

Studi In Silico: Hasil BLAST Gen Clock pada Megapodiidae

In Silico Study: Blast Gene Clock Results in Megapodiidae

I Made Budiarsa^{1*}, Fatmah Dhafir², Suprianto³

^{1,2}Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Tadulako, Palu, Indonesia

³Departemen Biologi Tropika, Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*email: budiarsa_imade@yahoo.com

ABSTRAK

DOI;
10.30595/jrst.v6i1.10827

Histori Artikel:

Diajukan:
28/06/2021

Diterima:
03/10/2022

Diterbitkan:
11/11/2022

Gen clock merupakan salah satu gen yang berperan penting dalam mengontrol ritme harian dan perilaku hewan. Beberapa jenis burung memiliki kerentanan terhadap kondisi fisik lingkungan yang berubah-ubah, seperti kelompok burung dari famili megapodiidae. Urutan nukleotida gen target diperoleh dari beberapa spesies Megapodiidae di GenBank dengan kode akses KY762758.1 (*Megapodius eremite*) dan KY762668.1 (*Alectura lathami*). Penelitian ini menggunakan metode komputasi, semua data yang diperoleh dihasilkan dari analisis secara in silico urutan nukleotida gen target. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis beberapa informasi penting, terkait filogenetik dan perkembangan *database* gen clock pada Megapodiidae di GenBank. Urutan nukleotida gen clock pada *Megapodius eremite* mempunyai panjang 530 bp, nilai identitas 100 % (530/530), Gaps 0 % (0/530), Strand Plus/Plus, Expect 0.0 dan Skor 961 bits (520). Urutan nukleotida gen clock pada *Alectura lathami* mempunyai panjang 522 bp, nilai identitas 97 % (514/530), Gaps 1 % (8/530), Strand Plus/Plus, Expect 0.0 dan Skor 894 bits (484). Hasil Run BLAST menggambarkan bahwa informasi *sequence* gen clock pada Megapodiidae masih sangat jarang dikaji dan diteliti, sehingga informasi dasar terkait gen clock dari sebagian besar spesies kelompok Megapodiidae belum terdaftar di GenBank sehingga hal ini sangat mempengaruhi studi lanjut terkait gen clock pada Megapodiidae yang sangat dibutuhkan untuk keperluan riset-riset selanjutnya dibidang molekuler atau bahkan konservasi.

Kata Kunci: In Silico, Clock, Megapodiidae

ABSTRACT

Gene clock is a gene that plays an important role in controlling the daily rhythm and behavior of animals. Several types of birds are susceptible to changing physical environmental conditions, such as groups of birds from the family megapodiidae. The target gene nucleotide sequences were obtained from several Megapodiidae species in GenBank with access codes KY762758.1 (*Megapodius eremite*) and KY762668.1 (*Alectura lathami*). This study used computational methods, all data obtained were generated from in-silico analysis of the target gene nucleotide sequences. The purpose of this study is to analyze some important information related to phylogenetics and the development of the clock gene database in Megapodiidae in GenBank. The nucleotide sequence of the clock gene on *Megapodius eremite* has a length of 530 bp, an identity value of 100% (530/530), Gaps 0% (0/530), Strand Plus / Plus, Expect 0.0 and a score of 961 bits (520). The clock gene nucleotide sequence in *Alectura lathami* has a length of 522 bp, an identity value of 97% (514/530), Gaps 1% (8/530), Strand Plus / Plus, Expect 0.0 and a score of 894 bits (484). The results of Run BLAST illustrate that the information on the clock gene sequence in Megapodiidae is still rarely studied and researched, so that the basic information related to the clock genes of most of the Megapodiidae group species

has not been registered with GenBank so this greatly affects further studies regarding the clock gene in Megapodiidae which is very much needed for the need for further research in the molecular or even conservation field.

Keywords: *In Silico, Clock, Megapodiidae*

1. PENDAHULUAN

Gen clock merupakan salah satu gen yang berperan penting dalam mengontrol ritme harian (fisiologi) dan perilaku hewan (Gekakis, et al., 1998). Cassone (2014) menjelaskan fungsi gen clock meliputi beberapa aspek biologi seperti mengendalikan perubahan harian dalam tidur, bangun, fungsi visual, lagu, pola migrasi, orientasi, serta pola reproduksi. Polimorfisme genetik dalam gen clock telah dikaitkan dengan variasi perilaku dan ekologi dibanyak organisme (Katzenberg et al, 1998) sehingga gen clock sangat menarik untuk dikaji. Gen clock pada burung menunjukkan kemiripan pada mamalia, keduanya mengkodekan unsur transkripsi dan translasi sebagai inti sirkadian osilator (Fidler dan Gwinner, 2003). Unsur transkripsi dan translasi yang dimaksud adalah protein yang dikodekan oleh gen clock, protein yang dikodekan oleh gen clock adalah pengaktif transkripsi (Young dan Kay, 2001). Penelitian gen clock akan sangat membantu dalam menyediakan informasi dasar untuk menafsirkan makna fungsional dan evolusi polimorfik gen clock (Jhonsen, et al., 2007).

Beberapa jenis burung memiliki kerentanan terhadap kondisi fisik lingkungan yang berubah-ubah, seperti kelompok burung dari famili megapodiidae (Radley et al., 2018). Burung ini menggunakan bantuan radiasi sinar matahari, aktivitas panas bumi (geothermal) atau dekomposisi mikroorganisme untuk mengerami telurnya (Frith 1956; Jones & Birks 1992), sedangkan jenis burung pada umumnya menggunakan suhu tubuh. Lebih dari setengah spesies megapode (Aves: Megapodiidae) yang pernah ada sekarang punah. Hampir setengah dari 22 spesies yang ada dikategorikan terancam punah, dan semua spesies dari burung megapodiidae jumlahnya menurun (Sinclair, 1995). Hingga saat ini burung dari keluarga megapodiidae masuk kedalam *red list endangered species* dan diperkirakan akan mengalami penurunan jumlah spesies (IUCN, 2016). Penurunan jumlah spesies dari keluarga megapodiidae dikhawatirkan akan mengurangi kelimpahan spesies endemik yang ada.

Mengembalikan populasi megapodiidae dapat dilakukan melalui tindakan konservasi, hal tersebut membutuhkan data dan informasi terperinci mengenai perkembangan penelitian molekuler untuk menunjang konservasi

megapodiidae. Memperoleh informasi terperinci mengenai perkembangan studi molekuler dapat dilakukan melalui penelitian berbasis bioinformatika dengan analisis *in silico*. Penelitian ini juga dapat disebut penelitian dengan teknik komputasi yang dapat dilakukan secara *online* maupun *offline* (Suprianto, et al., 2020). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji informasi hasil BLAST gen clock pada megapodiidae di genbank. Informasi dasar mengenai filogenetik gen clock pada megapodiidae sangat diperlukan untuk penelitian lebih lanjut, terkhusus dibidang konservasi untuk menjaga eksistensi burung dari famili megapodiidae, sehingga dengan adanya informasi terkait gen clock yang sangat berperan terhadap aktivitas harian burung (Dor et al., 2011) akan sangat membantu mempelajari sifat kerentanan burung megapodiidae terhadap perubahan iklim.

2. METODE PENELITIAN

Metode Urutan nukleotida gen target diperoleh dari beberapa spesies Megapodiidae di GenBank dengan kode akses KY762758.1 (*Megapodius eremite*) dan KY762668.1 (*Alectura lathamii*). Analisis penelitian dikaji berdasarkan *database* urutan nukleotida gen target didalam server NCBI (*National Center Biotechnology and Information*) yang dapat diakses secara *online* dan gratis dilaman <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (Suprianto & Budiarsa, 2020; Suprianto, et al., 2020). Data terkait filogenetik dan perkembangan *database* gen clock pada Megapodiidae dianalisis menggunakan *Run BLAST* yang tersedia secara online pada NCBI. Pensejajaran urutan nukleotida gen target dibuat menggunakan *information scan* pada *alignment* di bioedit versi 2.7.5 dengan urutan nukleotida yang tersimpan dalam format fasta. Tahapan penelitian meliputi penelusuran gen target di GenBank, Pensejajaran Urutan Nukleotida gen target dan *Run BLAST* untuk menggambarkan perkembangan *database* gen clock pada Megapodiidae.

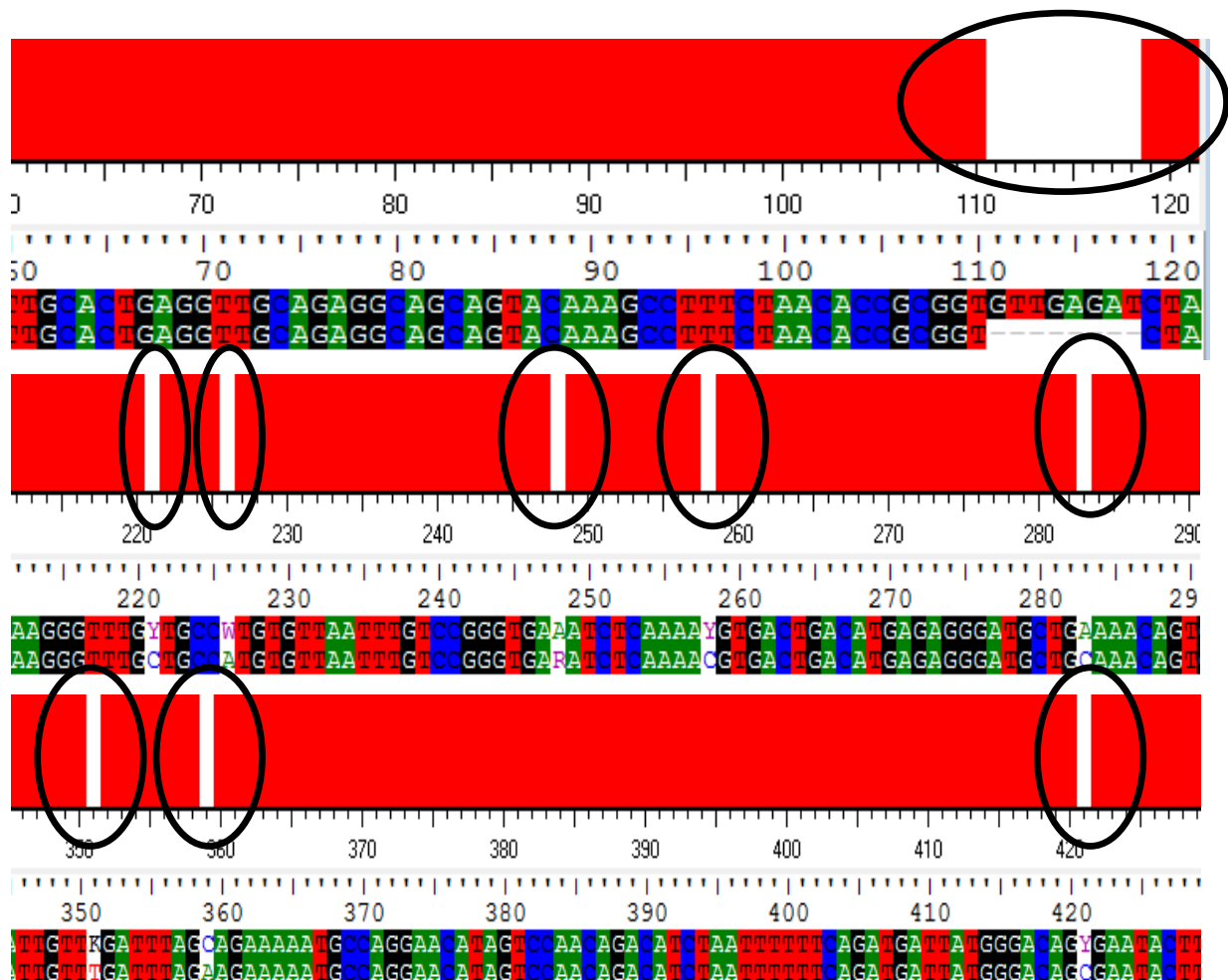
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelusuran Gen Target dan Pensejajaran Urutan Nukleotida

Urutan nukleotida gen target didapatkan dari penelusuran gen clock pada Megapodiidae didalam situs GenBank. Hasil

penelusuran menunjukkan terdapat tiga item gen clock pada dua jenis spesies Megapodiidae (*Megapodius eremite* dan *Alectura lathami*) yang diperoleh berdasarkan keyword "Clock Gene of Megapodiidae". Hasil *Information Scan* dari pensejajaran urutan nukleotida gen target menunjukkan adanya beberapa perbedaan komposisi nukleotida, sehingga hal ini cukup menarik untuk menjelaskan variasi genetik gen clock spesies Megapodiidae. Urutan nukleotida 1 - 110 bp dan 380 - 420 bp menunjukkan skala tingkat homologi kedua target *sequence* sedangkan urutan nukleotida 110 - 120 bp menunjukkan adanya variasi atau perbedaan

urutan kedua target *sequence*. *Information Scan* dari kedua target *sequence* dapat dilihat pada Gambar 1. Pensejajaran urutan nukleotida sangat penting sebagai langkah awal dalam menjelaskan peristiwa evolusi yang terjadi pada kelompok Megapodiidae. 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 (Karmana, 2009).



Gambar 1. *Information Scan*

Hasil Analisis Target Sequence berdasarkan Run BLAST

Target sequence dengan kode akses KY762758.1 (*Megapodius eremite*) dan KY762668.1 (*Alectura lathami*) dianalisis menggunakan Run BLAST (Nukleotida-Nukleotida) menghasilkan sekitar 100 sequence yang memiliki tingkat kemiripan dengan target sequence. Hasil BLAST diperoleh dari beberapa parameter yang digunakan untuk menghasilkan informasi dalam menggambarkan beberapa spesies yang memiliki tingkat homologi dengan spesies Megapodiidae (Tabel 1). Salah satu cara untuk menganalisa DNA adalah dengan menggunakan BLAST (*Basic Local Alignment*

Search Tool). BLAST mampu menemukan daerah yang memiliki kemiripan antar sekuen. Dua buah sekuen dapat memiliki kemiripan, dengan menggunakan BLAST kemiripan tersebut dapat ditentukan apakah disebabkan karena kebetulan saja, ataupun dikarenakan adanya hubungan kekerabatan antar sekuen (Bagus, *et al.*, 2019). Program ini mampu membandingkan baik sekuen basa maupun protein dengan pusat data yang ada dan menentukan signifikansi kecocokan tersebut secara statistik. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui lebih dalam DNA CVPDr secara genetik menggunakan homologi nukleotida dan protein (Pearson, 2013).

Tabel 1. Parameter Run BLAST

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	28
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-2
Gapcosts	0,2.5
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;m;
Genetic Code	1

Berdasarkan data taksonomi yang diperoleh dari hasil BLAST menunjukkan hanya terdapat dua spesies Megapodiidae diantaranya *Megapodius eremite* dan *Alectura lathami* (Gambar 2). Hasil Run BLAST menggambarkan bahwa informasi sequence gen clock pada Megapodiidae masih sangat jarang dikaji dan diteliti, sehingga informasi dasar terkait gen clock dari sebagian besar spesies kelompok Megapodiidae belum terdaftar di GenBank sehingga hal ini sangat mempengaruhi studi lanjut terkait gen clock pada Megapodiidae yang sangat dibutuhkan untuk keperluan riset-riset selanjutnya dibidang

molekuler atau bahkan konservasi. Hasil *identity* dari BLAST result tidak mencapai 100% karena terdapatnya perbedaan di beberapa pasang basa nukleotida yang disejajarkan. Perbedaan tersebut menggambarkan adanya perbedaan dari nukleotida yang disejajarkan (Roslim, *et al.*, 2015). Semua hasil BLAST gen clock pada Megapodiidae hanya terdapat dua urutan nukleotida dari spesies yang berbeda (kelompok megapodiidae), selebihnya merupakan urutan nukleotida gen clock dari kelompok burung diluar famili Megapodiidae.

Descriptions	Graphic Summary	Alignments	Taxonomy
Reports	Lineage	Organism	Taxonomy

20 sequences selected ?

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Galloanserae	birds		20	
• Megapodiidae	birds		2	
• Megapodius eremita	birds	961	1	Megapodius eremita hits
• Alectura lathamii	birds	894	1	Alectura lathamii hits
• Anser erythropus	birds	778	1	Anser erythropus hits
• Anser cygnoides domesticus	birds	778	1	Anser cygnoides domesticus hits
• Oxyura jamaicensis	birds	769	11	Oxyura jamaicensis hits
• Biziura lobata	birds	765	1	Biziura lobata hits
• Aythya fuligula	birds	761	1	Aythya fuligula hits
• Aythya americana	birds	761	1	Aythya americana hits
• Cygnus atratus	birds	761	2	Cygnus atratus hits

Gambar 2. Hasil BLAST berdasarkan Taksonomi

Urutan nukleotida gen clock pada *Megapodius eremite* mempunyai panjang 530 bp, berdasarkan analisis query dan target sequence menunjukkan nilai identitas 100 % (530/530), Gaps 0 % (0/530), Strand Plus/Plus, Expect 0.0 dan Skor 961 bits (520) (Gambar 3). Berdasarkan nilai tersebut query dan target sequence mempunyai tingkat homologi atau kemiripan sangat dekat. Sedangkan urutan nukleotida gen clock pada *Alectura lathami* mempunyai panjang 522 bp, berdasarkan analisis query dan target

sequence menunjukkan nilai identitas 97 % (514/530), Gaps 1 % (8/530), Strand Plus/Plus, Expect 0.0 dan Skor 894 bits (484) (Gambar 4). Hasil ini menggambarkan bahwa kemiripan antara query dan target sequence dari spesies *Alectura lathami* lebih kecil dari pada target sequence *Megapodius eremite*. Sehingga dari 100 sequence yang dihasilkan dari proses BLAST memperlihatkan tingkat kemiripan yang berbeda-beda.

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
961 bits(520)	0.0	530/530(100%)	0/530(0%)	Plus/Plus	
Query 1	GCTTGGGGCCCTGCCTCTTTTGAAGGAACTGCCAGGAGGGGGCTGCTCCACAGCCAGT	60			
Sbjct 1	GCTTGGGGCCCTGCCTCTTTTGAAGGAACTGCCAGGAGGGGGCTGCTCCACAGCCAGT	60			
Query 61	TGCACTGAGGTTGCAGAGGCAGCAGTACAAAGCCTTCTAACACCGCGGTGTTGAGATCT	120			
Sbjct 61	TGCACTGAGGTTGCAGAGGCAGCAGTACAAAGCCTTCTAACACCGCGGTGTTGAGATCT	120			
Query 121	ACAGCTAACTTCTGGAATCTGTTAAGGAAAGCCACAAGGTGGTGACGGGGACATGGCCGA	180			
Sbjct 121	ACAGCTAACTTCTGGAATCTGTTAAGGAAAGCCACAAGGTGGTGACGGGGACATGGCCGA	180			
Query 181	CTTTGAGAGTTGCCCCAGTTTCTGTGCTCTAAAGGGTTTGYTGCCWGTGTGTTAATTTGTC	240			
Sbjct 181	CTTTGAGAGTTGCCCCAGTTTCTGTGCTCTAAAGGGTTTGYTGCCWGTGTGTTAATTTGTC	240			
Query 241	CGGGTGAAATCTCAAAAYGTGACTGACATGAGAGGGATGCTGAAAACAGTGGTATTTTTT	300			
Sbjct 241	CGGGTGAAATCTCAAAAYGTGACTGACATGAGAGGGATGCTGAAAACAGTGGTATTTTTT	300			
Query 301	ATCAGTCCTGTACATTTTTTAAAGTATTAAATGGACACAGAGCAATTGTTKGATTTAGCA	360			
Sbjct 301	ATCAGTCCTGTACATTTTTTAAAGTATTAAATGGACACAGAGCAATTGTTKGATTTAGCA	360			
Query 361	GAAAAATGCCAGGAACATAGTCCAACAGACATCTAATTTTTTCAGATGATTATGGGACAG	420			
Sbjct 361	GAAAAATGCCAGGAACATAGTCCAACAGACATCTAATTTTTTCAGATGATTATGGGACAG	420			
Query 421	YGAATACTTTGAAAAATGTTGTGTGAAATCCAGTTCTCTGTGTACAGATGCTGTAAAATA	480			
Sbjct 421	YGAATACTTTGAAAAATGTTGTGTGAAATCCAGTTCTCTGTGTACAGATGCTGTAAAATA	480			
Query 481	TTGTGTATATGTCTGCATAAAAGGAGAAAGAGCAAAATATTTTATATGAT	530			
Sbjct 481	TTGTGTATATGTCTGCATAAAAGGAGAAAGAGCAAAATATTTTATATGAT	530			

Gambar 3. Urutan Nukleotida Gen Clock pada *Megapodius eremite*

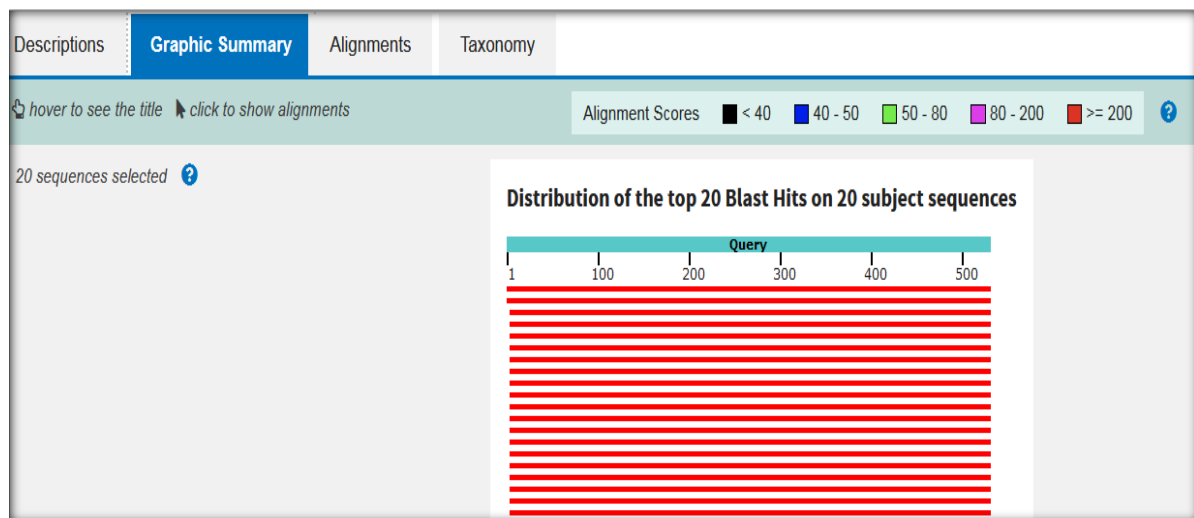
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
894 bits(484)	0.0	514/530(97%)	8/530(1%)	Plus/Plus	
Query 1	GCTTGGGGCCCTGCCTCTTTTGAAGGAACTGCCAGGAGGGGGCTGCTCCACAGCCAGT	60			
Sbjct 1	GCTTGGGGCCCTGCCTCTTTTGAAGGAACTGCCAGGAGGGGGCTGCTCCACAGCCAGT	60			
Query 61	TGCACTGAGGTTGCAGAGGCAGCAGTACAAAGCCTTCTAACACCGCGGTGTTGAGATCT	120			
Sbjct 61	TGCACTGAGGTTGCAGAGGCAGCAGTACAAAGCCTTCTAACACCGCGG-----TCT	112			
Query 121	ACAGCTAACTTCTGGAATCTGTTAAGGAAAGCCACAAGGTGGTGACGGGGACATGGCCGA	180			
Sbjct 113	ACAGCTAACTTCTGGAATCTGTTAAGGAAAGCCACAAGGTGGTGACGGGGACATGGCCGA	172			
Query 181	CTTTGAGAGTTGCCCCAGTTTCTGTGCTCTAAAGGGTTTGYTGCCWGTGTGTTAATTTGTC	240			
Sbjct 173	CTTTGAGAGTTGCCCCAGTTTCTGTGCTCTAAAGGGTTTGTCTGCCATGTGTTAATTTGTC	232			
Query 241	CGGGTGAAATCTCAAAAYGTGACTGACATGAGAGGGATGCTGAAAACAGTGGTATTTTTT	300			
Sbjct 233	CGGGTGARATCTCAAAACGTGACTGACATGAGAGGGATGCTGCAAACAGTGGTATTTTTT	292			
Query 301	ATCAGTCCTGTACATTTTTTAAAGTATTAAATGGACACAGAGCAATTGTTKGATTTAGCA	360			
Sbjct 293	ATCAGTCCTGTACATTTTTTAAAGTATTAAATGGACACAGAGCAATTGTTTGATTTAGAA	352			
Query 361	GAAAAATGCCAGGAACATAGTCCAACAGACATCTAATTTTTTCAGATGATTATGGGACAG	420			
Sbjct 353	GAAAAATGCCAGGAACATAGTCCAACAGACATCTAATTTTTTCAGATGATTATGGGACAG	412			
Query 421	YGAATACTTTGAAAAATGTTGTGTGAAATCCAGTTCTCTGTGTACAGATGCTGTAAAATA	480			
Sbjct 413	CGAATACTTTGAAAAATGTTGTGTGAAATCCAGTTCTCTGTGTACAGATGCTGTAAAATA	472			
Query 481	TTGTGTATATGTCTGCATAAAAGGAGAAAGAGCAAAATATTTTATATGAT	530			
Sbjct 473	TTGTGTATATGTCTGCATAAAAGGAGAAAGAGCAAAATATTTTATATGAT	522			

Gambar 4. Urutan Nukleotida Gen Clock pada *Alectura lathami*

Filogenetik Gen Target

Berdasarkan hasil selected 20 *sequence* hasil BLAST dari total 100 *sequence* menunjukkan tingkat distribusi yang tidak jauh

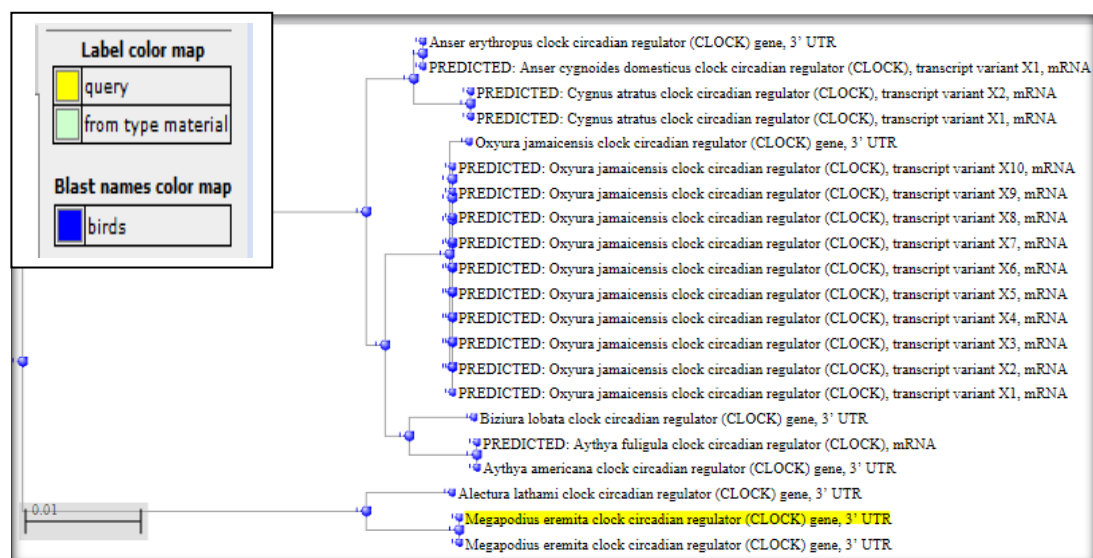
berbeda antara satu *sequence* dengan *sequence* lainnya. Hasil *Graphic Summary* menggambarkan bahwa alignment score masing-masing *sequence* lebih dari atau sama dengan 200 (Gambar 5).



Gambar 5. *Graphic Summary*

Hasil filogenetik target *sequence* menunjukkan tingkat kekerabatan Megapodiidae dengan beberapa kelompok birds berdasarkan query. Terdapat dua jenis spesies dari kelompok Megapodiidae yang mempunyai tingkat kekerabatan paling dekat, kurangnya informasi *sequence* gen clock pada Megapodiidae menyebabkan minimnya referensi dalam menentukan tingkat kekerabatan antar spesies Megapodiidae. Sehingga data filogenetik berdasarkan percabangan yang dihasilkan dari hasil analisis menggambarkan kekerabatan Megapodiidae dengan beberapa spesies burung diluar kelompok Megapodiidae (Gambar 6).

Pohon filogeni pada gambar 6 menunjukkan hasil yang serupa dengan hasil analisis BLAST yang menunggambarkan urutan nukleotida gen clock pada kelompok Megapodiidae. Pohon filogeni menunjukkan bahwa dua spesies Megapodiidae (*Megapodius eremite* dan *Alectura lathamii*) bersama *query* memiliki kekerabatan cukup dekat. Sedangkan untuk urutan nukleotida yang lain terbentuk cabang-cabang yang menggambarkan seberapa jauh hubungan kekerabatan urutan-urutan nukleotida tersebut.



Gambar 6. Pohon Filogenetik Gen Clock pada Megapodiidae

4. KESIMPULAN

Urutan nukleotida gen clock pada *Megapodius eremite* mempunyai panjang 530 bp, nilai identitas 100 % (530/530), Gaps 0 % (0/530), *Strand Plus/Plus*, *Expect* 0.0 dan Skor 961 bits (520). Urutan nukleotida gen clock pada *Alectura lathami* mempunyai panjang 522 bp, nilai identitas 97 % (514/530), Gaps 1 % (8/530), *Strand Plus/Plus*, *Expect* 0.0 dan Skor 894 bits (484). Hasil *Run BLAST* menggambarkan bahwa informasi *sequence* gen clock pada Megapodiidae masih sangat jarang dikaji dan diteliti, sehingga informasi dasar terkait gen clock dari sebagian besar spesies kelompok Megapodiidae belum terdaftar di GenBank sehingga hal ini sangat mempengaruhi studi lanjut terkait gen clock pada Megapodiidae yang sangat dibutuhkan untuk keperluan riset-riset selanjutnya dibidang molekuler atau bahkan konservasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bagus, W. I., Wirawan, G. P., & Adiartayasa, I. W. (2019). Analisis Homologi Fragmen DNACVPDr dari Jeruk Kinkit *Trophasia trifolia* menggunakan BLAST Protein Dan BLAST Nukleotida. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 8(4).
- Cassone, V. M. (2014). Avian Circadian Organization: A Chorus of Clocks. *Front Neuroendocrinol*. (1): 76–88.
- Dor, R., Cooper, C. B., Lovette, I. J., Massoni, V., Bulit F., Liljestrom M., & Liljestrom, D. W. (2011). Clock gene variation in Tachycineta swallows. *Ecology and Evolution*. 10 (5) : 110-120.
- Fidler, A. E., dan E. Gwinner, (2003). Comparative analysis of Avian BMAL1 and CLOCK protein sequences: a search for features associated with owl nocturnal behavior. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 136 : 861–874.
- Frith, H.J. (1956). *Breeding habits of the family Megapodidae*. Ibis 98. 620-640.
- Gekakis, N., David, S., Hubert, B. N., Fred, C. D., Lisa, D.W., Wilsbacher, D. P. K., Joseph, S. T., & Charles, J. W. (1998). Role of The CLOCK Protein in The Mammalian Circadian Mechanism. *Science*. 280(5369): 9-1564.
- IUCN. (2016). *The IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2016-3. [Online] Diakses 15 Oktober 2020 pada Laman: <http://www.iucnredlist.org>.
- Jhonsen, A., Fidler, A. E., Khun, S., Carter, K. L., Hoffmann, A., Barr, I. R., Biard, C., Charmantier, A., Eens, M., Korsten, P., Siitari, H., Tomiuk, & Kenpenaers, B. (2007). Avian Clock gene polymorphism: evidence for a latitudinal cline in allele frequencies. *Molecular Ecology*. 16 : 4867–4880.
- Jones, D. & Birks, S. (1992). Megapodes: recent ideas on origins, adaptations & reproduction. *Trends in Ecology & Evolution*. 7: 88-91.
- Karmana, W. (2009). Kajian Evolusi Berbasis Urutan Nukleotida. *Ganeç Swara*. 3(3).
- Katzenberg D., Young T., Finn L., Lin L., King D. P., Takahashi J. S., & Mignot E. A. (1998). CLOCK polymorphism associated with human diurnal preference. *Sleep*. 21:569–576.
- Pearson, W. R. (2013). An Introduction to Sequence Similarity (“Homology”) Searching. *Curr protect Bioinformatics*. 42.
- Radley, P. M., Davis, R. A., Dekker, R. W. R. J., Molloy, S. W., Blake, D., & Heinsohn, R. (2018). Vulnerability of megapodes (Megapodiidae, Aves) to climate change and related threats. *Environmental Conservation*. 45: 396–406.
- Roslim, D. I., & Oktavia, S., Herman. (2015). Analisis sebagian Sekuen DNA dari Gen Meis1 pada Ubi Kayu (*Manihot esculenta* Crantz.) Genotipe Menggalo dan Roti Partial DNA Sequences. *Jurnal Dinamika Pertanian*. XXX(2). 109-116.
- Sinclair, J. R. (1995). *ARE We Doing Enough? A Review Of The Conservation Status Of Megapodes And The Implementation Of Their Action Plans*. (Online) Diakses Tanggal 15 Oktober 2020 pada Laman: <http://www.malleefowlvictoria.org.au/2007Forum/12.pdf>
- Suprianto, Budiarsa, M., & Dhafir, F. (2020). 3D Structure of VP1 Structural Protein on Enterovirus A71 Using Swiss-Model. *BIOEDUSCIENCE: Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*. 4(1): 37-47.
- Suprianto, & Budiarsa, M. (2020). COVID-19: Analisis In-Silico Struktur Tersier nsp1 dan nsp2 pada SARS-CoV-2. *Jurnal Kesehatan Manarang*. 6(Nomor Khusus): 1-8.
- Suprianto., Trianto, M., Alam, N., & Kirana, N.G.A.G.C. (2020). karakter Morfologi dan

Analisis Daerah Conserved Gen Elongation Factor 1a (EF1a) pada *Lepidotrigona terminata*. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*. 7(2): 30-39.

Young, M. W., & Kay, S. A. (2001). Time zones: a comparative genetics of circadian clocks. *Nat Rev Genet*. 2(9): 702-715.