

Pendekatan filogenetik gen *matK* untuk identifikasi alternatif *Cannabis sativa* dalam terapi Parkinson

Novi Indrya Putri¹, Aisya Belva Ananda¹, Sindy Umarlin¹, Ai Himma Turahmah¹, Topik Hidayat^{1*}

¹Prodi Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pendidikan Indonesia

*Corresponding author: Jl. Dr. Setiabudi No. 229, Bandung, Jawa Barat, Indonesia. 40154
E-mail addresses: topikhidayat@upi.edu

Kata kunci

Cannabis sativa
Humulus lupulus
Penyakit Parkinson
Filogenetik
matK

Keywords

Cannabis sativa
Humulus lupulus
Parkinson's disease
Phylogenetics
matK

Diajukan: 29 Mei 2025
Ditinjau: 11 Juni 2025
Diterima: 21 Desember 2025
Diterbitkan: 22 Juni 2026

Cara Sitasi:
N. I. Putri, A. B. Ananda, S. Umarlin, A. H. Turahmah, T. Hidayat, "Pendekatan filogenetik gen *matK* untuk identifikasi alternatif *Cannabis sativa* dalam terapi Parkinson", *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*, vol. 6, no. 2, pp. 132-139, 2026.

Abstrak

Penyakit Parkinson merupakan gangguan neurodegeneratif progresif yang ditandai oleh penurunan dopamin di otak yang menyebabkan gangguan gerakan dan gejala non-motorik. *Cannabis sativa* diketahui memiliki senyawa aktif seperti THC dan CBD yang berpotensi meringankan gejala Parkinson. Namun, legalitas dan aspek etis penggunaan *C. sativa* masih menjadi perdebatan di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi alternatif tumbuhan dari famili Cannabaceae yang berkerabat dekat dengan *C. sativa* dan berpotensi memiliki efek terapeutik serupa. Penelitian dilakukan menggunakan pendekatan *in silico* melalui analisis filogenetik berdasarkan penanda gen kloroplas *matK* terhadap 44 spesies Cannabaceae. Hasil analisis menunjukkan bahwa *C. sativa* berkerabat dekat dengan genus *Humulus* dan membentuk klad monofiletik. *Humulus lupulus* diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti xanthohumol dan β -asam yang memiliki aktivitas antioksidan dan neuroprotektif. Dengan demikian, *H. lupulus* berpotensi dikembangkan sebagai alternatif non-psikoaktif *C. sativa* dalam terapi pendukung penyakit Parkinson, meskipun penelitian lanjutan tetap diperlukan.

Abstract

Parkinson's disease is a progressive neurodegenerative disorder characterized by a reduction in dopamine levels in the brain, leading to motor impairments and non-motor symptoms. *Cannabis sativa* is known to contain active compounds such as tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) that have the potential to alleviate Parkinson's symptoms. However, the legality and ethical aspects of *C. sativa* use remain a subject of debate in Indonesia. This study aims to identify alternative plant species within the Cannabaceae family that are closely related to *C. sativa* and potentially exhibit similar therapeutic effects. The study employed an *in silico* approach using phylogenetic analysis based on the chloroplast *matK* gene marker from 44 Cannabaceae species. The results revealed that *C. sativa* is closely related to the genus *Humulus*, forming a monophyletic clade. *Humulus lupulus* is known to contain bioactive compounds such as xanthohumol and β -acids with antioxidant and neuroprotective activities. Therefore, *H. lupulus* has the potential to be developed as a non-psychoactive alternative to *C. sativa* as an adjunct therapy for Parkinson's disease, although further research is still required.

1. Pendahuluan

Penyakit Parkinson merupakan gangguan neurodegeneratif progresif yang terjadi akibat degenerasi neuron dopaminergik di *substantia nigra pars compacta* [1]. Penyakit ini digambarkan sebagai “shaking palsy” oleh Dr. James Parkinson. Efek degeneratif pada mobilitas dan kontrol otot dapat dilihat melalui gejala yang sekarang dikenal sebagai tiga tanda utama penyakit parkinson, yaitu tremor saat istirahat (*resting tremor*), gerakan lambat (bradikinesia), dan kekakuan otot (rigiditas) yang disebabkan oleh berkurangnya produksi dopamin dalam otak [2]. Pada 2021 tercatat sekitar 11,8 juta kasus global dan jumlahnya diperkirakan berlipat ganda pada 2050 [3].

Pilihan obat untuk mengendalikan gejala penyakit Parkinson berbeda pada setiap pasien dan tidak terdapat satu terapi yang berlaku universal. Variasi ini tidak hanya dipengaruhi oleh faktor klinis, tetapi juga kondisi sosial ekonomi dan latar belakang pasien. Secara umum, pengelolaan gejala penyakit Parkinson melibatkan penggunaan beberapa kelompok obat, seperti levodopa, agonis dopamin, inhibitor monoamine oksidase-B (MAO-B), obat antimuskarinik, inhibitor kolinesterase, serta amantadine [4]. Selain obat, beberapa pendekatan komplementer mulai diteliti sebagai terapi pendukung pada penyakit Parkinson, salah satunya pemanfaatan *Humulus lupulus* (hop). *H. lupulus* merupakan tanaman yang kaya akan senyawa fitokimia, terutama bitter acids seperti humulone dan lupulone, serta flavonoid prenilat termasuk xanthohumol. Xanthohumol dilaporkan mampu menurunkan stres oksidatif, menghambat aktivasi jalur neuroinflamasi, serta memberikan perlindungan terhadap kerusakan neuron pada model penyakit neurodegeneratif, termasuk Parkinson [5]. Oleh karena itu, pemanfaatan *H. lupulus* lebih tepat diposisikan sebagai terapi pendukung (*adjunct therapy*) dan bukan sebagai pengganti obat farmakologis utama dalam pengelolaan penyakit Parkinson.

Sejalan dengan potensi *H. lupulus* sebagai terapi pendukung penyakit Parkinson, penelitian ini mengkaji 44 spesies yang memiliki kedekatan filogenetik dengannya, terutama dalam famili Cannabaceae. Kedekatan evolusioner ini mengindikasikan kemungkinan kesamaan jalur biosintesis metabolit sekunder, sehingga spesies-spesies tersebut berpotensi menghasilkan senyawa fitokimia dengan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi serupa yang relevan untuk pengembangan terapi pendukung penyakit Parkinson. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi tumbuhan alternatif yang berpotensi sebagai terapi pendukung penyakit Parkinson berdasarkan kedekatan filogenetik dan kesamaan jalur biosintesis senyawa bioaktif melalui analisis bioinformatika menggunakan perangkat lunak MEGA. Penelitian ini diharapkan dapat membuka peluang pemanfaatan tumbuhan alternatif sebagai sumber senyawa bioaktif untuk mendukung pengembangan terapi komplementer penyakit Parkinson secara lebih terarah dan berbasis bukti ilmiah

2. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan *in silico* dengan desain deskriptif-komparatif untuk menganalisis hubungan kekerabatan spesies dalam famili Cannabaceae dan mengidentifikasi alternatif tanaman berkerabat dekat dengan *Cannabis sativa* sebagai alternatif terapi penyakit Parkinson. Pendekatan *in silico* dipilih karena memungkinkan analisis taksonomi dan evolusi molekuler secara efisien tanpa perlu eksperimen laboratorium langsung, serta telah terbukti efektif dalam berbagai studi filogenetik berbasis data sekuens genetik [6].

Kriteria pemilihan data genetik. Analisis dilakukan menggunakan gen *matK*, salah satu gen kloroplas yang memiliki tingkat substitusi nukleotida relatif tinggi namun tetap konservatif, sehingga sesuai untuk analisis filogenetik pada tingkat genus hingga famili dan

banyak digunakan sebagai DNA *barcode* tumbuhan [7]. Kriteria inklusi meliputi sekuens gen *matK* yang teranotasi dengan jelas di GenBank dan berasal dari spesies famili Cannabaceae. Sekuens duplikat, sekuens sangat pendek, atau yang mengandung banyak karakter ambigu dikecualikan dari analisis.

Pemilihan spesies dan *outgroup*. Sebanyak 44 spesies dari famili Cannabaceae digunakan dalam analisis ini, yang merepresentasikan sekitar 50% dari total spesies Cannabaceae yang saat ini diakui. Strategi pengambilan sampel parsial dengan proporsi besar ($\pm 50\%$) dipilih untuk memastikan representasi keragaman filogenetik yang memadai pada tingkat famili, sekaligus menjaga efisiensi dan stabilitas analisis filogenetik berbasis sekuens gen tunggal. Pendekatan ini sejalan dengan prinsip *taxon sampling* dalam filogenetika molekuler, yang menyatakan bahwa peningkatan jumlah takson hingga proporsi tertentu secara signifikan meningkatkan akurasi topologi pohon tanpa harus mencakup seluruh anggota kelompok [8], [9].

Pemilihan spesies juga mempertimbangkan ketersediaan dan kualitas sekuens gen *matK* di basis data GenBank, sehingga tidak semua spesies Cannabaceae dapat diikutsertakan. Dengan demikian, jumlah 44 spesies dinilai cukup representatif untuk mengungkap pola kekerabatan utama dalam famili Cannabaceae serta posisi evolusioner *C. sativa* di dalamnya. Sebagai pembanding evolusioner, dua spesies dari famili Euphorbiaceae, yaitu *Manihot esculenta* dan *Ricinus communis*, digunakan sebagai *outgroup* untuk menentukan arah evolusi dan mengakar pohon filogenetik [10].

Pengumpulan data urutan DNA. Dalam penelitian ini, data sekuens gen diperoleh dari basis data GenBank milik NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan menggunakan kata kunci yang menggabungkan nama spesies dan gen penanda spesifik, seperti "*Cannabis sativa matK*". Data sekuens yang berhasil diperoleh selanjutnya disimpan dalam format FASTA (.txt) melalui aplikasi Notepad.

Tabel 1. Pengumpulan data urutan DNA

No.	Spesies	No. Akses
1	<i>Cannabis sativa</i>	MF694836.1
2	<i>Humulus lupulus</i>	KX677188.1
3	<i>Humulus japonicus</i>	MG251303.1
4	<i>Celtis occidentalis</i>	MG221098.1
5	<i>Celtis laevigata</i>	MF350229.1
6	<i>Celtis iguanaea</i>	KJ593798.1
7	<i>Celtis australis</i>	HE967374.1
8	<i>Celtis sinensis</i>	LC679554.1
9	<i>Celtis jessoensis</i>	LC679757.1
10	<i>Celtis formosana</i>	MF651944.1
11	<i>Celtis tetrandra</i>	JF317420.1
12	<i>Celtis philippensis</i>	KX146233.1
13	<i>Celtis gomphophylla</i>	JX517812.1
14	<i>Celtis africana</i>	JF270686.1
15	<i>Celtis mildbraedii</i>	JX517381.1
16	<i>Celtis paniculata</i>	KM894667.1
17	<i>Celtis timorensis</i>	KR530556.1
18	<i>Celtis biondii</i>	MH714279.1
19	<i>Celtis fluminensis</i>	MG718935.1
20	<i>Celtis bungeana</i>	MW382508.1
21	<i>Celtis julianae</i>	MH660097.1
22	<i>Celtis zenkeri</i>	MN370291.1
23	<i>Trema orientalis</i>	JF270972.1
24	<i>Trema cannabina</i>	KP093356.1

25	<i>Trema tomentosa</i>	KM894497.1
26	<i>Trema micrantha</i>	KJ012809.1
27	<i>Trema lamarckiana</i>	KJ012808.1
28.	<i>Trema angustifolia</i>	JF317434.1
29	<i>Gironniera nervosa</i>	KU519681.1
30	<i>Gironniera subaequalis</i>	HQ415240.1
31	<i>Gironniera hirta</i>	LC737268.1
32	<i>Pteroceltis tatarinowii</i>	AF345324.1
33	<i>Aphananthe aspera</i>	LC677364.1
34	<i>Aphananthe philippinensis</i>	KM894881.1
35	<i>Lozanella enantiophylla</i>	OQ289951.1
36	<i>Chaetachme aristata</i>	JF270688.1
37	<i>Aphananthe cuspidata</i>	KR530374.1
38	<i>Trema tomentosum</i>	MK931195.1
39	<i>Humulus scandens</i>	PQ331662.1
40	<i>Celtis boninensis</i>	LC679860.1
41	<i>Celtis koraiensis</i>	MH658834.1
42	<i>Celtis schippii</i>	GQ981961.1
43	<i>Celtis tessmannii</i>	MN370292.1
44	<i>Celtis reticulata</i>	MF963567.1
Outgroup		
45	<i>Ricinus communis</i>	GU135045.1
46	<i>Manihot esculenta</i>	JQ587466.1

Penyelarasan urutan DNA. Semua urutan DNA yang telah dikumpulkan diselaraskan menggunakan perangkat lunak ClustalX 1.83 untuk menghasilkan *multiple sequence alignment*. Penyelarasan sekuens dilakukan dengan parameter default (*gap opening penalty* = 15; *gap extension penalty* = 6.66; *IUB DNA weight matrix*). Proses penyelarasan ini bertujuan untuk melihat tingkat kesamaan (homologi) antar spesies [11]. Setelah proses penyelarasan selesai, bagian sekuens yang tidak sejajar atau mengandung banyak celah (*gap*) dipotong (*trimming*) secara manual untuk memperoleh *alignment* yang optimal untuk analisis filogenetik.

Rekonstruksi pohon filogenetik. Pohon filogenetik direkonstruksi menggunakan metode *Maximum Parsimony* pada perangkat lunak MEGA 4, dengan analisis bootstrap sebanyak 1000 replikasi untuk menguji kestabilan cabang pohon [12], [13]. Visualisasi pohon dilakukan menggunakan TreeView 1.6.6, dengan fokus pada posisi *Cannabis sativa* dan klad terdekatnya. Sebagai perbandingan metodologis, studi filogenetik terkini umumnya menggunakan MEGA 11 yang mendukung pemilihan model evolusi nukleotida secara otomatis dan resolusi analisis yang lebih tinggi [14] [15].

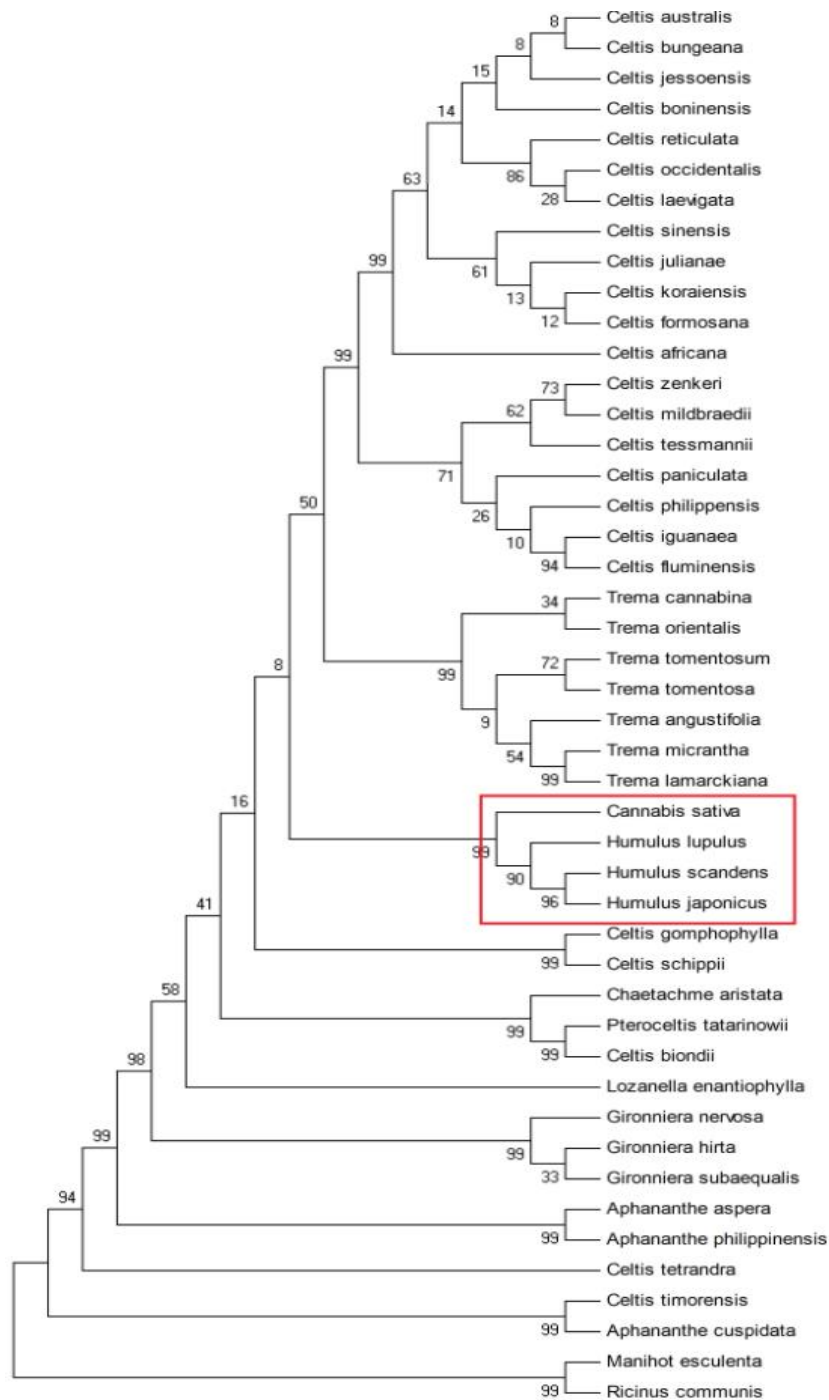
3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Penelitian

Pohon filogenetik Cannabaceae mengindikasikan hubungan kekerabatan erat antara *C. sativa* dengan genus *Humulus* dalam keluarga Cannabaceae. Analisis *rbcL* yang dilakukan oleh Xia dkk, [16] menunjukkan jarak genetika antar-genus kecil dibandingkan dengan kelompok tak terkait (di luar famili Cannabaceae). Variasi genetik dalam *C. sativa* bernilai kecil sekitar 0.0049, sedangkan jarak genetik antara *C. sativa* dan spesies lain dalam famili Cannabaceae berada pada nilai ≥ 0.0129 . Hal ini mendukung bahwa meskipun *Cannabis* dan *Humulus* berbeda genus, tetapi masih memiliki kesamaan genetik yang relatif tinggi.

Selain klaster *Cannabis-Humulus*, pohon filogenetik juga memperlihatkan terbentuknya beberapa klaster lain dalam famili Cannabaceae, seperti klaster *Celtis*, *Trema*,

Gironniera, dan *Aphananthe*, yang masing-masing membentuk kelompok monofiletik tersendiri dengan dukungan nilai bootstrap di atas 70%. Pola pengelompokan ini menunjukkan adanya pemisahan klad yang jelas antar-genus dalam famili Cannabaceae serta menegaskan bahwa klaster *Cannabis*–*Humulus* merupakan unit evolusioner yang berbeda dari kelompok lainnya.



Gambar 1. Hasil pohon filogenetik famili Cannabaceae berdasarkan penanda *matK*

3.2 Pembahasan

Kedekatan kekerabatan dapat menjadi dasar dalam pencarian alternatif terapeutik, karena spesies yang berkerabat dekat secara evolusi seringkali memiliki jalur biosintesis dan profil fitokimia yang serupa [17]. Baik genus *Cannabis* maupun *Humulus* membentuk kelompok monofiletik dalam famili Cannabaceae yang didukung oleh nilai bootstrap tinggi. Hubungan evolusi ini membuka peluang adanya kesamaan pada jalur biosintesis metabolit sekunder, sehingga *Humulus* dapat dikaji sebagai alternatif *C. sativa* dalam pengembangan terapi Parkinson. Di samping itu, analisis filogenetik terhadap enzim prenilttransferase menunjukkan bahwa prenilttransferase yang terlibat dalam biosintesis metabolit sekunder pada *C. sativa* berada dalam satu kelompok evolusi dengan prenilttransferase dari tanaman Cannabaceae lain, termasuk *H. lupulus*, yang mengindikasikan adanya hubungan homolog dalam jalur biosintesis senyawa terpenilasi [18][19].

Pada *H. lupulus*, xanthohumol dan preniltflavonoid lain dihasilkan dalam resin hop dan menunjukkan aktivitas antioksidan [20]. Pada *C. sativa*, proses prenilasi juga terlibat dalam biosintesis cannflavin yang merupakan flavonoid khas tanaman ini [18]. Meskipun profil kimianya berbeda, kemiripan fungsi enzim biosintesis mendukung korelasi antara hubungan filogenetik dengan senyawa kimia yang dihasilkan. *C. sativa* dan *H. lupulus* mengandung senyawa terpenofenol yang bermanfaat untuk gangguan neurodegeneratif. *C. sativa* menghasilkan cannabinoid seperti CBD dan THC yang memiliki efek neuroprotektif dan antiinflamasi melalui interaksi dengan sistem endocannabinoid [21]. Sementara itu, menurut Astray [22], *H. lupulus* mengandung prenilt flavonoid dan xanthohumol yang strukturnya mirip dengan cannabinoid, serta α - dan β -asam yang memiliki aktivitas antioksidan. Studi terbaru menunjukkan bahwa xanthohumol dari *Humulus* memiliki kemampuan mencegah stres oksidatif dan neurotoksisitas yang merupakan mekanisme patologi utama pada penyakit Parkinson.

Beberapa studi preklinik, seperti yang dilakukan oleh Zanolli & Zavatti [23], menunjukkan bahwa ekstrak *H. lupulus* dapat mengurangi stres oksidatif pada kultur sel neuron dan model hewan Parkinson. Xanthohumol terbukti mampu melindungi neuron dopaminergik dari kerusakan oksidatif, menghambat agregasi α -synuclein, serta meningkatkan fungsi mitokondria. Selain itu, β -asam dari *Humulus* juga menunjukkan efek positif dalam menekan neuroinflamasi yang berkontribusi terhadap progresivitas penyakit Parkinson. Penggunaan *Humulus* sebagai alternatif *Cannabis* dalam terapi Parkinson memiliki beberapa kelebihan, terutama karena tidak memiliki efek psikoaktif seperti THC. *Humulus* juga memiliki profil keamanan yang lebih baik dengan efek samping minimal. Namun, keterbatasan utamanya adalah konsentrasi senyawa aktif yang lebih rendah dibandingkan *Cannabis*, sehingga memerlukan metode ekstraksi dan formulasi yang lebih unggul [24], di samping keterbatasan ketersediaan spesies *Humulus* di Indonesia.

Untuk penelitian lebih lanjut, disarankan dilakukan studi komparatif fitokimia secara lebih mendalam antara kedua genus untuk mengidentifikasi senyawa spesifik yang memiliki potensi terapeutik terhadap Parkinson. Selain itu, uji klinis terhadap ekstrak *Humulus* yang terstandarisasi pada pasien Parkinson perlu dilakukan untuk mengevaluasi efikasi, keamanan, dan dosis optimal. Upaya pembudidayaan tanaman *Humulus* juga perlu dipertimbangkan meskipun menghadapi tantangan perbedaan iklim dan kondisi geografis, dengan mempertimbangkan wilayah dataran tinggi agar mendekati suhu optimal, serta penerapan teknik budidaya dan pengolahan yang tepat.

4. Kesimpulan

Rekonstruksi filogenetik menunjukkan bahwa *Cannabis sativa* dan genus *Humulus* merupakan kelompok monofiletik dalam famili Cannabaceae, dengan jarak genetika antar-genus yang relatif kecil dibandingkan kelompok tak terkait. Data ini menguatkan adanya kedekatan evolusioner yang berimplikasi pada kesamaan jalur biosintesis metabolit sekunder. Berdasarkan hubungan filogenetik tersebut serta bukti adanya metabolit terprenilasi bioaktif pada kedua genus, *Humulus* memiliki dasar ilmiah yang kuat untuk dikembangkan sebagai alternatif non-psikoaktif *C. sativa* dalam pendekatan terapi penyakit Parkinson. Meskipun demikian, rendahnya kadar senyawa aktif dan keterbatasan distribusi geografis *Humulus* di Indonesia menjadi tantangan utama yang perlu diatasi melalui optimasi ekstraksi, formulasi, dan strategi budidaya adaptif. Dengan pendekatan tersebut, *Humulus* berpotensi menjadi sumber fitoterapi yang relevan dan berkelanjutan.

Daftar Pustaka

- [1] L. V. Kalia and A. E. Lang, "Parkinson's disease," *Lancet*, vol. 386, no. 9996, pp. 896–912, 2015, doi: 10.1016/S0140-6736(14)61393-3.
- [2] G. DeMaagd and A. Philip, "Parkinson's disease and its management, part 1: Disease entity, risk factors, pathophysiology, clinical presentation, and diagnosis," *P&T*, vol. 40, no. 8, pp. 504–532, 2015.
- [3] GBD 2021 Parkinson's Disease Collaborators, "Projections for prevalence of Parkinson's disease and its driving factors in 195 countries and territories to 2050: A modelling study based on the global burden of disease study 2021," *BMJ*, vol. 388, no. e080952, pp. 1–18, 2025, doi: 10.1136/bmj-2024-080952.
- [4] F. Haddad, M. Sawalha, Y. Khawaja, A. Najjar, and R. Karaman, "Dopamine and levodopa prodrugs for the treatment of Parkinson's disease," *Molecules*, vol. 23, no. 40, pp. 1–17, 2018, doi: 10.3390/molecules23010040.
- [5] S. Ivanova, Z. Dzhakova, V. Todorova, R. Boyuklieva, P. Simeonov, and P. Katsarov, "Advancing brain health naturally: β -caryophyllene and xanthohumol as neuroprotective agents," *Molecules*, vol. 30, no. 18, pp. 1–30, 2025, doi: 10.3390/molecules30183702.
- [6] S. Chika and S. Zahro, "An in silico approach for evaluation of ITS, rbcL, and psbA–trnH for DNA barcoding of *Eugenia* spp.," *Biosfer: J. Tadris Biol.*, vol. 15, no. 1, pp. 153–167, 2024, doi: 10.24042/biosfer.v15i1.21064.
- [7] H. Daniell, C.-S. Lin, M. Yu, and W.-J. Chang, "Chloroplast genomes: Diversity, evolution, and applications in genetic engineering," *Genome Biol.*, vol. 17, no. 134, pp. 1–29, 2016, doi: 10.1186/s13059-016-1004-2.
- [8] T. A. Heath, S. M. Hedtke, and D. M. Hillis, "Taxon sampling and the accuracy of phylogenetic analyses," *J. Syst. Evol.*, vol. 46, no. 3, pp. 239–257, 2008, doi: 10.3724/SP.J.1002.2008.08016.
- [9] D. J. Zwickl and D. M. Hillis, "Increased taxon sampling greatly reduces phylogenetic error," *Syst. Biol.*, vol. 51, no. 4, pp. 588–598, 2002, doi: 10.1080/10635150290102339.
- [10] C. A. de M. Russo and A. P. Selvatti, "Bootstrap and rogue identification tests for phylogenetic analyses," *Mol. Biol. Evol.*, vol. 35, no. 9, pp. 2327–2333, 2018, doi: 10.1093/molbev/msy118.
- [11] A. Yang, W. Zhang, J. Wang, K. Yang, Y. Han, and L. Zhang, "Review on the application of machine learning algorithms in the sequence data mining of DNA," *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 8, no. 1032, pp. 1–13, 2020, doi: 10.3389/fbioe.2020.01032.
- [12] G. A. Inyang, F. U. Ogban, U. O. Udensi, E. U. Oyoita, and E. A. Edim, "A sequence analysis and alignment software (SAAS) for optimal performance in DNA sequence analysis," *J. Theor. Appl. Inf. Technol.*, vol. 100, no. 4, 2022.
- [13] S. Kumar, M. Nei, J. Dudley, and K. Tamura, "MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences," *Brief. Bioinform.*, vol. 9, no. 4, pp. 299–306, 2008, doi: 10.1093/bib/bbn017.
- [14] Z. F. Sururi, A. Nururrahmani, M. E. Sihombing, and T. Hidayat, "The role of chloroplast DNA markers (psbA) in maintaining the position of Lemnoideae," *Biota: J. Ilm. Ilmu-Ilmu Hayati*, vol. 10, no. 1, pp. 71–79, 2025, doi: 10.24002/biota.v10i1.8906.
- [15] K. Tamura, G. Stecher, and S. Kumar, "MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11," *Mol. Biol. Evol.*, vol. 38, no. 7, pp. 3022–3027, 2021, doi: 10.1093/molbev/msab120.
- [16] R. C. Xia, X. C. Zhang, X. X. Wang, Q. Yang, C. Chen, H. Yu, and C. T. Li, "Identification of *Cannabis sativa* L. based on rbcL sequence," *J. Forensic Sci.*, vol. 37, no. 2, pp. 187–191, 2021, doi:

10.12116/j.issn.1004-5619.2020.501004.

- [17] M. Wink, "Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective," *Phytochemistry*, vol. 64, no. 1, pp. 3–19, 2003, doi: 10.1016/S0031-9422(03)00300-5.
- [18] K. A. Rea, J. A. Casaretto, M. S. Al-Abdul-Wahid, A. Sukumaran, J. Geddes-McAlister, S. J. Rothstein, and T. A. Akhtar, "Biosynthesis of cannflavins A and B from *Cannabis sativa* L.," *Phytochemistry*, vol. 164, pp. 162–171, 2019, doi: 10.1016/j.phytochem.2019.05.009.
- [19] S. Yang, R. Chen, X. Cao, G. Wang, and Y. J. Zhou, "De novo biosynthesis of the hops bioactive flavonoid xanthohumol in yeast," *Nat. Commun.*, vol. 15, no. 1, pp. 1-10, 2024, doi: 10.1038/s41467-023-44654-5.
- [20] N. Kasica and J. Kaleczyc, "Xanthohumol from *Humulus lupulus* L. exerts multidirectional pro-healing properties," *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 483, no. 116809, pp. 1-12, 2024, doi: 10.1016/j.taap.2024.116809.
- [21] Y. Yang, M. M. Lewis, A. M. Bello, E. Wasilewski, H. A. Clarke, and L. P. Kotra, "*Cannabis sativa* (hemp) seeds, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, and potential overdose," *Cannabis Cannabinoid Res.*, vol. 2, no. 1, pp. 274–281, 2017, doi: 10.1089/can.2017.0040.