiga jenis daluga berdasarkan warna tangkai daunnya yaitu daluga hijau, daluga kuning dan daluga belang-belang. Ketiga jenis tanaman daluga tersebut memiliki beberapa karakter morfologi dan rasa umbi yang berbeda. Penelitian tentang tanaman daluga yang ada di Kepulauan Sangihe masih tergolong sedikit. Untuk pengembangan dan budidaya tanaman daluga diperlukan berbagai data pendukung salah satunya yaitu identifikasi status genetik tanaman daluga. Mengidentifikasi dan mempertahankan keragaman genetik tanaman daluga sangat penting untuk menjadi dasar pertimbangan dalam menyusun strategi konservasi, pemuliaan, pengelolaan dan pemanfaatan sumber daya genetik tanaman daluga secara berkelanjutan.

Teknologi DNA *barcoding* telah dikembangkan untuk mengidentifikasi dan menganalisis keragaman genetik spesies baik hewan maupun tumbuhan secara molekuler yaitu dengan menggunakan sekuens/potongan DNA pendek. DNA *barcoding* dapat digunakan dalam bidang taksonomi dan filogenetik tumbuhan untuk hasil identifikasi tumbuhan yang lebih akurat dibandingkan dengan identifikasi secara morfologi (Kress dan Erickson

2008 a). *Consortium for the Barcoding of Life (CBOL) Plant Working Group* merekomendasikan dua gen yang terdapat dalam kloroplas untuk digunakan dalam DNA *barcoding* tumbuhan yaitu gen *rbcL* (*ribulose-1,5-biphosphate carboxylase oxygenase*) dan gen *matK* (*maturase K*) (Kress *et al.* 2010).

Gen *matK* lebih banyak digunakan dalam berbagai penelitian dibandingkan gen *rbcL* karena gen *matK* dapat membedakan sampai tingkat spesies. Gen *matK* juga memiliki kecepatan evolusi yang tinggi dan urutan sekuens yang lebih bervariasi (Barthet 2006) sehingga gen *matK* dinilai lebih baik dan lebih akurat dalam mengidentifikasi dan membedakan suatu spesies (Kolondam *et al.* 2012).

Publikasi ilmiah mengenai DNA *barcoding* tanaman daluga dari Sangihe dalam *Barcode of Life Database (BOLD) System* belum ditemukan, selain itu juga belum ada publikasi ilmiah yang mencantumkan sekuens DNA gen *matK* tanaman daluga di GenBank dalam situs *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*. Berdasarkan hal-hal yang telah diuraikan di atas maka perlu dilakukan penelitian mengenai DNA *barcoding* tanaman daluga dari Kepulauan Sangihe berdasarkan urutan sekuens gen *matK*, sehingga dapat digunakan sebagai data identitas molekuler tanaman pangan alternatif khas dari Kepulauan Sangihe dan sebagai acuan untuk melestarikan tanaman daluga.

METODE

Isolasi DNA Tanaman Daluga

Daun tanaman daluga hijau, daluga kuning, dan daluga belang-belang masing-masing diambil 50 mg, kemudian digerus dengan penggerus tabung *Eppendorf*. Sampel yang sudah disiapkan dalam tabung *Eppendorf* diisolasi menggunakan *Genomic DNA Mini Kit Plant (Geneaid)* sesuai dengan prosedur manual yang disediakan

perusahaan dengan menambahkan buffer lisis proteinase K, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 65°C. Setelah itu sel dipisahkan dengan sentrifugasi selama 1 menit pada 5000 rpm kemudian ditambahkan buffer dan disentrifugasi selama 2 menit pada 10000 rpm. Supernatant yang diperoleh kemudian disaring melalui kolom filter. DNA total yang diperoleh dicuci dari sisa protein-protein dan garam. Selanjutnya dielusikan 2-5 menit dan disentrifugasi selama 30 detik pada 10000 rpm (Vogelstein dan Gillespie 1979, *Geneaid*).

Amplifikasi dengan Polimerase Chain Reaction (PCR)

Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 50 µL. Komposisi dari reaksi PCR yaitu: 10 µL 5x *FirePol Master Mix (Solis BioDyne)*, 1 µL primer forward *matK-3F-r* (5' CGT ACA GTA CTT TTG TGT TTA CGA G 3'), 1 µL primer reverse *matK-1R-f* (5' ACC CAG TCC ATC TGG AAA TCT TGG TTC 3'), 3 µL templat DNA (sampel), dan 35 µL air (deionisasi, bebas nuklease). Tahapan dalam proses amplifikasi PRC meliputi denaturasi DNA (awal) pada suhu 95°C selama 120 detik, (i) denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, (ii) perlekatan primer (*primer annealing*) pada suhu 52 °C selama 30 detik, (iii) DNA *extension* pada suhu 72°C selama 50 detik. Ketiga tahapan (i,ii,iii) berlangsung dalam siklus sebanyak 35 kali dan tahap akhir *final extension* pada suhu 72°C selama 60 detik (Kolondam, 2015). Proses amplifikasi dilakukan dengan alat *PCR Personal (Biometra)*. Proses sekuensing dilakukan oleh penyedia jasa sekuensing First Base Laboratories Sdn Bhd Malaysia.

Analisis Data

Hasil sekuensing DNA berupa kromatogram disunting menggunakan software *Geneious v5.6*. (Drummond *et al.* 2012) dengan langkah sebagai

berikut: bagian awal dan akhir sekuens DNA dihapus kira-kira 30 bp (primer). Hasil sekuensing menggunakan primer reverse (matK-1R-f), dan dilakukan proses *reverse and complement*, kemudian dipadukan dengan hasil sekuens primer *forward* (matK-3F-r) menggunakan *Multiple Sequence Comparison by Log-Expectation* (MUSCLE) yang terintegrasi dalam *Geneious v5.6*. Sekuens gen *matK* diidentifikasi melalui *Barcode of Life Database* (BOLD) System (Ratnasingham dan Hebert 2007). Penjajaran sekuens DNA dilakukan dengan menggunakan MUSCLE bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan nukleotida antara masing-masing sampel tanaman daluga. Sekuens diubah ke dalam bentuk format FASTA (*Fast Alignment*) dan dibandingkan dengan sekuens kerabat terdekat yang terdapat di Gen Bank menggunakan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Penjajaran sekuens DNA tanaman daluga dengan kerabat terdekatnya dilakukan dengan menggunakan software *Multalin* pada situs <http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/> (Corpet 1998, Lawodi *et al.* 2013). Penentuan reading frame untuk penjajaran asam amino dan analisis dilakukan dengan *Geneious v5.6*. Pohon filogenetik direkonstruksi juga dengan menggunakan *Geneious v5.6*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

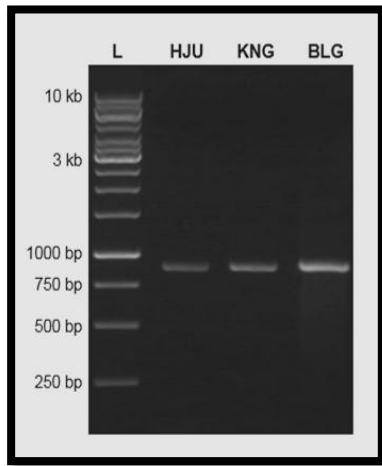
Isolasi DNA merupakan tahap pertama dari berbagai teknologi analisis DNA, yang bertujuan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak dan karbohidrat. Hasil isolasi dan amplifikasi gen *matK* tanaman daluga hijau (kode HJU), daluga kuning (kode KNG) dan daluga belang-belang (kode BLG) memperlihatkan pola pita yang jelas dan tunggal ditunjukkan dengan elektroforesis yang divisualisasikan dengan UV-Transluminator (Gambar 1). Pita DNA tunggal artinya DNA yang

diperoleh tersebut utuh atau tidak ada *smear* ketika DNA dielektroforesis. DNA yang berkualitas baik dicirikan oleh pita DNA yang terlihat tebal dan bersih bila divisualisasikan foto gel elektroforesis (Ardiana 2009). Hal ini menjadi penting karena pada proses sekuensing DNA yang masih utuh akan memberikan hasil yang lebih akurat.

Berdasarkan ukuran DNA *ladder* (1kb) pita DNA yang terbaca berukuran diantara 800 bp - 900 bp. Hasil sekuensing produk PCR *matK* untuk semua sampel menghasilkan kromatogram yang berkualitas tinggi dengan nilai High Quality (HQ) yaitu > 90%. Penjajaraan menggunakan algoritma Muscle (Edgar 2004) dalam software *Geneious* (Drummond *et al.* 2012) menunjukkan bahwa ketiga sekuens sampel DNA tanaman daluga hijau, daluga kuning dan daluga belang identik (kesamaan 100%) (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa tanaman daluga hijau, daluga kuning dan daluga belang termasuk dalam satu spesies yang sama yaitu walaupun dalam karakter morfologinya terdapat beberapa perbedaan. Area gen *matK* yang diamplifikasi dengan sepasang primer *matK-3F-r* dan *matK-1R-f* belum dapat membedakan variasi intraspesies diantara tanaman daluga dari Kepulauan Sangihe. Variasi intraspesies mungkin masih dapat dilihat jika menggunakan sekuens gen *matK* utuh karena panjang gen *matK* sekitar 1500 bp, tetapi dalam penelitian ini hanya menggunakan gen *matK* parsial yang panjangnya hanya sekitar 800-900 bp sesuai dengan daerah penempelan primer *matK-3F-r* dan *matK-1R-f*. Sekitar 600 bp sekuens gen *matK* tanaman daluga yang belum bisa dibaca.

Banyak primer didesain untuk mengamplifikasi fragmen gen *matK*, tetapi kesulitan sering dihadapi ketika menggunakan primer yang telah tersedia saat ini (Fazekas *et al.* 2008) karena tiap primer tersebut mempunyai kelebihan dan

kekurangan. Walaupun beberapa primer telah dikembangkan tetapi sering tidak cocok untuk beberapa spesies (Jing *et al.* 2011). Hal ini disebabkan karena variasi genetik intraspesies sangat kecil. Selain itu untuk mengetahui variasi intraspesies yang lebih akurat dibutuhkan dua atau lebih kombinasi lokus sehingga dapat menghasilkan data yang lebih signifikan (Newmaster dan Ragupathy 2009, Tallei dan Kolondam 2014).



Gambar 1. Visualisasi hasil elektroforesis gen *matK* tanaman daluga. Keterangan: L: 1kb DNA ladder, HJU: daluga hijau, KNG: daluga kuning, BLG: daluga belang.

Sekuens dalam bentuk format FASTA dari tanaman daluga dibandingkan dengan lima kerabat terdekat di NCBI dan penjarannya dilakukan dengan program Multalin. Sekuens tanaman daluga mempunyai tingkat kemiripan dengan beberapa sekuens di NCBI yaitu dengan *Cyrtosperma macrotum* (99,88%), *Podolasia stipitata* (99,50%), *Dracontium polyphyllum* (99,38%), *Pycnospatha arietina* (99,38%) dan *Dracontoides desciscen* (99%).

Sekuens tanaman daluga Sangihe yang disejajarkan dengan kerabat terdekat (Gambar 3) dan dari genus yang sama yaitu *Cyrtosperma macrotum* dengan nomor aksesi

AM920572.1 memiliki perbedaan satu basa nukleotida pada urutan nukleotida 455, dengan *Pedolasia stipitata* AM920574 memiliki empat basa nukleotida berbeda pada urutan 178, 373, 444 dan 455, dengan *Pycnospatha arietina* AM920573.1 berbeda lima basa nukleotida pada urutan 373, 455, 530, 586 dan 795, dengan *Dracontium polyphyllum* AM920569.1 berbeda lima basa nukleotida pada urutan 155, 373, 455, 586 dan 650 serta dengan *Dracontoides desciscen* AM920576.1 berbeda delapan basa nukleotida pada urutan 240, 289, 365, 373, 438, 455, 586, dan 560.



Gambar 2. Hasil Penjajaran Sekuens DNA *barcoding* Tanaman Daluga Hijau, Daluga Kuning dan Daluga Belang-belang berdasarkan Gen *matK*.

Satu basa nukleotida berbeda terdapat diantara daluga Sangihe dan *Cyrtosperma macrotum* tetapi triplet tersebut memiliki susunan asam amino yang sama yaitu serin (TCC→TCT; Serin→Serin). Perubahan basa nukleotida tanpa pengubahan asam amino yang dikodekan disebabkan oleh mutasi sinonim, mutasi ini tetap menghasilkan asam amino yang sama meskipun satu pasang basa nukleotida berubah (Zhou *et al.* 2010). Mutasi sinonim merupakan perubahan sekuens basa nukleotida yang tidak

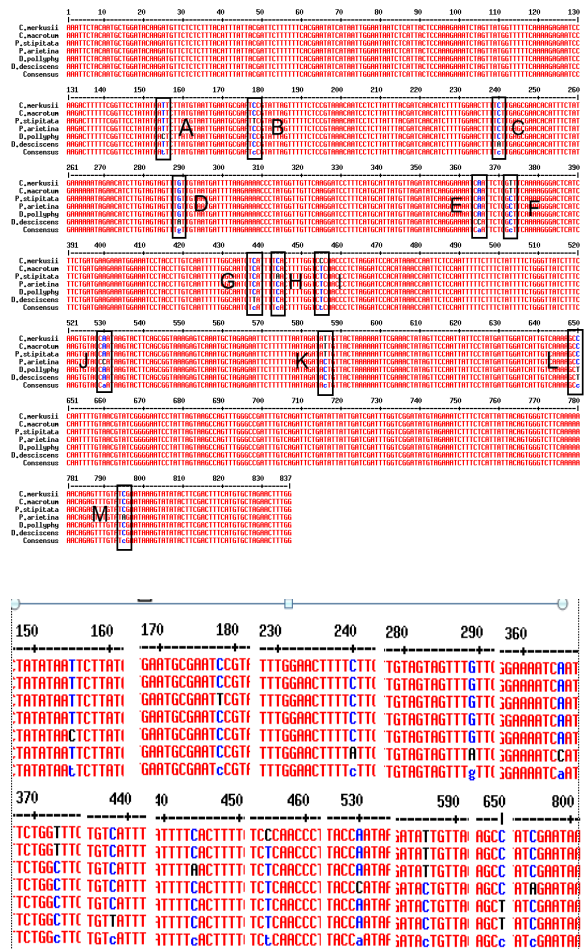
menyebabkan perubahan aktivitas pada produk yang dikode oleh gen tersebut. Hal ini muncul akibat satu nukleotida diganti oleh nukleotida yang lain. Bila perubahan satu basa nukleotida ini tidak mengubah asam amino, maka fungsi dari protein tidak akan berubah (Corebima 2010).

Daluga Sangihe dengan *Pedolasia stipitata* memiliki tiga susunan asam amino berbeda yaitu TCC→TTC, GTT→GCT, CAC→AAC; (Serin→Fenilalanin, Valin→Alanin, Histidin→Asparagin), dengan *Dracontium polyphyllum* dua asam amino berbeda yaitu GTT→GCT, ATT→ACT; (Valin→Alanin, Isoleusin→Treonin), dengan *Pycnospatha arietina* hanya terdapat satu asam amino berbeda yaitu ATT→ACT; (Isoleusin→Treonin), serta dengan *Dracontioides desciscen* terdapat 4 asam amino yang berbeda yaitu CTT→ATT, TGT→TAT, CAT→TAT, ATT→ACT; (Leusin→Isoleusin, Sistein→Tirosin, Histidin→Tirosin, Isoleusin→Treonin).

Berubahnya basa nukleotida yang kemudian mengubah asam amino yang dikodekan disebabkan oleh mutasi titik (Hawkes *et al.*, 2004). Mutasi titik (*point mutation*) merupakan mutasi yang melibatkan penggantian satu pasang basa (substitusi basa), dimana satu basa pada sekuens DNA diganti dengan basa yang berbeda. Mutasi ini dapat menyebabkan berapa hal tergantung dari letak mutasinya pada gen (Corebima 2010). Menurut Lehninger (1982) mutasi dapat diartikan sebagai perubahan permanen yang akan bersifat menurun pada genom (gen-gen atau urutan nukleotida) suatu organisme.

Pohon filogenetik (Gambar 4) menunjukkan tanaman daluga dari Sangihe, *Cyrtosperma macrotum* (AM920572.1), dan *Podolasia stipitata* (AM920574.1) dan *Phycnospatha arietina* (AM920573.1) merupakan kelompok monofiletik. Kelompok monofiletik adalah kelompok organisme yang terdiri dari nenek

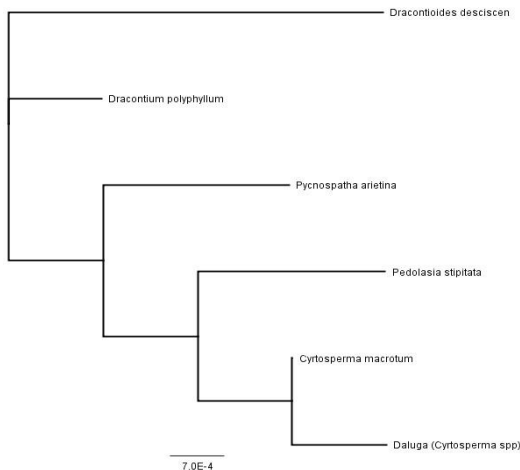
moyang yang sama dan semua turunannya memiliki hubungan yang sangat dekat (Hidayat dan Puncoro, 2006) sedangkan *Dracontium polyphyllum* (AM920569.1) dan *Dracontioides desciscen* (AM920576.1) termasuk dalam kelompok tersendiri yang tetuanya berkerabat dengan tetua dari Daluga Sangihe, *Cyrtosperma macrotum*, *Podolasia stipitata* dan *Phycnospatha arietina*.



Gambar 3. Penjajaran Sekuens DNA Tanaman Daluga (*Cyrtosperma* spp) dengan Kerabat Terdekat di NCBI dengan menggunakan *Multalin* serta perbesaran lokasi perbedaan nukleotida berturut-turut A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L dan M.

Jarak genetik (*p-distance*) yang dihitung dengan *software* Geneious

(Tabel 1) menunjukkan jarak genetik paling dekat adalah antara daluga Sangihe dengan *Cyrtosperma macrotum* yaitu 0,001. Pasangan sekuens yang mempunyai jumlah perubahan terkecil diantara mereka disebut *neighbors* artinya pasangan tersebut memiliki hubungan yang sangat dekat (Dharmayanti *et al*, 2011).



Gambar 4. Pohon filogenetik tanaman daluga dan beberapa kerabatnya berdasarkan gen *matK*. Konstruksi filogenetik menggunakan Geneious v5.6.

Tabel 1. Matrix p-distance sekuens gen *matK* tanaman daluga (*Cyrtosperma merkusii*) dengan kerabat terdekatnya dari GeneBank

	<i>C. macrotum</i>	Daluga	<i>D. desciscen</i>	<i>D. polyphyllum</i>	<i>P. stipitata</i>	<i>P. arietina</i>
<i>C. macrotum</i>						
Daluga	0,001					
<i>D. desciscen</i>	0,008	0,010				
<i>D. polyphyllum</i>	0,005	0,006	0,006			
<i>P. stipitata</i>	0,004	0,005	0,010	0,006		
<i>P. arietina</i>	0,005	0,006	0,008	0,005	0,006	

KESIMPULAN

Tanaman daluga hijau, daluga kuning, dan daluga belang-belang (*Cyrtosperma* spp) dari Sangihe

memiliki urutan sekuens gen *matK* yang sama atau dentik 100%. Tanaman daluga yang diteliti dari Sangihe memiliki kemiripan sekuens dengan sampel di NCBI yaitu dengan *Cyrtosperma macrotum* (99,88%), *Podolasia stipitata* (99,50%), *Dracontium polyphyllum* (99,38%), *Pycnospatha arietina* (99,38%) dan *Dracontioides desciscen* (99 %). DNA *barcoding* berdasarkan gen *matK* belum dapat membedakan variasi intraspesies di antara tanaman daluga hijau, daluga kuning, dan daluga belang-belang dari Kepulauan Sangihe. Disarankan menggunakan kombinasi beberapa lokus DNA untuk membedakan variasi intraspesies tanaman daluga Sangihe.

DAFTAR PUSTAKA

Ardiana D (2009) Teknik isolasi DNA genom tanaman pepaya dan jeruk dengan menggunakan modifikasi Buffer Ctab. Buletin Teknik Pertanian 14 (1):12-16

Barthet MM (2006) Expression and function of the chloroplast-encoded gene *matK*. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg

Corebima AD (2010) Genetika Mutasi dan Rekombinasi. Surya Peneerbit Gemilang. Malang

Corpet F (1998) Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. Nucleate Acids Research 16 (22):10881-10890

Dharmayanti NLPI (2011) Filogenetika molekuler: metode taksonomi organisme berdasarkan sejarah evolusi. Wartazoa 21(1):1-10

Drummond AJ, Ashton B, Buxton S, Cheung M, Cooper A, Duran C, Field M, Heled J, Kearse M, Markowitz S, Moir R, Stones-Havas S, Sturrock S, Thierer T, Wilson A (2012) *Geneious* v5.6. Biomatters. New Zealand.

Edgar RC (2004) MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughout.

- Nucleate Acid Research 5:1792-1797
- Fazekas AJ, Burgess KS, Kesanakurti PR, Graham SW, Newmaster SG, Husband BC, Percy DM, Hajibabaei M, Barret SCH (2008) Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well. *Plos One* 3:2802
- Hawkes NJ, Janes RW, Hamingway J, Vontas J (2004) Detection of resistance-associated point mutation of organophosphate-insensitive acetylcholines in the olive fruit fly *Bactrocera olea* (*Gmlin*) Pesticide Biochemistry and Physiology 81:151-163
- Hidayat T, Pancoro A (2006) Sistematika dan filogenetika molekuler. Kursus Singkat Aplikasi Perangkat Lunak PAUP dan MrBayes untuk Penelitian Filogenetika Molekuler. SITH. ITB
- Jackson GVH (2008) Generation guidelines major aroids. Secretariat of the Pacific Community (SPC). Fiji. <http://www.croptgenebank.sgrp.cgiar.org>.
- Jing Y, Xue JH, Zhou SL (2011) New universal *matK* primers for DNA barcoding angiosperms. *Journal of Systematics and Evolution* 49(3):176-188
- Julianti E (2011) Kajian morfologi maluga (*Cyrtosperma merkusii* (Hassk) Shcott) di Kepulauan Sangihe. Skripsi Jurusan Biologi FMIPA Unsrat. Manado
- Kolondam BJ (2012) Barcode DNA *rbcL* dan *matK* aglaonema (*Aglaonemasp.*), anthurium gelombang cinta (*Anthurium plowmanii*) dan anggrek payus Limondok (*Phaiustan carvilleae*). Tesis Program Pascasarjana UNSRAT, Manado
- Kolondam BJ (2015) Applying *matK* gene for identification of Liliopsida plant species from North Sulawesi through Bold System. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 6 (2):242-245
- Kress WJ, Erickson DL (2008) DNA barcodes: Genes, genomics and bioinformatics. Departement of Botany. Proceedings of The National Academy of Sciences USA 105:2761-2762
- Kress WJ, Erickson DL, Swenson NG, Thompson J, Uriarte M, Zimmer JK (2010) Advances in the use of DNA barcodes to build a community phylogeny for tropical trees in a Puerto Rican forest dynamics plot. *Plos One* 5 (11)
- Lehninger AL (1982) Principles of Biochemistry. Wort Pub. New York
- Lim TK (2015) Edible medicinal and non medicinal plants. Volume 9: Modified Stems, Roots, Bulbs. Springer Science + Business Media Dordrecht
- Lintang M, Layuk P, Bahtiar (2012) Potensi pangan lokal dalam membangun kemandirian pangan di Kabupaten Kepulauan Sangihe. Laporan BPTP Sulawesi Utara.
- Lawodi EN, Tallei TE, Mantiri FR, Kolondam BJ (2013) Variasi genetik tanaman tomat dari beberapa tempat di Sulawesi berdasarkan gen *matK*. *Pharmacon* 2 (4):114-121
- Lumba R (2012) Kajian pembuatan beras analog berbasis tepung umbi daluga (*Cyrtosperma merkusii* (Hassk) Schott). Skripsi Jurusan Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Sam Ratulangi. Manado
- Manner HI (2011) Farm and forestry production and marketing profile for giant swamp taro (*Cyrtosperma chamissionis*) in

- speciality crops for Pacific Island agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR). C. R. Elevitch (Ed) Halualoa, Hawaii
- Newsmaster SG, Ragupathy S (2009) Testing plant barcoding in a sister complex of *Pantropical acacia* (Mimosoideae, Fabaceae). *Molecular Ecology Resources* 9: 172-180
- Rao S, Taylor M, Jokhan A (2014) A descriptor list for giant swamp taro (*Cyrtosperma merkusii*) and its cultivars in the federated states of Micronesia. *TELOPEA* 16:95-117
- Ratag SP (2013) Analisis faktor-faktor lingkungan habitat tanaman daluga (*Cyrtosperma merkusii* (Hassk) Schott) di Kabupaten Kepulauan Sangihe. Disertasi Pascasarjana Universitas Brawijaya. Malang
- Schmidt H (2003) Phylogenetic trees from large databasets. naugural-Dissertation, Dusseldorf University. <http://www.bi.unidusseldorf.de/hschmidt/publ/schmidt2003/phdthesis.pdf>. Diakses pada 20 Agustus 2015
- Tallei TE, Kolondam BJ (2014) DNA barcoding of Sangihe nutmeg (*Myristica fragrans*) using matK gene. *Hayati Journal of Biosciences* 22 (1):41-47
- Vogelstein B, Gillespie D (1979) Genomic DNA mini kit (plant). for research use only. *Protocol Proceeding Natural Academy Science USA* 76: 615
- Weiss KM (1995) Genetic variation and human diseases: Principle and evolution approaches. Cambridge University Press. Cambridge
- Zhou T, Gu W, Wilke CO (2010) Detecting positive and purifying selection at synonymous sites at yeast and worm. *Molecular Biology Evolution* 27(8):1912-1922