

Jurnal Biotek

p-ISSN: 2581-1827 (print), e-ISSN: 2354-9106 (online)
Website: <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/biotek/index>

Evaluasi Aplikasi DNA Barcode Lokus *psbA-trnH* pada Genus *Momordica*

Sumarlina¹, Tia Sofiani Napitupulu^{1*}

¹Politeknik Negeri Jember, Indonesia

*Correspondence email: tia.sofiani@polije.ac.id

(Submitted: 27-05-2023, Revised: 18-12-2023, Accepted: 20-12-2023)

ABSTRAK

Analisis molekuler telah mengalami perkembangan yang sangat pesat, salah satunya melalui penerapan metode *DNA barcode* yang didukung dengan adanya pusat data genetika dan molekuler yaitu NCBI. Namun, hingga saat ini belum ada konsensus lokus *DNA barcode region* standar dan universal yang dapat digunakan pada tanaman dari berbagai taxa. Salah satu lokus telah banyak terkumpul pada NCBI adalah *psbA-trnH*, diantaranya data dari genus *Momordica*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas *DNA barcode* dengan lokus *psbA-trnH* pada genus *Momordica*. Penelitian dilakukan dengan mengumpulkan data sekuens lokus *psbA-trnH* genus *Momordica* pada database NCBI. Data sekuens yang memenuhi kriteria selanjutnya disejajarkan dan dianalisis menggunakan software MEGA 11. Analisis yang dilakukan meliputi analisis variasi sekuens, rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan metode *maximum parsimony* dan *maximum likelihood* dengan *bootstrap* 1000x, dan perhitungan nilai jarak genetik berdasarkan *pairwise distance* dengan model substitusi *Kimura-2-Parameter* (K2P). Hasil penelitian menunjukkan bahwa lokus *psbA-trnH* terbukti memenuhi ketiga prinsip pemilihan *DNA barcode region* yaitu standarisasi, minimalisme, dan skalabilitas. Lokus *psbA-trnH* terbukti mampu menggambarkan variasi genetik genus *Momordica* baik pada level interspesies maupun intraspesies, tetapi masih belum cukup efektif untuk menggambarkan kekerabatan antar taxa, sehingga perlu dikombinasikan dengan lokus *barcode region* lainnya melalui uji dan kajian lanjutan.

Kata Kunci: *DNA barcode*, variasi genetik, *momordica*, *psbA-trnH*

ABSTRACT

The *DNA barcode* method has been instrumental in the rapid development of molecular analysis, with NCBI serving as an extensive genetic and molecular data center. However, there is still no consensus on standard and universal *DNA barcode region loci* that can be used in plants of various taxa. One locus that has been collected in NCBI is *psbA-trnH*, including data from the genus *Momordica*. Therefore, this study aims to determine the effectiveness of *DNA barcoding* with *psbA-trnH* in the genus *Momordica*. The study involved collecting data on the *psbA-trnH* sequence of the genus *Momordica* from the NCBI database. Sequence data that met the criteria was then aligned and analyzed using MEGA 11 software. The analyses performed included sequence variation analysis, phylogenetic tree reconstruction based on the *maximum parsimony* and *maximum likelihood* methods with 1000x bootstrapping, and the calculation of genetic distance values based on *pair-wise distance* with the *Kimura-2-Parameters* (K2P) substitution model. The results showed that the *psbA-trnH* region fulfilled the three principles of selecting *DNA barcode regions*: standardization, minimalism, and scalability. The *psbA-trnH* region can describe genetic variation



in Momordica at both interspecies and intraspecies levels, but it is insufficient for phylogenetic analysis between taxa. Further tests and studies are needed to combine it with other barcode regions.

Keywords: DNA barcode, genetic variation, Momordica, psbA-trnH

How to cite: Sumarlina, & Napitupulu, T. S. (2023). Evaluasi Aplikasi DNA Barcode Lokus psbA-trnH pada Genus Momordica. Jurnal Biotek, 11(2), 182-195. <https://doi.org/10.24252/jb.v11i2.37914>

PENDAHULUAN

Pendekatan berbasis molekuler telah berkembang dengan sangat pesat, salah satunya ditandai dengan terbentuknya database *NCBI (National Center for Biotechnology Information)*. *NCBI* merupakan sumber pusat data yang berisi tentang informasi terkait perkembangan biologi molekuler yang dimanfaatkan untuk berbagai keperluan analisis molekuler dan genetika. Salah satu metode analisis molekuler yang banyak dikaji saat ini adalah metode *DNA barcoding*. *DNA* merupakan sumber informasi genetik yang akurat dan potensial, yang ditemukan dalam hampir semua sel seluruh organisme. Analisis molekuler menggunakan metode *DNA barcode* pada dasarnya merupakan suatu pendekatan dengan memanfaatkan sekuens pendek yang termasuk bagian dari genom yang terstandarisasi sebagai penanda genetik untuk mengidentifikasi spesies (Kress et al., 2015). Beberapa penelitian terdahulu terkait *DNA barcode* juga telah banyak dilakukan, diantaranya tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) (Afrianti et al., 2023), genus *Stelechocarpus* (Turhadi & Hakim, 2023), tumbuhan langka (Mursyidin, 2022), mangga kasturi (*Mangifera casturi*) (Sagala & Sogandi, 2022), spesies *Momordica* (J. U. S. Kumar et al., 2020; Ramesh et al., 2021), tanaman gambir (*Uncaria* sp.) (Wardi et al., 2020), bunga soka (*Ixora*) (Anzani et al., 2021), *Myrtaceae* (Martiansyah, 2021), tanaman anggrek *Thrixspermum* (Rohimah et al., 2018; Sindiya et al., 2018), tanaman daluga (*Cyrtosperma* spp.) (Julianti et al., 2015), lai-durian (Sunaryo, 2015), tanaman tumbuhan pangi (*Pangium edule* R.) (Bangol et al., 2014), serta gedi merah (*Abelmoschus manihot*) dan gedi hijau (*Abelmoschus moschatus*) (Fattah et al., 2014). Hal ini menunjukkan bahwa penelitian *DNA barcode* telah dilakukan pada berbagai jenis tanaman dari berbagai level taxa.

Langkah pertama dalam analisis molekuler menggunakan metode *DNA barcode* adalah pemilihan lokus *DNA*. Namun, terdapat keterbatasan pada metode ini karena belum adanya konsensus lokus standar yang bersifat universal untuk semua tanaman seperti pada hewan yang menggunakan *COI*. Oleh karena itu, kajian

terkait dengan *DNA barcoding* pada tanaman masih terus dilakukan. Adapun lokus DNA yang umumnya digunakan dalam analisis molekuler tanaman adalah *rbcL* (gen subunit *large RuBisCO*) (Talley & Kolondam, 2015), *matK* (gen *maturase K*) (Ali et al., 2015), *psbA-trnH* (daerah ruang antar-gen *trnH* dan *psbA*) (Kress et al., 2005), dan *ITS* (*Internal Transcribes Spacer*) (S. Chen et al., 2010). Namun, penggunaannya pada berbagai taxa tanaman masih terus melalui penelitian-penelitian dengan dengan berbagai metode uji.

Lokus *psbA-trnH* merupakan salah satu lokus yang potensial untuk dikembangkan, karena lokus ini memiliki kemampuan untuk membedakan spesies dengan sangat baik (Kress et al., 2005; Nithaniyal & Parani, 2016; Santhosh Kumar et al., 2015; Vassou et al., 2015). Lokus *psbA-trnH* merupakan daerah *intergenic spacer* yang terdapat pada genom kloroplas tanaman. Lokus ini merupakan *barcode region* yang paling variatif pada Angiospermae dan mudah diamplifikasi pada berbagai tanaman darat (Kress et al., 2005). Oleh karena itu, lokus *psbA-trnH* patut untuk diuji lebih lanjut. Selain itu, data sekuens *psbA-trnH* juga ditemukan cukup banyak di database *NCBI*, meskipun masih terbatas pada kelompok taxa tertentu. Meskipun demikian, kajian lebih lanjut tetap diperlukan untuk mengetahui efektivitas lokus *psbA-trnH* dalam menggambarkan variasi genetik pada tanaman berdasarkan metode *DNA Barcode*.

Genus *Momordica* merupakan salah satu genus dengan jumlah spesies yang cukup besar dan menjadi subjek penelitian ini berkat keberadaan database genom yang cukup lengkap di *NCBI*. Genus *Momordica* merupakan tanaman asli paleotropis yang setidaknya terdiri dari 59 spesies yang tersebar di Afrika dan Asia Tenggara (Bharathi & John, 2013). Sejauh ini ditemukan 159 taxa dari genus *Momordica* yang memiliki sekuens lokus *psbA-trnH* pada database *NCBI* secara keseluruhan. Oleh karena itu, data tersebut dapat dimanfaatkan untuk mengetahui efektivitas lokus *psbA-trnH* sebagai salah satu kandidat konsensus lokus DNA barcode region. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas aplikasi *DNA Barcode* dengan lokus *psbA-trnH* pada genus *Momordica*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan rekomendasi terkait dengan penerapan analisis molekuler menggunakan metode *DNA barcode* pada tanaman, khususnya dengan lokus *psbA-trnH*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan mengumpulkan data sekuens gen yang diperoleh dari *NCBI (National Center for Biotechnology Information; URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)*. Locus gen yang digunakan ialah locus *psbA-trnH* yang terdapat pada *database NCBI*. Terdiri dari *partial cds* gen *psbA*, *complete sequence* dari *psbA-trnH intergenic spacer*, dan *partial sequence trnH-His* (gen *trnH*). Taxa yang digunakan terbatas pada 12 taxa dari genus *Momordica* dengan data locus *psbA-trnH* pada *database NCBI* yang sesuai kriteria. Kriteria tersebut antara lain (i) bukan merupakan sekuens 'unverified' tanpa nama taxa yang jelas, (ii) memiliki ambiguitas basa N < 3% (Suesatpanit et al., 2017), serta (iii) memiliki komponen sekuens *psbA-trnH* seperti yang telah disebutkan sebelumnya. Data taxa yang memenuhi kriteria disajikan pada Tabel 1.

Sekuens dari seluruh taxa yang telah dikumpulkan selanjutnya disimpan dalam format FASTA dan dianalisis dengan menggunakan *software* MEGA 11 (S. Kumar et al., 2018) yang dapat diunduh melalui <https://www.megasoftware.net>. Analisis yang dilakukan meliputi penyejajaran, analisis jumlah variasi basa, rekonstruksi pohon filogenetik, dan perhitungan nilai jarak genetik yang dihasilkan. Penyejajaran dilakukan melalui *Multiple Sequence Alignment by Clustal W*. Analisis jumlah variasi basa terdiri dari data jumlah *conserve site* (S), *variable site* (V), *parsimony informative site* (Pi), dan *singleton site* (S). Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan berdasarkan metode *Maximum Parsimony* dan *Maximum Likelihood* dengan *bootstrap* 1000x. Perhitungan nilai jarak genetik dilakukan berdasarkan *pairwise distance* dengan model substitusi *Kimura-2-Parameter* (K2P).

Evaluasi aplikasi *DNA Barcode* dengan locus *psbA-trnH* dilakukan dengan memperhatikan prinsip penting pemilihan *DNA barcode region* yaitu standarisasi, minimalisme, dan skalabilitas (Hollingsworth et al., 2011). Standarisasi didasarkan pada locus yang bersifat standar dan universal, sedangkan prinsip minimalisme berkaitan dengan ukuran basa dan tingkat variasinya. Adapun prinsip skalabilitas berkaitan dengan keterjangkauan locus untuk di amplifikasi, Penelitian ini berfokus pada analisis variasi dan jarak genetik yang dihasilkan, serta analisis hasil pohon filogenetik yang terbentuk. Nilai jarak genetik yang lebih besar menunjukkan hubungan kekerabatan yang semakin jauh (Aprilyanto & Sembiring, 2016), sehingga cenderung akan terpisah percabangannya pada pohon filogenetik yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengumpulan data sekuens dari database *NCBI* dilakukan dengan menggunakan kata kunci “spesies+psbA-trnH”, sehingga diperoleh 12 taxa yang memenuhi kriteria (Tabel 1). Jumlah basa yang diperoleh berkisar antara 213 – 494 bp. Jumlah basa terkecil ditemukan pada *M. charantia* var. *muricata*, sedangkan jumlah basa terbesar diperoleh dari *M. charantia* var. *charantia*. Sekuens tersebut kemudian disejajarkan dan dianalisis, sehingga diperoleh konsensus jumlah basa yang berhasil di sejajarkan sebesar 213 bp disertai dengan berbagai data variasi sekuens lainnya (Tabel 2). Ukuran basa tersebut tergolong cukup pendek, jika dibandingkan dengan beberapa jenis lokus *barcode region* lain yang sering digunakan seperti *matK*, *rbcl*, maupun ITS. Namun, ukuran tersebut juga mungkin lebih panjang (>1000 bp) pada tanaman monokotil dan conifer (*CBOL Plant Working Group*, 2009). Taxa yang berhasil dikumpulkan terdiri dari anggota genus *Momordica* yang berasal dari Asia dan Afrika, dengan jumlah masing-masing sebanyak 6 spesies. Pengelompokan berdasarkan origin ini dilakukan untuk mempermudah analisis efektivitas lokus *psbA-trnH* melalui rekonstruksi pohon filogenetik. Adapun penentuan origin dilakukan berdasarkan hasil-hasil penelitian sebelumnya yang dipublikasikan secara utuh sebagai *overview* genus *Momordica* (Bharathi & John, 2013).

Tabel 1. Data taxa dan jumlah basa yang diperoleh dari database *NCBI*

Nomor Akses	Taxa	Jumlah basa (bp)	Origin
GQ845135.1	<i>M. cochinchinensis</i>	251	Asia
GQ163055.1	<i>M. multiflora</i> var. <i>albopilosa</i>	264	Asia
GQ163087.1	<i>M. subangulata</i>	269	Asia
JN398163.1	<i>M. dioica</i>	234	Asia
JN398164.1	<i>M. charantia</i> var. <i>muricata</i>	213	Asia
MF071483.1	<i>M. charantia</i> var. <i>charantia</i>	494	Asia
GQ162977.1	<i>M. balsamina</i>	268	Afrika
GQ163041.1	<i>M. humilis</i>	269	Afrika
GQ163044.1	<i>M. kirkii</i>	268	Afrika
GQ163071.1	<i>M. rostrata</i>	262	Afrika
GQ163073.1	<i>M. sessilifolia</i>	264	Afrika
GQ163093.1	<i>M. welwitschii</i>	255	Afrika

Tabel 2. Data Nukleotida pada Sekuens *psbA-trnH* yang Dianalisis

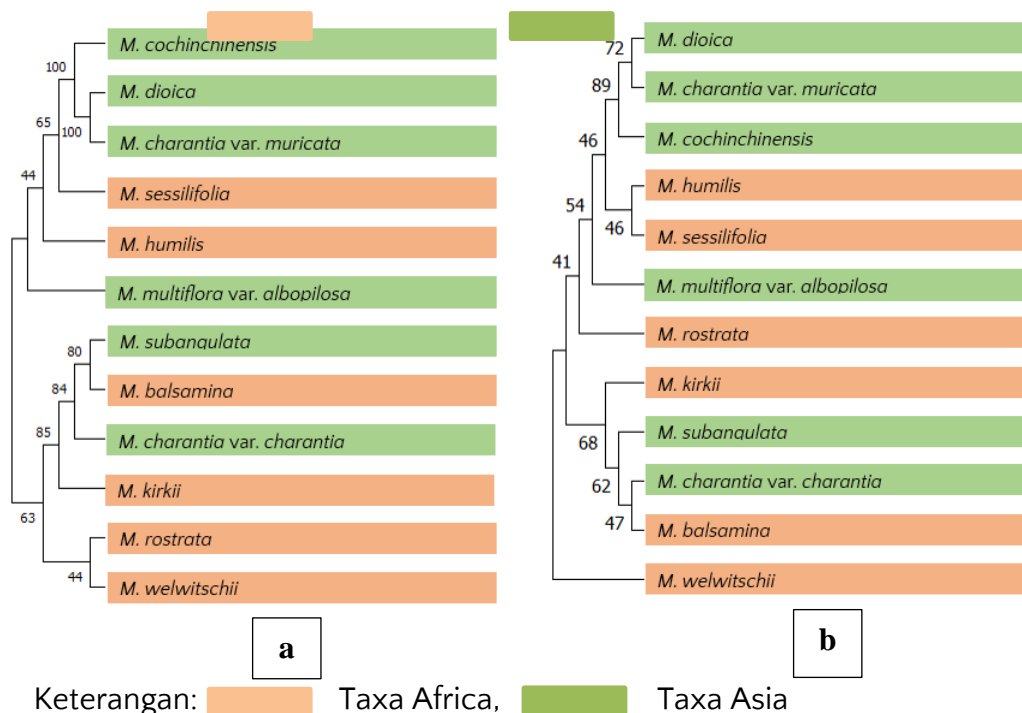
Parameter	Jumlah (bp)
Ukuran Basa total (terpanjang)	494
Ukuran basa yang berhasil disejajarkan	213
<i>Conserve site</i> (C)	10/213
<i>Variable site</i> (V)	203/213
<i>Parsimony informative site</i> (Pi)	159/213
<i>Singleton site</i> (S)	44/213

Berdasarkan data pada Tabel 2, dapat diketahui bahwa lokus *psbA-trnH* memiliki variasi yang sangat tinggi yaitu 203/213 bp, dengan ukuran total basa yang cenderung lebih pendek dibandingkan lokus lainnya seperti *matK*, *rbcL*, dll. Hal ini menunjukkan bahwa *psbA-trnH* memenuhi prinsip minimalisme, sehingga cukup efektif untuk menggambarkan variasi genetik antar taxa baik seara interspesies maupun intraspesies. Lokus *psbA-trnH* merupakan *barcode region* yang paling variatif pada Angiospermae dan mudah diamplifikasi pada berbagai tanaman darat (Kress et al., 2005). Hal tersebut juga sejalan dengan penelitian yang menunjukkan bahwa *psbA-trnH* mampu membedakan spesies dengan lebih baik (Nithaniyal & Parani, 2016; Vassou et al., 2015).

Disisi lain, data hasil analisis sekuens *psbA-trnH* pada 12 spesies dari genus *Momordica* menunjukkan jumlah *conserve site* yang cukup sedikit, yaitu hanya 10 dari 213 bp yang berhasil di sejajarkan. Hal ini dapat menjadi kelemahan aplikasi lokus *psbA-trnH* pada proses *DNA barcode* karena kemungkinan biasanya pohon filogenetik yang dihasilkan. Penelitian menunjukkan bahwa lokus *psbA-trnH* memiliki kelemahan pada kualitas sekuens karena adanya pengulangan mononukleotida (*CBOL Plant Working Group*, 2009). Gambar 1 menunjukkan hasil rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan metode *maximum parsimony* (a) dan *maximum likelihood* (b).

Berdasarkan rekonstruksi pohon filogenetik yang telah dilakukan, kedua metode yang digunakan menunjukkan adanya perbedaan klaster, tetapi keduanya menunjukkan bahwa taxa yang diuji tidak mengelompok sesuai origin. Gambar tersebut juga menunjukkan bahwa setiap spesies memisah dengan sangat jelas, khususnya pada level intraspesies yaitu *M. charantia* var. *muricata* dan *M. charantia* var. *charantia*. Namun, pemisahan kedua varietas tersebut terlampau

jauh pada kedua metode yang digunakan. Metode *maximum parsimony* didasarkan pada jumlah sekuens Pi (Tabel 2) dengan dua tahap yaitu penentuan skor terhadap sebuah pohon dan pemilihan satu dari seluruh kombinasi pohon menggunakan fungsi objektif berupa jumlah substitusi minimum, sehingga pohon yang memiliki substitusi terendah merupakan pohon yang optimal (Aprilyanto & Sembiring, 2016). Dalam penelitian ini, jumlah Pi cukup tinggi yaitu 159/213 (Tabel 2), sehingga pemisahan cladogram cukup jelas dengan nilai *bootstrap* yang juga lebih tinggi jika dibandingkan dengan metode *maximum likelihood*. Hal ini menunjukkan bahwa sekuens dari lokus *psbA-trnH* sangat mampu menunjukkan variasi genetik yang ada, tetapi masih kurang efektif untuk menggambarkan kekerabatan antar taxa. Oleh karena itu, aplikasinya sebagai salah satu *DNA barcode region* masih perlu kajian lebih lanjut baik untuk optimalisasi metodenya maupun penerapannya pada objek taxa yang akan diuji. Salah satunya ialah dengan mengkombinasikan lokus *psbA-trnH* bersama lokus *barcode region* lainnya, seperti ITS (*ribosomal region*) (J. U. S. Kumar et al., 2015; Vassou et al., 2015), *trnC-petN* (Yao et al., 2022), *matK* dan *trnL* (F.-R. Chen et al., 2019).



Gambar 1. Pohon Filogenetik Berdasarkan *DNA Barcode* dengan Lokus *psbA-trnH* pada Berbagai Anggota Genus *Momordica* Dengan *Bootstrap* 1000x Berdasarkan Metode *Maximum Parsimony* (a) dan *Maximum Likelihood* (b)

Analisis efektivitas aplikasi *DNA barcode region* juga dapat dilihat melalui perhitungan jarak genetik yang dihasilkan untuk memperkuat gambaran kekerabatan dari rekonstruksi pohon filogenetik. Tabel 3 berisi hasil perhitungan nilai jarak genetik antar taxa berdasarkan *DNA barcode* dengan lokus *psbA-trnH* dengan metode pairwise distance model substitusi *Kimura-2-Parameter* (K2P). Jarak genetik terbesar ditemukan pada *M. cochinchinensis* dan *M. sessilifolia*, yang juga didukung dengan pemisahan bernilai 100 pada rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan *Maximum parsimony* dan pemisahan membentuk *clade* yang berbeda pada pohon filogenetik berdasarkan *Maximum Likelihood*. Selain itu, keduanya memang berasal dari origin yang berbeda. *M. Cochinchinensis* merupakan jenis labu manis (*sweet gourd*) yang berasal dari Asia Tenggara, sedangkan *M. Sessilifolia* lebih mirip dengan kelompok *Momordica* dari Afrika, bersama dengan *M. kirkii* (Bharathi & John, 2013).

Jarak genetik terkecil ditunjukkan dari *M. subangulata* dan *M. charantia* var. *charantia*, serta *M. balsamina* dan *M. kirkii* yang memang berasal dari origin yang sama. *M. subangulata* dan *M. charantia* var. *charantia* berasal dari Asia, sedangkan *M. balsamina* dan *M. kirkii* memiliki origin dari Afrika (Bharathi & John, 2013). Dengan kata lain, hal ini membuktikan bahwa variasi genetik pada lokus *psbA-trnH* sangat mampu membedakan spesies dari origin yang sama sekalipun, bahkan pada level intraspesifik. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang juga menunjukkan bahwa *psbA-trnH* dapat menunjukkan adanya variasi intraspesies yang lebih baik dibandingkan lokus lainnya, seperti *rbcL* (Swetha et al., 2014).

Tabel 3. Nilai Jarak Genetik Berdasarkan Sekuens Lokus *psbA-trnH* pada Berbagai Taxa Genus *Momordica*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1												
2	2.42											
3	2.52	0.08										
4	1.80	n/c	n/c									
5	n/c	n/c	n/c	0.31								
6	2.49	0.08	0.02 ²	n/c	n/c							
7	2.29	0.07	0.01	n/c	n/c	0.02						
8	n/c	0.02	0.08	n/c	n/c	0.09	0.08					
9	2.29	0.07	0.02	n/c	n/c	0.03	0.02 ²	0.07				
10	2.29	0.07	0.07	n/c	n/c	0.07	0.06	0.07	0.06			

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
11	2.71 ¹	0.22	0.30	n/c	n/c	0.30	0.28	0.20	0.29	0.28		
12	2.06	0.14	0.13	n/c	n/c	0.13	0.12	0.15	0.13	0.13	0.34	

Keterangan: *M. cochinchinensis* (1), *M. multiflora* var. *albopilosa* (2), *M. subangulata* (3), *M. dioica* (4), *M. charantia* var. *muricata* (5), *M. charantia* var. *charantia* (6), *M. balsamina* (7), *M. humilis* (8), *M. kirkii* (9), *M. rostrata* (10), *M. sessilifolia* (11), *M. welwitschia* (12), n/c (*not calculated*/ tidak dikalkulasikan oleh *software*).

¹) Nilai jarak genetik tertinggi

²) Nilai jarak genetik terendah

Apabila dikaji kembali berdasarkan ketiga prinsip pemilihan lokus *DNA barcode region* yaitu standarisasi, minimalisme, dan skalabilitas (Hollingsworth et al., 2011), maka lokus *psbA-trnH* telah memenuhi ketiga prinsip tersebut. Prinsip pertama (standarisasi), dibuktikan dengan ditemukannya 131.703 aksesi data lokus *psbA-trnH* pada berbagai taxa pada *database NCBI*, diantaranya ialah data 12 taxa dari genus *Momordica* (Tabel 1). Prinsip kedua (minimalisme), dibuktikan dengan ukuran sekuens lokus *psbA-trnH* yang tergolong pendek (<500 bp) dengan variasi yang cukup tinggi baik itu variasi sekuens yang merupakan *parsimony site* maupun *singleton site* (Tabel 2), serta jarak genetik yang dihasilkan (Tabel 3). Prinsip ketiga (skalabilitas) juga dapat dilihat dari banyaknya data lokus *psbA-trnH* dari berbagai taxa pada *database NCBI*, serta banyaknya rekomendasi dari hasil penelitian-penelitian sebelumnya. Hasil penelitian pada *B. lycium* menunjukkan bahwa lokus *psbA-trnH* merupakan salah satu *DNA barcode region* yang berhasil diamplifikasi dan digambarkan struktur model 3Dnya, serta berhasil mengautentifikasi spesies tersebut (Bukhari et al., 2022). Namun, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menguji skalabilitasnya secara langsung, terutama terkait metode amplifikasi sekuens mulai dari kemudahan desain *primer*, ketepatan suhu *annealing* pada proses amplifikasi PCR, hingga deteksi awal keberhasilan PCR melalui uji elektroforesis dan *sequencing*. Disisi lain, meskipun lokus *psbA-trnH* telah memenuhi prinsip minimalisme, penelitian lebih lanjut juga masih diperlukan untuk meningkatkan efektivitasnya pada kajian kekerabatan antar taxa. Sekuens yang terlalu pendek dengan variasi yang tinggi mengakibatkan minimnya *conserve site* yang digunakan sebagai dasar algoritma dalam pemisahan *clade* pada rekonstruksi pohon filogenetik. Hal ini sejalan dengan penelitian yang menunjukkan bahwa rekonstruksi pohon filogenetik berdasarkan *DNA barcode region psbA-trnH* tidak

merepresentasikan hubungan kekerabatan yang memuaskan (Olsson et al., 2022). Oleh karena itu, kombinasi dengan lokus *barcode region* lainnya sangat direkomendasikan. Sejalan dengan rekomendasi tersebut, kombinasi ITS2 dengan *psbA-trnH* terbukti mampu menunjukkan pemisahan yang jelas pada spesies *Terminalia* (Intharuksa et al., 2020) Begitu pula dengan hasil konstruksi filogeni pada *Ficus carica* L. yang menunjukkan resolusi tertinggi salah satunya dengan kombinasi barcode lokus *matK*, ITS, dan *psbA-trnH* (Castro et al., 2015).

Penelitian ini memberikan informasi bahwa lokus *psbA-trnH* dapat dikembangkan menjadi salah satu konsensus *DNA barcode region* yang efektif dengan kajian-kajian lebih lanjut. Dengan demikian, penerapan teknik *DNA barcode* pada tumbuhan dapat dilakukan dengan lebih optimal, khususnya untuk keperluan identifikasi biodiversitas global. Adanya data variasi genetik berdasarkan *DNA barcode* juga dapat menjadi bahan utama untuk analisis lanjutan pada kajian evolusi dan ekologi (Bhargava & Sharma, 2013; Huang et al., 2016; Sahu et al., 2016). Metode *DNA barcoding* juga memiliki peran pada bidang kesehatan dan pengobatan tradisional sebagai cara untuk menginvestigasi adanya pemalsuan produk tanaman obat di pasar bebas (Swetha et al., 2014; Vassou et al., 2015). Oleh karena itu, penelitian dan penyebaran informasi mengenai metode *DNA barcode* perlu dilaksanakan secara berkelanjutan.

KESIMPULAN

Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa penggunaan lokus *psbA-trnH* dari 12 taxa genus *Momordica* telah memenuhi ketiga prinsip pemilihan DNA barcode region yaitu standarisasi, minimalisme, dan skalabilitas. Lokus *psbA-trnH* terbukti memiliki sekuens yang pendek dengan variasi yang tinggi, sehingga dapat membedakan sekuens antar taxa dengan cukup baik pada level interspesies maupun intraspesies. Namun, lokus tersebut masih belum cukup efektif untuk menggambarkan kekerabatan antar taxa dengan tepat, sehingga perlu dikombinasikan dengan lokus *barcode region* lainnya. Penelitian-penelitian lebih lanjut juga masih diperlukan untuk meningkatkan efektifitas penggunaan lokus *psbA-trnH* pada analisis *DNA barcode* tumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, R., Wardi, E. S., Putri, A. H., & Suryani, S. (2023). Barcode DNA Tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) Berdasarkan Gen ITS (Internal Transcribed Spacer). *KATALISATOR*, 8(1), 123-136.

- <https://doi.org/10.22216/katalisator.v8i1.1961>
- Ali, M. A., Gabor, G., & Al-Hemaid, F. (2015). *Plant DNA Barcoding and Phylogenetics*. Lambert Academic Publishing, Germany, pp. 155–170.
- Anzani, A. N., Martiansyah, I., & Nia, Y. (2021). Studi In Silico DNA Barcoding pada Bunga Soka (*Ixora*). *Prosiding Niologi Achieving the Sustainable Development Goals with Biodiversity in Confronting Climate Change*, 168–177. <https://doi.org/10.24252/psb.v7i1.23693>
- Aprilyanto, V., & Sembiring, L. (2016). *Filogenetik molekuler*. Yogyakarta: Innosain.
- Bangol, I., Momual, L. I., & Kumaunang, M. (2014). Barcode DNA Tumbuhan Pangi (*Pangium edule* R.) Berdasarkan Gen matK. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 3(2), 113–119. <https://doi.org/10.35799/jm.3.2.2014.5862>
- Bharathi, L. K., & John, K. J. (2013). *Momordica genus in Asia—An overview*. Springer.
- Bhargava, M., & Sharma, A. (2013). DNA barcoding in plants: Evolution and applications of in silico approaches and resources. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 67(3), 631–641. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.03.002>
- Bukhari, S. M. F., Ali, G., Anjum, Z., Akhter, W., & Abbas, S. R. (2022). Morphology And Phylogeny Of Important Medicinal Plant *Berberis Lycium* Royle Based On Matk, RBCL, Its And TRNH–PSBA From Azad Jammu And Kashmir. *Pak. J. Bot*, 54, 2. <https://pakbs.org/pjbot/papers/1643957326.pdf>
- Castro, C., Hernandez, A., Alvarado, L., & Flores, D. (2015). DNA barcodes in Fig cultivars (*Ficus carica* L.) Using ITS Regions of Ribosomal DNA, the psbA-trnH spacer and the matK Coding Sequence. *American Journal of Plant Sciences*, 6(01), 95. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2015.61011>
- CBOL Plant Working Group. (2009). A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 12794–12797.
- Chen, F.-R., Wang, T., Guo, Q.-S., Zhu, Z.-B., Yang, F., Zou, Q.-J., & Zhang, Y.-J. (2019). Identification of *Chrysanthemum indicum* in different geographical populations and *Ch. morifolium* based on DNA barcodes of psbA-trnH, matK and trnL. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica*, 44(4), 660–665. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.2019.0015>
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y., & Leon, C. (2010). Validation of the ITS2 Region as a Novel DNA Barcode for Identifying Medicinal Plant Species. *PLoS ONE*, 5(1), e8613. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008613>
- Fattah, Y. R., Kamu, V. S., Runtuwene, M. R. J., & Momuat, L. I. (2014). Identifikasi Barcode Tumbuhan Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L. medik) dan Gedi Hijau (*Abelmoschus moschatus*) Berdasarkan Gen matK. *Jurnal MIPA*, 3(2), 120. <https://doi.org/10.35799/jm.3.2.2014.5863>
- Hollingsworth, P. M., Graham, S. W., & Little, D. P. (2011). Choosing and using a plant DNA barcode. *PloS One*, 6(5), e19254. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019254>
- Huang, J.-F., Li, L., van der Werff, H., Li, H.-W., Rohwer, J. G., Crayn, D. M., Meng, H.-H., van der Merwe, M., Conran, J. G., & Li, J. (2016). Origins and evolution of cinnamon and camphor: A phylogenetic and historical biogeographical analysis of the *Cinnamomum* group (Lauraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 96, 33–44. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.12.007>
- Intharuksa, A., Sasaki, Y., Ando, H., Charoensup, W., Suksathan, R., Kertsawang, K.,

- Sirisa-Ard, P., & Mikage, M. (2020). The Combination of ITS2 and psb A-trn H Region is Powerful DNA Barcode Markers for Authentication of Medicinal Terminalia Plants from Thailand. *Journal of Natural Medicines*, 74, 282–293. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11418-019-01365-w>
- Julianti, E., Pinaria, A., Lengkong, E. F., & Kolandam, B. J. (2015). 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). *Bios Logos*, 5(2), 46–53. <https://doi.org/10.35799/jbl.5.2.2015.10547>
- Kress, W. J., Garcia-lobredo, C., Uriarte, M., & Erickson, D. L. (2015). DNA Barcodes for Ecology, Evolution, and Conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 30(1), 25–35. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.10.008>
- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., & Janzen, D. H. (2005). Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(23), 8369–8374. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503123102>
- Kumar, J. U. S., Krishna, V., Seethapathy, G. S., Senthilkumar, U., Ragupathy, S., Ganeshiah, K. N., Ganesan, R., Newmaster, S. G., Ravikanth, G., & Shaanker, R. U. (2015). DNA barcoding to assess species adulteration in raw drug trade of “Bala”(genus: *Sida* L.) herbal products in South India. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, 501–509. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.07.024>
- Kumar, J. U. S., Ramakrishan, M., Seethapathy, G. S., Krishna, V., Shaanker, R. U., & Ravikanth, G. (2020). DNA barcoding of *Momordica* species and assessment of adulteration in *Momordica* herbal products, an anti-diabetic drug. *Plant Gene*, 22, 100227. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2020.100227>
- 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. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Martiansyah, I. (2021). Mini Review: Pendekatan Molekuler DNA Barcoding: Studi Kasus Identifikasi dan Analisis Filogenetik *Syzygium* (Myrtaceae). *Prosiding Biologi Achieving the Sustainable Development Goals with Biodiversity in Confronting Climate Change*, 187–195. <https://doi.org/10.24252/psb.v7i1.23712>
- Mursyidin, D. H. (2022). Pengenalan Teknik “DNA Barcoding” untuk Mendukung Upaya Konservasi Tumbuhan Langka di Kalimantan Selatan. *ILUNG*, 1(2), 64–71. <https://doi.org/10.20527/ilung.v1i3.4185>
- Nithaniyal, S., & Parani, M. (2016). Evaluation of chloroplast and nuclear DNA barcodes for species identification in *Terminalia* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 68, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.08.001>
- Olsson, S., Giovannelli, G., Roig, A., Spanu, I., Vendramin, G. G., & Fady, B. (2022). Chloroplast DNA barcoding genes matK and psbA-trnH are not suitable for species identification and phylogenetic analyses in closely related pines. *IForest-Biogeosciences and Forestry*, 15(2), 141. <https://doi.org/10.3832/ifor3913-015>
- Ramesh, G. A., Mathew, D., John, K. J., & Ravisankar, V. (2021). Chloroplast gene

- matK holds the barcodes for identification of *Momordica* (Cucurbitaceae) species from Indian subcontinent. *Horticultural Plant Journal*, 8(1), 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2021.04.001>
- Rohimah, S., Mukarramah, L., Sindiya, V., Yuliana, V., Ayu, G., & Mukhamad, S. (2018). Eksplorasi Jenis dan Potensi DNA Barcode Anggrek *Thrixspermum* Secara In Silico. *Jurnal Biodjati*, 3(2), 148–156. <https://doi.org/10.15575/biodjati.v3i2.3409>
- Sagala, Z., & Sogandi. (2022). DNA Barcoding of Mango Casturi (*Mangifera casturi*) Origin of South Borneo Based on DNA Chloroplas *rbcL* Gene and *matK* Gene. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 20(1), 38–43. <https://doi.org/10.35814/jifi.v20i1.1045>
- Sahu, S. K., Singh, R., & Kathiresan, K. (2016). Multi-gene phylogenetic analysis reveals the multiple origin and evolution of mangrove physiological traits through exaptation. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 183, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.10.021>
- Santhosh Kumar, J. U., Krishna, V., Seethapathy, G. S., Senthilkumar, U., Ragupathy, S., Ganeshiah, K. N., Ganesan, R., Newmaster, S. G., Ravikanth, G., & Uma Shaanker, R. (2015). DNA barcoding to assess species adulteration in raw drug trade of “Bala” (genus: *Sida* L.) herbal products in South India. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, 501–509. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.07.024>
- Sindiya, V., Mukarramah, L., Rohimah, S., & Perwitasari, D. A. G. (2018). Studi In Silico Potensi DNA Barcode pada Anggrek Langka *Phippedilum*. *BIOSFER*, 3(1), 20–26. <https://doi.org/10.23969/biosfer.v3i1.1250>
- Suesatpanit, T., Osathanunkul, K., Madesis, P., & Osathanunkul, M. (2017). Should DNA sequence be incorporated with other taxonomical data for routine identifying of plant species? *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1937-3>
- Sunaryo, W. (2015). Aplikasi DNA Barcoding untuk Analisis Keragaman Genetik *Lai-durian* (*Durio zibethinus* x *kutejensis*) Asal Kalimantan Timur. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia*, 1273–1277. <http://agt.faperta.unmul.ac.id/wp-content/uploads/2017/08/M010602.pdf>
- Swetha, V. P., Parvathy, V. A., Sheeja, T. E., & Sasikumar, B. (2014). DNA Barcoding for Discriminating the Economically Important *Cinnamomum verum* from Its Adulterants. *Food Biotechnology*, 28(3), 183–194. <https://doi.org/10.1080/08905436.2014.931239>
- Talley, T. E., & Kolondam, B. J. (2015). DNA barcoding of Sangihe Nutmeg (*Myristica fragrans*) using *matK* gene. *HAYATI Journal of Biosciences*, 22(1), 41–47. <https://doi.org/10.4308/hjb.22.1.41>
- Turhadi, & Hakim, L. (2023). Evaluasi Lokus Kloroplas untuk DNA Barcoding pada Marga *Stelechocarpus* (Annonaceae) Secara In-Silico. *Agro Bali*, 6(1), 56–64. <https://doi.org/10.37637/ab.v6i1.1105>
- Vassou, S. L., Kusuma, G., & Parani, M. (2015). DNA barcoding for species identification from dried and powdered plant parts: A case study with authentication of the raw drug market samples of *Sida cordifolia*. *Gene*, 559(1), 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.01.025>
- Wardi, E. S., Jamsari, Irwandi, Sartika, D., & Ningsih, A. R. (2020). Barkod DNA pada Tanaman Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.) Berdasarkan Gen *matK* dan *rbcL*. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 12(1), 22–28.

<https://doi.org/10.56711/jifa.v12i1.587>

Yao, R., Guo, R., Liu, Y., Kou, Z., & Shi, B. (2022). Identification and phylogenetic analysis of the genus *Syringa* based on chloroplast genomic DNA barcoding. *Plos One*, *17*(7), e0271633. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0271633.s001>